



HAL
open science

Traitement nociceptif sous-cortical: Implications dans les douleurs Parkinsoniennes. Approche expérimentale chez le rat

Arnaud Pautrat

► **To cite this version:**

Arnaud Pautrat. Traitement nociceptif sous-cortical: Implications dans les douleurs Parkinsoniennes. Approche expérimentale chez le rat. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Grenoble Alpes, 2019. Français. NNT: 2019GREAV042 . tel-02612602

HAL Id: tel-02612602

<https://theses.hal.science/tel-02612602>

Submitted on 19 May 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.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE LA COMMUNAUTE UNIVERSITE GRENOBLE ALPES

Spécialité : **Neurosciences & Neurobiologie**

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

Arnaud PAUTRAT

Thèse dirigée par **Véronique COIZET, CR1, INSERM**, et
codirigée par **Brigitte PIALLAT, Maître de Conférences des
Universités, Université Grenoble Alpes**
préparée au sein du **Grenoble Institut des Neurosciences**
dans l'**École Doctorale Chimie et Sciences du Vivant**

Traitement nociceptif sous-cortical : Implications dans les douleurs neuropathiques Parkinsoniennes.

Approche expérimentale chez le rat.

Thèse soutenue publiquement le **18 Novembre 2019**,
devant le jury composé de :

Pr. Alain, BUISSON

Professeur, Université Grenoble-Alpes, *Président*

Dr Jérôme, BAUFRETON

Directeur de recherche, CNRS, Bordeaux, *Rapporteur*

Dr. Christine, BREFEL-COURBON

Maître de conférences des universités-Praticien hospitalier, CHU
Toulouse, *Rapporteur*

Dr. Véronique, SGAMBATO

Chargée de recherche, INSERM, *Examineur*

Dr. Michel, BARROT

Directeur de recherche, CNRS, Strasbourg, *Examineur*

Dr. Véronique, COIZET

Chargée de recherche, INSERM, *Directrice de thèse*



*A ma douce Sarah,
mes Parents,
mon frère et ma sœur,
mes Bonobos.*

Remerciements

C'est avec un plaisir mêlé de frustration et d'excitation que j'ajoute les derniers mots à cette thèse. Bien que je sois soulagé d'avoir atteint la fin de ce voyage et fier du travail accompli, il me reste un sentiment d'inachèvement, et j'ai l'impression d'avoir suffisamment de choses à faire pour prolonger ce périple de quelques années. Mais cela devra attendre un peu...

Je tiens particulièrement à remercier les docteurs Christine Brefel-Courbon et Jérôme Baufreton d'avoir accepté de lire et d'évaluer ce travail. J'espère que celui-ci vous plaira et éveillera votre curiosité.

Je remercie également les docteurs Véronique Sgambato et Michel Barrot, d'avoir accepté de faire le déplacement jusqu'à Grenoble, parmi nos belles montagnes. Vos expertises à propos du réseau des ganglions de la base et des mécanismes de la douleur promettent une discussion riche d'enseignements.

Je remercie aussi le professeur Alain Buisson d'avoir accepté de présider ce jury de thèse. Je n'aurais jamais imaginé une seconde, que la neuro-anatomie serait au centre de mon travail doctoral. Peut-être aurais-je dû être plus assidu pendant mes cours de Master 1 avec vous ?! L'appel de la montagne a parfois été plus fort !

Je remercie également le docteur Olivier David de m'avoir accepté au sein de son équipe, ainsi que pour la confiance et l'intérêt qu'il a montré à ces travaux de recherches.

Enfin, je remercie le docteur Véronique Coizet pour son encadrement tout au long de ces quatre années. La thèse est trop souvent vécue comme une épreuve du feu. Je suis heureux de constater, que tu m'y as très bien préparé. Tu as su faire de moi le scientifique que je suis aujourd'hui, le plus souvent dans la bonne humeur. Je crois être devenu un véritable électrophysiologiste grâce à toi, et désormais la chasse au NST n'a presque plus de secrets pour moi ! Mes anciens enseignants en témoignent, j'ai très souvent été considéré comme un « troupeau de mules à moi seul ». Alors, merci de ta patience.

Je tiens à remercier la région Auvergne Rhône-Alpes pour le financement des trois premières années de cette thèse, ainsi que l'association France Parkinson qui m'a financé durant ma quatrième année. Merci de m'avoir donné la possibilité de poursuivre mes recherches et de d'effectuer l'écriture du manuscrit dans les meilleures conditions. Merci également de m'avoir donné l'occasion de rencontrer des patients et de leur exposer mes recherches, lors de la journée mondiale de la maladie de Parkinson.

Abréviations utilisées dans le texte

| | |
|--------|--|
| 6-OHDA | 6-hydroxydopamine |
| AAV | Virus adéno-associés |
| BSA | Albumine de sérum bovin |
| CeA | Noyau central de l'amygdale |
| CGRP | Calcitonin gene related peptide |
| CS | Colliculus Supérieur |
| DA | Dopamine |
| DBS | Stimulation Cérébrale Profonde |
| EEG | Electroencéphalogramme |
| GABA | Acide γ -aminobutyrique |
| GB/BG | Ganglions de la base / Basal ganglia |
| GPe | Globus Pallidus externe |
| GPI | Globus Pallidus interne |
| i.p | Injection intrapéritonéale |
| IASP | International Association for the Study of Pain |
| KPPS | King's Parkinson's Disease Pain Scale |
| L-Dopa | Lévodopa |
| LRRK2 | Gène codant la Leucine-rich repeat kinase 2 |
| MFB | Medial Forebrain Bundle |
| MP | Maladie de Parkinson |
| MPPP | 1-méthyl-4-phényl-4-propionoxypipéridine |
| MPTP | 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tétrahydropyridine |
| MSN | Medium Spiny Neuron |
| NaCl | Chlorure de sodium |
| NHS | Sérum de cheval normal |
| NST | Noyau Subthalamique |
| NTS | Noyau du tractus solitaire |
| PACAP | Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide |
| PAG | Noyau Périaqueductal Gris |
| PB | Tampon phosphate |
| PBN | Noyau Parabrachial |
| PPN | Noyau Pédoculopontin |

| | |
|-----------|--|
| PSTH | Péri-stimulus histogramme |
| REM-RBD | Rapid-Eye-Movement Behavior Disorder |
| REM-Sleep | Sommeil à mouvements oculaires rapides |
| SD | Écart type standard |
| SEM | Écart type des moyennes |
| SNC | Substance Noire compacte |
| SNCA | Gène codant l'alpha-synucléine |
| SNr | Substance Noire réticulée |
| TH | Tyrosine Hydroxylase |
| VTA | Aire Tegmentale Ventrale |
| UPDRS | Unified Parkinson's Disease Rating Scale |
| UPSIT | University of Pennsylvania Smell Identification Test |
| VA | Noyau antérieur ventral du thalamus |
| VL | Noyau ventral-latéral du thalamus |
| VM | Noyau ventro-médian du thalamus |

Sommaire

I. Introduction

| | |
|---|----|
| Introduction générale | 1 |
| Chapitre 1 – La maladie de Parkinson : | 3 |
| 1.1 Généralités : | 3 |
| 1.1.1 Epidémiologie : | 3 |
| 1.1.2 Etiologie : | 3 |
| i) Facteurs environnementaux : | 4 |
| ii) Facteurs génétiques : | 4 |
| 1.2 Physiopathologie : | 5 |
| 1.2.1 : Progression de la maladie : | 6 |
| 1.3 Modèles animaux de la maladie de Parkinson : | 8 |
| 1.3.1 Les modèles à base de neurotoxines | 8 |
| 1.3.2 Les modèles génétiques | 8 |
| 1.3.3 Les modèles à base de vecteurs viraux | 8 |
| 1.4 Sémiologie : | 8 |
| 1.4.1 Symptômes moteurs : | 9 |
| i) Bradykinésie: | 9 |
| ii) Tremblements de repos: | 9 |
| iii) Rigidité: | 10 |
| iv) Troubles de la posture: | 10 |
| 1.4.2 Symptômes non-moteurs: | 10 |
| i) Troubles psychiques: | 11 |
| ii) Troubles cognitifs : | 12 |
| iii) Troubles du sommeil : | 12 |
| iv) Troubles neuro-végétatifs : | 12 |
| v) Troubles sensoriels : | 13 |
| 1.5 Douleur : | 14 |
| 1.5.1 Définition : | 14 |

| | |
|--|----|
| 1.5.2 Tester la douleur : | 15 |
| 1.5.3 Hétérogénéité de la douleur Parkinsoniennes : | 16 |
| 1.5.4 Physiopathologie des douleurs Parkinsoniennes : | 19 |
| i) Une origine périphérique ? | 20 |
| ii) Une origine centrale ? | 20 |
| 1.5.5 Traitement des douleurs Parkinsoniennes : | 22 |
| i) Approches pharmacologiques : | 22 |
| ii) Approches non-pharmacologiques : | 23 |
| <hr/> | |
| Chapitre 2 – Les ganglions de la base : | 24 |
| 2.1 Généralités : | 24 |
| 2.2 Neuro-anatomie des ganglions de la base : | 24 |
| 2.2.1 : Boucle cortico-sous-corticale : | 24 |
| 2.2.2 Le modèle du double circuit : | 26 |
| 2.2.3 Le modèle du triple circuit : | 26 |
| i) La voie cortico-subthalamique : | 27 |
| ii) La voie subthalamo-pallidale : | 27 |
| 2.3 : Organisation fonctionnelle : | 28 |
| 2.4 : Architecture détaillée : | 30 |
| 2.4.1 : Striatum : | 30 |
| 2.4.2 : Globus pallidus : | 32 |
| i) Globus pallidus externe : | 32 |
| ii) Globus pallidus interne : | 33 |
| 2.4.3 Substance noire : | 34 |
| i) Substance noire réticulée : | 34 |
| ii) Substance noire compacte : | 35 |

| | |
|--|----|
| 2.4.4 Noyau Subthalamique : | 36 |
| i) Généralités : | 36 |
| ii) Cytologie : | |
| iii) Connectivité : | 37 |
| - Afférences : | 37 |
| o Afférences glutamatergiques : | 37 |
| o Afférence GABAergiques : | 38 |
| - Efférences : | 38 |
| iv) Propriétés électrophysiologiques : | 39 |
| 2.5 Fonctions des GB : | 39 |
| 2.5.1 Nociception : | 40 |
| i) Etudes pionnières : | 40 |
| ii) Etudes électrophysiologiques : | 41 |
| 2.6 Boucles sous-corticales : | 42 |
| 2.6.1 Boucles sous-cortico-thalamo-sous-corticales : | 43 |
| 2.6.2 Boucles sous-corticales « hyperdirectes » : | 44 |
| 2.6.3 Boucles sous-corticales hyperdirectes pathologiques ? | 44 |
| 2.6.4 Vers une boucle nociceptive sous-corticale hyperdirecte ? | 46 |
| <hr/> | |
| Chapitre 3 – Le noyau parabrachial : | 48 |
| 3.1 Généralités : | 48 |
| 3.2 Anatomie : | 48 |
| 3.3 Cytologie : | 49 |
| 3.4 Afférences : | 50 |
| 3.4.1 En provenance du NTS : | 50 |
| 3.4.2 En provenance de la moelle épinière : | 50 |
| 3.4.3 En provenance du cortex : | 51 |

| | |
|--|----|
| 3.4.4 En provenance de structures sous-corticales : | 51 |
| 3.5 Efférences : | 52 |
| 3.6 Fonctions : | 52 |
| 3.6.1 Nociception : | 52 |
| 3.6.2 Rôle de la dopamine au sein du PBN : | 53 |
| 3.7 Changements neurochimiques dans les états douloureux : | 53 |
| Conclusion : | 54 |
| <hr/> | |
| Chapitre 4 – Problématique : | 56 |
| 4.1 Objectifs & Hypothèses : | 56 |
| <hr/> | |

II. Matériel & Méthodes

| | |
|--|----|
| Chapitre 5 – Protocoles expérimentaux : | 59 |
| 5 - Protocoles expérimentaux : | 59 |
| 5.1 Animaux : | 59 |
| 5.2 Modèles lésionnelles à l'acide iboténique : | 59 |
| 5.3 Modèles lésionnelles à la 6-hydroxydopamine : | 60 |
| 5.3.1 Chirurgie : | 60 |
| 5.3.2 Préparation de la 6-OHDA : | 61 |
| 5.3.3 Protocole d'injection : | 61 |
| 5.3.4 Contrôle histologique de la lésion dopaminergique : | 62 |
| 5.4 Traçage anatomique : | 63 |
| 5.4.1 Traçage anatomique antérograde : | 64 |
| 5.4.2 Traçage anatomique rétrograde : | 64 |
| 5.4.3 Traçage anatomique – Histologie : | 64 |
| 5.4.4 Traçage anatomique – Analyse : | 65 |
| 5.5 Electrophysiologie <i>in vivo</i> chez le rat anesthésié : | 65 |

| | |
|---|----|
| 5.5.1 Chirurgie : | 65 |
| 5.5.2 Enregistrements extracellulaires unitaires : | 66 |
| 5.5.3 Enregistrements multi-unitaires : | 67 |
| 5.5.4 Stimulations nociceptives : | 68 |
| 5.5.5 Electrophysiologie - Histologie : | 68 |
| 5.5.6 Electrophysiologie - Analyse des résultats : | 69 |
| 5.6 Marquage neuronale par la méthode de Golgi-cox : | 70 |
| 5.6.1 Analyse des coupes imprégnées selon la méthode de Golgi-cox | 71 |
| 5.7 Microscopie électronique : | 73 |
| 5.7.1 Traçage anatomique antérograde : | 73 |
| 5.7.2 Préparation du tissu pour la microscopie électronique : | 73 |
| 5.8 Test de la <i>Hot-Plate</i> : | 74 |
| 5.9 Tests statistiques : | 75 |

III. Résultats

| | |
|---|----|
| Chapitre 6 – Etude 1 : Découverte d’un nouveau réseau nociceptif liant le noyau subthalamique au traitement de l’information nociceptive | 77 |
|---|----|

‘Revealing a novel nociceptive network that links the subthalamic nucleus to pain processing.’

| | |
|---|-----|
| Chapitre 7 – Etude 2 : Traitement sous-cortical de l’information nociceptive dans deux modèles rongeurs de la maladie de Parkinson | 109 |
|---|-----|

‘Abnormal Subcortical Nociceptive Processing in Rodent Models of Parkinson's Disease.’

IV. Discussion

| | |
|---|-----|
| Chapitre 8 – Discussion générale | 151 |
| 8.1 Considérations techniques : | 151 |
| 8.1.1 Electrophysiologie <i>in vivo</i> multi-sites : | 151 |

| | |
|--|-----|
| 8.1.2 Stimulations nociceptives : | 152 |
| 8.1.3 Modèles de rats Parkinsoniens : | 152 |
| 8.2 Noyau subthalamique et nociception : | 154 |
| 8.3 Dopamine et nociception : | 155 |
| 8.4 Perspectives | 156 |
| 8.4.1 Douleurs neuropathiques : | 156 |
| i) Plasticité : | 156 |
| ii) Contrôle descendant de la douleur : | 157 |
| 8.4.2 Le PBN est-il sous contrôle de la SNr ? | 158 |
| 8.4.3 Influence pathologique de la SNr dans la MP : | 159 |
| 8.4.4 Activité oscillatoire pathologique : | 160 |
| 8.4.5 Vers une boucle sous-corticale nociceptive : | 160 |
| 8.4.6 Traitement de l'information nociceptive chez le patient Parkinsonien | 161 |
| <hr/> | |
| V. Références | 162 |

Introduction générale :

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative caractérisée par la perte progressive des neurones dopaminergiques de la substance noire compacte, localisée au sein du mésencéphale. Cette dégénérescence engendre de profonds dysfonctionnements au sein d'un réseau cérébral essentiel pour de nombreuses fonctions, les ganglions de la base (Albin et al., 1989 ; DeLong, 1990 ; Bergmann et al., 1994). Le rôle attribué au réseau des ganglions de la base a longtemps été restreint au contrôle du mouvement. Cette vision d'un rôle prépondérant dans l'expression motrice, provenait en grande partie de la littérature médicale, où il avait été observé que des lésions de différentes régions composant ce réseau, notamment du noyau subthalamique, entraînaient des mouvements anormaux (Whittier & Mettler, 1949). L'intérêt scientifique pour le réseau des ganglions de la base s'est ensuite accentué dans les années 1990, lors de la démonstration de l'amélioration des symptômes moteurs liés à la maladie de Parkinson par la lésion, ou la stimulation électrique de certaines de ses structures (Bergman et al., 1990 ; Benabid et al., 1991 ; Benazzouz et al., 1993 ; Limousin et al., 1998). Pourtant, le rôle du réseau des ganglions de la base dépasse très largement le simple contrôle moteur. Sa position centrale dans le cerveau, partagée chez de nombreuses espèces de vertébrés, ne semble pas due au hasard, et a été fortement conservée par les mécanismes de l'évolution (Parent, 1986 ; Grillner & Robertson, 2016). Il s'agit en effet d'un emplacement stratégique pour recevoir et intégrer des signaux en provenance de nombreuses régions cérébrales. Grâce à cette position centrale, ce réseau est également capable d'influer sur de nombreuses structures sous-corticales impliquées dans différents comportements vitaux pour l'organisme. Ce constat a amené plusieurs groupes à définir les ganglions de la base, comme un réseau permettant la sélection de l'action (Redgrave et al., 1999 ; Mink, 1996; Hikosaka et al., 2000).

L'essor de la stimulation cérébrale profonde dans la prise en charge de la maladie de Parkinson a également permis de confirmer que le rôle des ganglions de la base ne se résumait pas à la commande motrice. En effet, de nombreux cas cliniques reportent des comportements anormaux, suite à l'implantation d'une électrode dans le noyau subthalamique. Ces symptômes vont de l'hyper-agressivité (Sensi et al., 2004) et l'hypersexualité (Doshi & Bhargava, 2008) à l'euphorie (Krack et al., 2001) en passant par l'augmentation de l'appétit (Sauleau et al., 2009). De ce fait, la littérature actuelle semble s'accorder sur un rôle beaucoup plus large du réseau des ganglions de la base, qui participerait activement à l'apprentissage, l'attention, la perception et même la nociception. Il est intéressant de constater que les patients Parkinsoniens souffrent, en plus de la triade des symptômes moteurs, d'une symptomatologie douloureuse complexe, améliorée partiellement par l'instauration du traitement

dopaminergique mais également par la stimulation cérébrale profonde du noyau subthalamique.

De ce fait, l'objectif principal de cette thèse a été de préciser le rôle des GB, et notamment du noyau subthalamique, dans le traitement de l'information nociceptive. Le second objectif a été d'évaluer l'impact de la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la substance noire compacte sur cette fonction.

Dans la première partie de ce manuscrit nous présenterons tout d'abord la maladie de Parkinson au travers de rappels bibliographiques. Une importance particulière sera apportée aux symptômes de douleur dont souffrent les patients, puisqu'ils représentent le cadre théorique de ce travail. Dans un second chapitre, nous présenterons plus en détail le réseau des ganglions de la base et les structures le composant. Nous y apporterons également des arguments en faveur d'une place particulière de ce réseau dans les mécanismes de la nociception, et discuterons des perturbations de cette fonction dans le contexte Parkinsonien. Enfin, dans un troisième chapitre, nous présenterons succinctement le noyau parabrachial, une structure pontine faisant partie intégrante des voies nociceptives ascendantes et descendantes, et susceptible de dysfonctionner dans la maladie de Parkinson. Nous discuterons également de son éventuel rôle de relai de l'information nociceptive pour le réseau des ganglions de la base.

La seconde partie sera consacrée aux résultats obtenus, principalement par électrophysiologie *in-vivo* sur le rat anesthésié, en conditions normale et pathologique. Nous avons choisi cette approche électrophysiologique puisqu'elle constitue un outil de choix dans l'étude des réseaux neuronaux et permet, le cas échéant, de révéler des perturbations très fines dans le fonctionnement des structures étudiées.

Dans la troisième partie, nous discuterons des résultats obtenus lors des deux études reliés à ce travail doctoral, et présenterons les perspectives de recherche qu'ils ont soulevés.

I. Introduction

1 - Maladie de Parkinson :

1.1 Généralités :

La maladie de Parkinson (MP) a été décrite de façon détaillée pour la première fois en 1817 par le médecin londonien James Parkinson. Pourtant, des traces beaucoup plus anciennes provenant de la littérature médicale Indienne décrivaient un syndrome similaire il y a plus de 7000 ans. Dans son essai sur la « *paralysie agitante* », James Parkinson décrit très précisément cette maladie, esquissant déjà les grandes lignes de son diagnostic en insistant sur son début unilatéral, la présence de mouvements involontaires, de tremblements dits de « repos » et la diminution progressive de la force motrice des patients. Il faudra attendre la moitié du 19^{ème} siècle pour que le neurologue français Jean-Martin Charcot « redécouvre » cette pathologie et précise son tableau clinique. Il lui donnera le nom de « maladie de Parkinson » en référence aux travaux pionniers de James Parkinson, et la définira comme une affection neurodégénérative d'origine inconnue à prédominance sous-corticale. La MP est actuellement la seconde maladie neurodégénérative la plus commune dans le monde, après la maladie d'Alzheimer. Aujourd'hui encore, son diagnostic est le plus souvent établi de façon clinique par la présence de la « triade Parkinsonienne », à savoir bradykinésie (difficulté à initier le mouvement), rigidité des membres et tremblements de repos, symptômes déjà décrits par Parkinson lui-même.

1.1.1 Epidémiologie :

La maladie de Parkinson est reconnue comme étant une maladie liée à l'âge, avec une personne sur 50 âgée de 80 ans ou plus susceptible d'être affectée. Dans 80% des cas, la MP débute entre 45 et 75 ans. Il existe cependant une forme précoce se déclarant avant 40 ans dans 10% des cas (Alves et al., 2008). A l'échelle mondiale, son incidence est de 200 cas pour 100.000 personnes (Berger et al., 2000). Des études prospectives ont montré que le nombre de patients sera doublé d'ici 2030, principalement du fait du vieillissement global de la population. En France, d'après l'INSERM, 8000 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année. Il existe aussi une légère disparité homme-femme, avec un ratio de 55 hommes affectés pour 45 femmes (Dujardin & Vérin, 2011).

1.1.2 Etiologie :

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative idiopathique caractérisée par la perte progressive des neurones dopaminergiques (DA) de la substance noire compacte (SNc, **Figure 1**). Elle a été décrite pour la 1^{ère} fois par le neuropathologiste Konstantin Nikolaevich Tretiakoffen en 1919 (Lees et al. 2008). La raison pour laquelle ces neurones

dégénèrent reste aujourd'hui non élucidée, bien qu'un consensus s'appuyant sur une origine multifactorielle ait émergé au sein de la communauté scientifique ces dernières années.

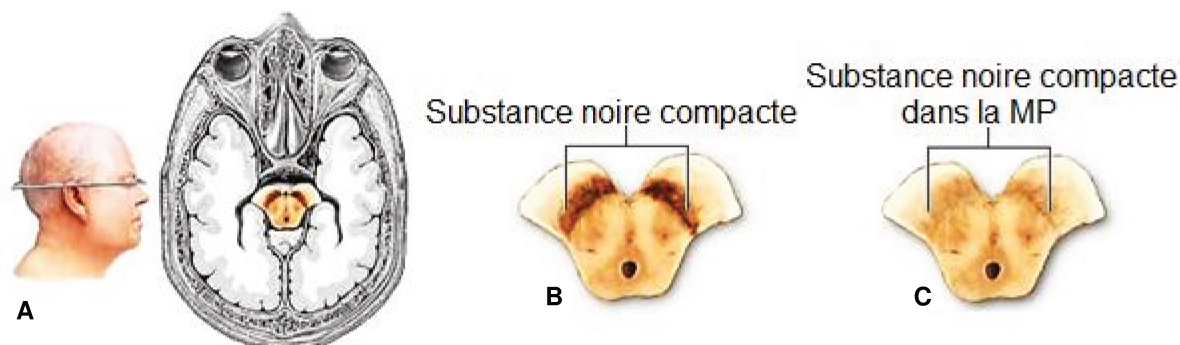


Figure 1 : Substance noire compacte et maladie de Parkinson. **A** – Localisation de la substance noire compacte sur une coupe horizontale de cerveau humain. **B** – Substance noire compacte d'un individu sain. Les neurones dopaminergiques présents dans la substance noire compacte apparaissent naturellement bruns du fait de leur forte teneur en neuromélanine. **C** – Substance noire compacte d'un individu atteint de la MP. Notez la perte de pigmentation due à la dégénérescence des neurones de la substance noire compacte.

i) Facteurs environnementaux :

L'implication de facteurs extérieurs est apparue de façon fortuite lorsqu'un étudiant en chimie du Maryland s'est intoxiqué en s'injectant une préparation de MPPP (substance proche de l'héroïne) contaminée par la neurotoxine 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP, Langston & Ballard, 1983). Suite à cette injection, cet étudiant présentait des symptômes Parkinsoniens sévères grandement améliorés par la prise de lévodopa. Son autopsie révélera plus tard une destruction massive des neurones dopaminergiques de la substance noire compacte. Peu de temps après, Langston (1984) reproduira, chez le singe, l'intoxication au MPTP avec les mêmes conséquences. Aujourd'hui, l'utilisation de certaines substances phytosanitaires proches du MPTP comme le paraquat (un herbicide) ou la roténone (un insecticide), est reconnue pour augmenter le risque de développer une MP. La neurotoxicité de ces substances pour les neurones dopaminergiques est fortement suspectée (Ball et al., 2019 ; Noyce et al., 2012 ; Tanner et al., 2011). En conséquence, la maladie de Parkinson fait aujourd'hui partie du tableau des maladies professionnelles liées au régime agricole en France.

ii) Facteurs génétiques :

Les formes sporadiques de la MP sont les plus courantes, il semble cependant que des formes familiales existent, représentant 10 à 20% des cas (Verstraeten et al., 2015). Ainsi les enfants de patients Parkinsoniens ont deux à trois fois plus de risque d'être atteints (Gasser et al., 1998). Il semble également qu'une susceptibilité génétique existe, et 21 mutations associées à un risque accru de développer une MP ont été identifiées. Les plus connues sont sans doute celles touchant le gène *SNCA* et celles touchant le gène *LRRK2*.

Gène *SNCA* : Les mutations du gène *SNCA* sont les premières à avoir été identifiées comme facteur de risque de la MP (Polymeropoulos et al., 1997). Ce gène code pour la protéine « α -synucléine » connue pour s'accumuler et former des agrégats toxiques dans les neurones de patients atteints par la MP. La plupart des mutations du gène *SNCA* sont dominantes et autosomales, par exemple la mutation p.A53T est retrouvée chez des familles originaires du pourtour méditerranéen (Berg et al., 2015 ; Papadimitriou et al., 1999) et possède une pénétrance de 80% (Golbe et al., 1996). Elle entraîne une MP précoce (avant 50 ans) et dont la progression est accélérée.

Gène *LRRK2* : Ce gène code pour une protéine qui intervient dans le métabolisme mitochondrial. Sa mutation est la cause génétique la plus fréquente de la MP (Paisan-Ruiz et al., 2004). La protéine LRRK2 semble particulièrement importante dans les mécanismes d'élimination des mitochondries par autophagie (mitophagie). Sa mutation engendrerait un défaut de ce mécanisme d'élimination et ainsi à une augmentation du taux de radicaux libres au sein des neurones dopaminergiques, conduisant à leur mort prématurée (Zimprich et al., 2004).

1.2 Physiopathologie :

Comme décrit précédemment, la maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative qui trouve son origine dans la perte massive des neurones dopaminergiques situés dans le mésencéphale. Ces neurones dopaminergiques se projettent sur une structure cérébrale appelée « striatum » pour former la voie nigro-striée. Ils possèdent, en conditions physiologiques, un rôle modulateur primordial (pour revue: Haber, 2014) sur le fonctionnement d'un ensemble de structures cérébrales formant un réseau complexe appelé « ganglions de la base » (GB). La principale conséquence de cette perte de dopamine va donc

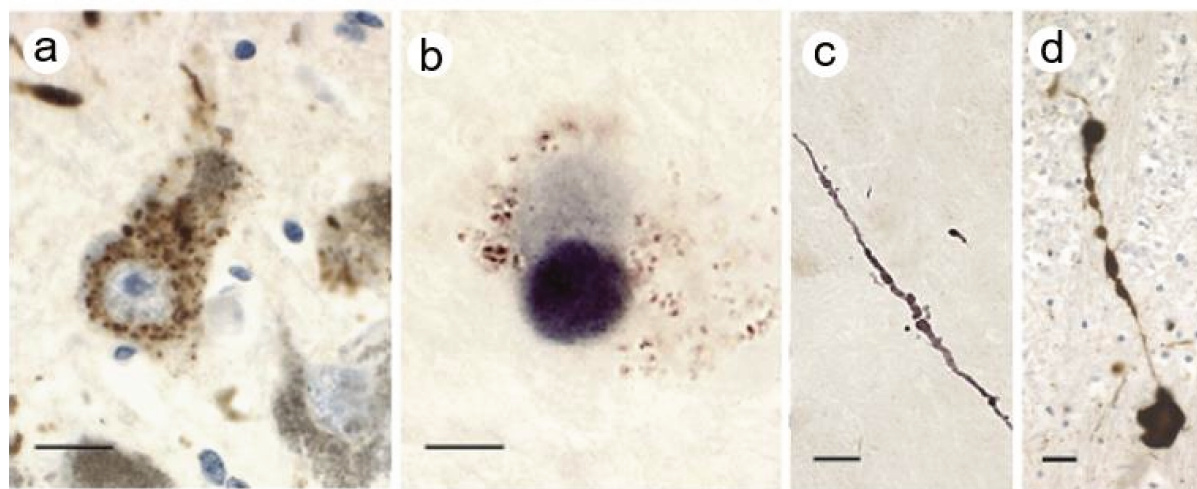


Figure 2 : Corps de Lewy visualisés d'après différentes techniques histologiques. a-b : Corps de Lewy au sein d'un neurone de la substance noire compacte visualisés grâce à un anticorps anti α -synucléine ; **c-d** : Neurites positives pour l' α -synucléine. Images adaptées de « *Neuroanatomy and Pathology of Sporadic Parkinson's Disease* » Braak & Del Tredici, 2008. Barres d'échelle : 20 μ m

être une altération profonde de l'activité de ce réseau (Wichmann & Dostrovosky, 2011; Albin et al., 1989). Ainsi, une des hypothèses physiopathologiques de la MP propose que la perte de dopamine entraîne une augmentation du tonus inhibiteur des structures de sortie du réseau des ganglions de la base sur le thalamus, engendrant une inhibition pathologique de ce dernier. Cette hypothèse est connue sous le nom de « *rate model* », elle sera détaillée en chapitre 2. En outre, plusieurs études post-mortem ont révélé, en parallèle de cette perte de dopamine, une accumulation anormale d'agrégats protéiques (**Figure 2**) formés majoritairement d' α -synucléine, aussi appelés « *corps de Lewy* » (Singleton et al., 2003). La toxicité élevée de ces agrégats pour les neurones dopaminergiques a depuis été démontrée (Chu & Kordower, 2007). Le diagnostic de certitude de la MP impose aujourd'hui une analyse histologique fine, avec la constatation d'une perte des neurones dopaminergiques de la substance noire associée à la présence de corps de Lewy dans le cytoplasme et les neurites des neurones dopaminergiques survivants (Del Tredici & Braak, 2015).

1.2.1 : Progression de la maladie :

La progression de la maladie est continue dans le temps. On estime que son évolution dure en moyenne 17 ans (Dujardin & Vérin, 2011). Dès lors, les anatomopathologistes se sont attachés à établir un système de cotation afin de classifier la localisation des lésions et la sévérité des symptômes associés.

La classification la plus couramment utilisée est sans doute celle d'Heiko Braak (2003). Elle se base sur la présence de corps de Lewy dans différentes régions cérébrales, relevée lors de l'autopsie de 41 patients Parkinsoniens. Dans cette étude, les auteurs ont proposé une cotation en six stades (**Figure 3**), représentant la propagation spatiale et temporelle des corps de Lewy dans le cerveau et la sévérité des symptômes associés (Braak et al., 2003). Ils ont ainsi émis l'hypothèse que ces lésions se propageraient de « proche en proche » (Goedert et al., 2014) selon un axe caudo-rostral. Le 1^{er} stade, le moins sévère, débiterait ainsi dans des zones dites de « vulnérabilité » comme les bulbes olfactifs, les noyaux olfactifs antérieurs et le noyau dorsal du nerf vague. Un point commun entre ces régions est leur proximité avec l'environnement, laissant penser à une influence environnementale sur la formation des corps de Lewy. Les inclusions de Lewy s'étendraient ensuite au locus cœruleus et aux noyaux du raphé (stade 2), pour gagner le mésencéphale où ils atteindraient la substance noire, le noyau basal de Meynert et l'amygdale (stade 3). Dès ce stade, les troubles moteurs apparaîtraient. On estime qu'environ 60 à 80% des neurones de la substance noire compacte auraient dégénéré lorsque les premiers symptômes moteurs se manifesteraient (Hornykiewicz, 1998), ce qui porte à croire que la phase pré-symptomatique serait le siège de nombreux phénomènes compensatoires efficaces (Bezard et al., 2003). Au stade 4, les corps de Lewy

se propageraient au cortex temporal puis aux aires corticales associatives (stade 5) pour finalement s'étendre à l'ensemble du cortex (stade 6).

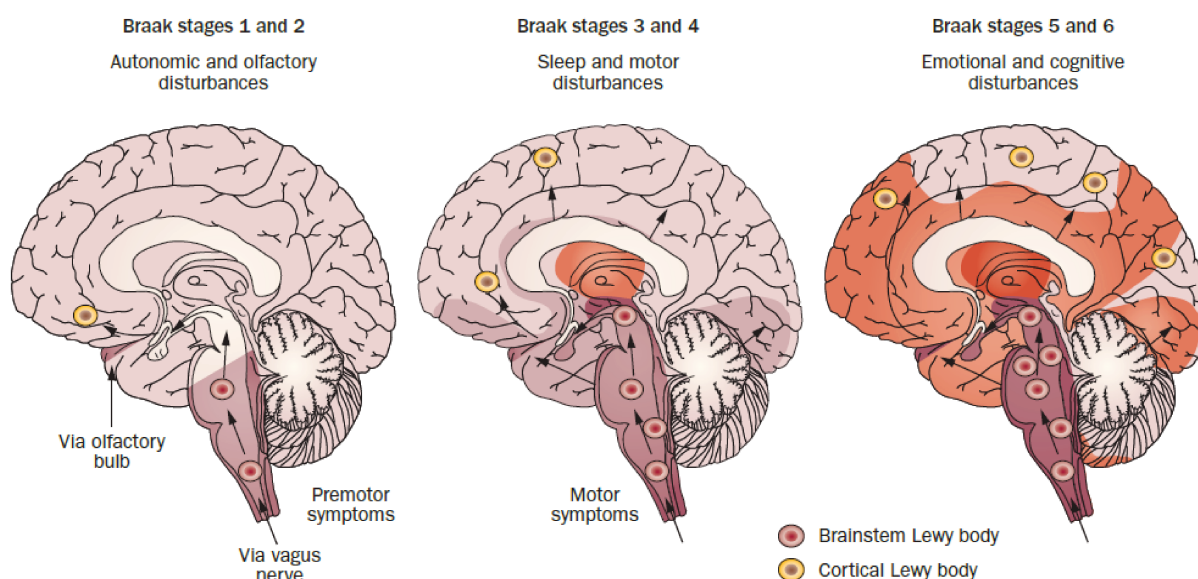


Figure 3 : Cotation neuropathologique de la maladie de Parkinson d'après Braak et al., 2003. Cette classification suggère que les corps de Lewy apparaissent initialement au niveau des bulbes olfactifs et au niveau du noyau dorsal du nerf vague (stade 1) avant de gagner le mésencéphale (stade 3) puis progressivement l'ensemble du cortex (stades 4-5-6). Illustration de Halliday et al., 2011.

Une autre échelle, celle de Hoehn & Yahr (Hoehn & Yahr, 1967) est couramment utilisée par le corps médical et décrit la maladie en plusieurs stades en fonction des symptômes moteurs retrouvés chez les patients. Elle comporte, elle aussi, six stades :

- Stade 0 : Au cours duquel on n'observe pas de signe Parkinsonien.
- Stade 1 : Des signes unilatéraux sont présents, ils n'entraînent généralement qu'un handicap minime voire nul.
- Stade 2 : Les signes deviennent bilatéraux mais une prédominance unilatérale persiste. Le handicap se renforce mais l'équilibre général n'est pas atteint.
- Stade 3 : Les signes sont bilatéraux. Ils s'accompagnent d'une perte de l'équilibre ainsi que d'une gêne importante dans les activités quotidiennes. La problématique de la poursuite de l'activité professionnelle se pose alors.
- Stade 4 : Le handicap devient sévère. La marche sans aide devient très difficile. Il en résulte une perte partielle de l'autonomie.
- Stade 5 : Le handicap est maximal. Le malade n'est plus autonome et devient souvent grabataire.

1.3 Modèles animaux de la maladie de Parkinson :

De nombreux modèles animaux sont utilisés pour l'étude physiopathologique de la MP. Ces modèles ont tous en commun de mimer la dégénérescence des neurones dopaminergiques mais utilisent pour cela des approches différentes. On distingue ainsi :

1.3.1 Les modèles à base de neurotoxines :

Ils sont les modèles les plus utilisés aujourd'hui. Le modèle de référence reste aujourd'hui celui introduit par Langston (1984) par intoxication systémique du primate non-humain au MPTP. De nombreux modèles rongeurs ont également été développés utilisant une approche similaire à base de substances neurotoxiques. La neurotoxine la plus couramment utilisée en laboratoire est sans doute la 6-OHDA. Elle est transportée dans le cytosol des neurones catécholaminergiques par les transporteurs de la dopamine et permet une dégénérescence rapide et forte de ces neurones par un mécanisme de stress oxydatif. L'étendue de la lésion induite dépend alors de la zone ciblée, de la concentration utilisée et du volume injecté (pour revue: Konnova & Swanberg, 2018 ; Deumens et al., 2002).

1.3.2 Les modèles génétiques :

Ces modèles sont apparus suite à l'identification de facteurs de risque génétiques de la MP. Les plus communs ciblent le gène *SNCA* codant pour l' α -synucléine, certains ciblent d'autres gènes codant pour des protéines connues pour interagir avec l' α -synucléine (pour revue: Konnova & Swanberg, 2018). La mutation de ces gènes engendrera le plus souvent une accumulation d' α -synucléine et la formation de corps de Lewy, avec pour conséquence la mort progressive des neurones dopaminergiques.

1.3.3 Les modèles à base de vecteurs viraux :

En plus des modèles transgéniques, des modèles induisant l'hyper expression d' α -synucléine par injection de virus sont utilisés. Ces modèles utilisent les virus adéno-associés (AAV) ou les lentivirus (Van der Perren et al., 2015). Leur intérêt réside dans la capacité de cibler des zones précises du cerveau (la SNc par exemple) et de contrôler la dose injectée, et donc l'étendue de la lésion associée.

1.4 Sémiologie :

Les troubles moteurs associés à la MP sont aujourd'hui largement étudiés et relativement bien pris en charge, notamment par la mise en place d'un traitement dopaminergique. Comme nous venons de le voir, on assiste pourtant à une dégradation progressive de la qualité de vie des malades ainsi qu'à une aggravation de leur handicap (Martinez-Martin et al., 2011). Ceci est la conséquence d'une perte continue de neurones

dopaminergiques d'abord, puis à l'extension de cette dégénérescence à d'autres types neuronaux (Titova et al., 2017). Il est également important de rappeler que des symptômes non-moteurs apparaissent également aux différents stades de la maladie. Ces complications non-motrices sont très variées et ont un impact réel sur la qualité de vie des malades. Elles se composent de troubles psychiques et cognitifs comme l'anxiété ou la démence, mais aussi de perturbations du cycle du sommeil et des systèmes sensoriels pouvant provoquer, entre autres, des douleurs anormales.

Dans cette partie, nous présenterons en premier lieu les symptômes moteurs puis les symptômes non-moteurs. Une description plus détaillée de la symptomatologie douloureuse sera également apportée, puisqu'il s'agit du cadre théorique de ce projet de recherche.

1.4.1 Symptômes moteurs :

En pratique, le diagnostic de la maladie de Parkinson reste aujourd'hui un diagnostic clinique centré sur la présence d'un faisceau d'arguments. La bradykinésie (lenteur des mouvements volontaires) doit être associée à au moins un autre des éléments de la triade Parkinsonienne: rigidité et/ou tremblements. Le tremblement de repos est reconnu comme étant le symptôme moteur initial principal, détecté chez plus de 50% des patients. La présence de bradykinésie vient en second, détectée initialement chez 44% des patients (Wickremaratchi et al., 2011). Ces symptômes moteurs apparaissent d'abord de façon unilatérale puis, avec la progression de la maladie, s'étendent bilatéralement (Postuma et al., 2015).

i) Bradykinésie :

La bradykinésie est définie comme une lenteur des mouvements associée à leur raréfaction, ainsi qu'à la diminution de leur amplitude (Postuma et al., 2015). Plus simplement, les mouvements volontaires deviennent de plus en plus difficiles à initier et sont ralentis. Ces ralentissements se traduisent dans la vie quotidienne par une gêne prononcée dans la réalisation des gestes courants, comme l'habillage ou la prise des repas. On observe aussi une lenteur de la marche avec des pas plus courts, ainsi qu'une diminution de la taille de l'écriture appelée « micrographie ».

ii) Tremblements de repos :

Il s'agit sans doute du symptôme le plus caractéristique de la maladie, et le plus connu du grand public. Il n'est cependant pas systématique, et 25% des patients en sont exempts (Hughes et al., 1993). Il apparaît souvent de façon unilatérale, au niveau des extrémités des membres supérieurs d'abord, avant de s'étendre bilatéralement et aux membres inférieurs avec la progression de la maladie (**Fig. 4A**). Le tremblement Parkinsonien est caractérisé par une fréquence basse de 4-6Hz.

iii) Rigidité :

Elle est assimilée à une hypertonie musculaire s'étendant à l'ensemble du corps. Elle est continue et homogène et concerne la quasi-totalité des muscles. Lors de l'examen clinique, cette rigidité se manifeste lors de la mobilisation passive du membre par des mouvements saccadés. On parle alors du phénomène de « la roue dentée », qui survient car la rigidité cède lors de l'examen clinique par à-coups (Deuschl et al., 1998). Il est à noter qu'un grand nombre de patients se plaignent de douleurs musculaires asymétriques résultant de cette rigidité, le plus souvent au niveau des épaules et du dos.

iv) Troubles de la posture :

On observe communément à un stade avancé une « posture voûtée » et une instabilité généralisée chez les patients (Postuma et al., 2015). La posture voûtée est définie par les praticiens comme « camptocormie » lorsque l'angle de flexion dépasse 45° (**Figure 4**). Cette position s'associe à une « hésitation de la démarche », avec une difficulté à initier le premier pas et peut entraîner des chutes. Ces troubles de la posture peuvent être testés à l'aide du « test de traction ». Il consiste à évaluer la capacité des patients à se remettre d'une traction vers l'avant effectuée au niveau des épaules.

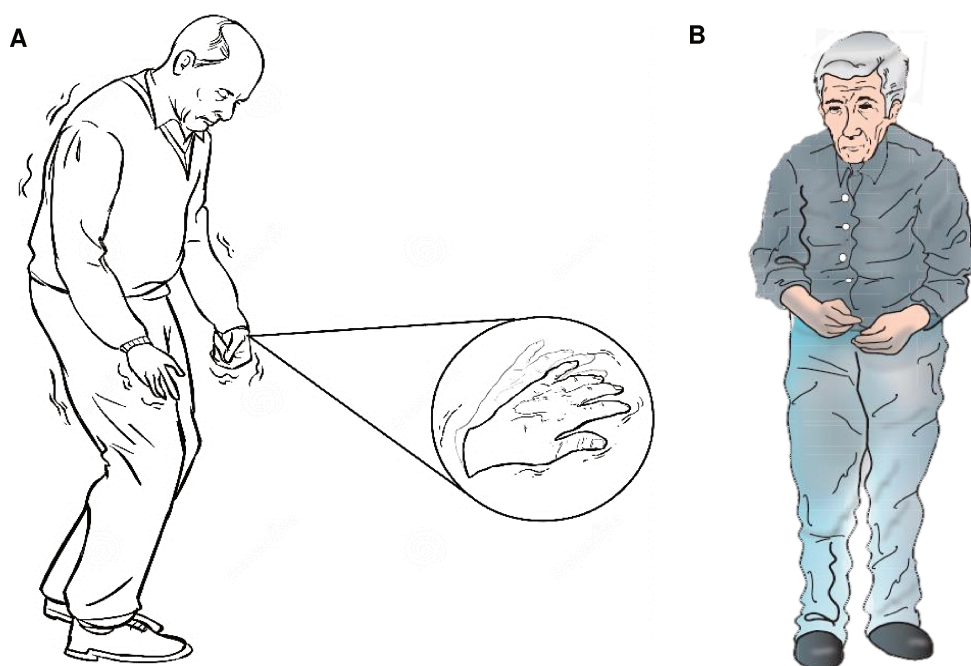


Figure 4 : Symptômes moteurs de la maladie de Parkinson. A – Position voûtée caractéristique de la MP. Notez également la présence de tremblements dans les membres. B – Position voûtée caractéristique de la MP vue de face, notez l'expression figée du visage ainsi que la position des mains.

1.4.2 Symptômes non-moteurs :

Le spectre des symptômes moteurs associé à la MP occulte souvent, notamment auprès du grand public, la présence de complications non-motrices pourtant très handicapantes pour les malades et leur entourage (pour revue : Chaudhuri, Healy & Schapira, 2009). Il est désormais reconnu que la MP n'est pas réductible à l'unique symptomatologie motrice. L'intérêt croissant que porte la communauté scientifique sur certains de ces symptômes non-moteurs en est d'ailleurs un bon exemple. Déjà en 1817, James Parkinson décrivait de nombreux symptômes non-moteurs, ces derniers se présentent sous la forme de troubles cognitifs, psychiques, végétatifs, du sommeil ainsi que sensoriels. Ces symptômes, comme les troubles moteurs, s'aggravent avec l'évolution de la maladie (Breen & Drutyte, 2013) devenant parfois la principale source de plainte des patients, notamment aux stades avancés de la maladie (Titova et al., 2017). Des études ont montré que certains signes non-moteurs se déclareraient de façon précoce, précédant parfois l'apparition des symptômes moteurs de plusieurs années (Jellinger KA, 2015). Ceux-ci pourraient alors rendre possible un diagnostic plus précoce de la maladie et ainsi une prise en charge plus adaptée et la mise en place de stratégies de neuro-protection.

i) Troubles psychiques :

La dépression est commune dans la MP et touche les patients à tous les stades de la maladie. On estime que 17% des patients souffrent d'épisodes dépressifs majeurs, et 22% d'épisodes dépressifs mineurs, contre 8% et 11% respectivement dans la population générale (Reijnders et al., 2008). Elle précède l'apparition des symptômes moteurs dans 20-30% des cas, (Tolosa et al., 2007) mais peut aussi se déclarer plus tardivement ainsi qu'à l'annonce du diagnostic. On a attribué pendant longtemps son origine à la perte de neurones sérotoninergiques, notamment au niveau du noyau du Raphé. Il a cependant été récemment démontré que la dénervation sérotoninergique n'était pas corrélée à la dépression, mais plutôt à la sévérité des tremblements chez les malades (Qamhawi et al., 2015). La dépression serait dès lors due à l'association d'une dénervation dopaminergique et adrénérgique des structures limbiques (Remy et al., 2005).

L'anxiété est le deuxième trouble psychiatrique caractéristique de la MP, elle est retrouvée chez 25-40% des patients (Simuni & Fernandez, 2013). Tout comme la dépression, l'anxiété peut survenir à tous les stades de la maladie. Elle se manifeste sous diverses formes, comme une anxiété généralisée ou de façon plus aiguë avec des crises de panique et des phobies. Il a été reporté, dans certains cas, que l'anxiété était un des effets secondaires de la dopa-thérapie lorsque les doses prescrites étaient élevées (Singh et al., 2005). Enfin, il

semblerait que les trois systèmes monoaminergiques soient impliqués dans les troubles anxieux, bien que les mécanismes sous-jacents restent inconnus (Delaville et al., 2012).

L'apathie est également reconnue comme un trouble associé à la MP, elle est détectée chez 30-40% des patients. Plusieurs études ont proposé que l'apathie et la fatigue proviendraient de la dégénérescence des neurones dopaminergiques du système de la récompense, reliant l'aire tegmentale ventrale au noyau accumbens (Brown & Pluck, 2000 ; Kunig et al., 2000). Cependant, l'apathie n'est que peu améliorée par la prise d'agonistes dopaminergiques. On pense de ce fait, que d'autres circuits mettant en jeu des neurotransmetteurs différents de la dopamine, jouent un rôle important dans ce symptôme, notamment le système sérotoninergique (Maillet et al., 2016).

Enfin, certains symptômes neuropsychiatriques semblent être directement liés à la prise du traitement dopaminergique. On parle alors de syndrome de dysrégulation dopaminergique, menant à des comportements impulsifs : hypersexualité, achats compulsifs, boulimie, jeu pathologique (pour revue : Roberta & Fénelonb, Chap. 10 « *la maladie de Parkinson* »). Des épisodes de confusion sont également retrouvés chez 16-60% des patients sous traitement de Lévodopa depuis cinq ans et plus (Zagnoli & Rouhart, 2006).

ii) Troubles cognitifs :

Des troubles cognitifs sont retrouvés chez les patients, même si ceux-ci n'impactent que peu l'efficacité cognitive en début de maladie. Néanmoins, ces troubles s'aggravent avec son évolution. Ainsi on retrouve en début de maladie chez 24% des patients des troubles cognitifs dits légers ou « *Mild Cognitive Impairment* » (Metta et al., 2010). Plus tard, avec l'évolution de la maladie, des troubles plus sévères comme la démence apparaissent chez 40% des patients Parkinsoniens, ce qui est six fois plus élevé que dans la population d'âge équivalent (Emre et al., 2003).

iii) Troubles du sommeil :

Les troubles du sommeil touchent 60% à 98% des patients Parkinsoniens (Martinez-Martin et al., 2011). Ils apparaissent souvent en amont des symptômes moteurs, parfois jusqu'à une dizaine d'années avant leur apparition (Boeve et al., 1998 ; Schenck et al., 2013). Les patients Parkinsoniens peuvent présenter une diminution de la qualité du sommeil, qui se trouve fragmenté et perturbé par de nombreux réveils et insomnies. A cela s'ajoute le « *rapid-eye-movement behavior disorder* » (RBD), un trouble du sommeil se manifestant par une activité musculaire soutenue lors des phases de sommeil à mouvement oculaires rapides (aussi appelé *REM-sleep*). Les patients se débattent lorsqu'ils rêvent, parfois violemment. Ce symptôme serait avant-coureur de la MP, avec approximativement 50% des patients atteints

déclarant une MP par la suite. Il est par conséquent considéré comme un biomarqueur précoce de la MP (Iranzo et al., 2006 ; Boeve et al. 2007). Le RBD pourrait trouver son origine dans des lésions de structures du tronc cérébral notamment de la région pontine (noyau pédunculo-pontin, tegmentum latéral, locus subcœruleus) apparaissant dès les stades 1 à 3 d'après la classification de Braak (Grinberg et al. 2010).

Le syndrome des jambes sans-repos est aussi retrouvé chez les patients. Il se caractérise par une sensation désagréable et une envie incontrôlable de bouger les jambes. Cette sensation s'atténue lors de la marche et s'aggrave au repos.

iv) Troubles neuro-végétatifs :

Aussi appelés dysautonomie, ces troubles correspondent à un dysfonctionnement du système nerveux autonome. De ce fait, ils regroupent un large spectre de symptômes et diffèrent grandement d'un patient à l'autre. Ils traduisent l'extension du processus de dégénérescence neuronale à différents niveaux du système nerveux autonome, allant du noyau dorsal du nerf vague au locus cœruleus en passant par l'hypothalamus ainsi qu'aux ganglions sympathiques. Les symptômes les plus courants (pour revue voir Chaudhuri & Schapira, 2009) découlant de ces lésions regroupent:

- Des perturbations du système cardiaque ;
- Des perturbations de la motilité de l'intestin entraînant des constipations ;
- Une perte d'appétit, avec des lourdeurs stomacales et des reflux gastriques ;
- Des problèmes de déglutition causés par un ralentissement des mouvements de la langue et aggravés par la prise de traitement anticholinergiques ;
- Des dysfonctions sexuelles, avec baisse de la libido ou au contraire une hypersexualité ;
- Des difficultés de miction chez les hommes, associés à des douleurs, des syndromes obstructifs et de l'incontinence ;
- Des perturbations de la thermorégulation (sensibilité au froid ou au chaud).

v) Troubles sensoriels :

De nombreuses études se sont intéressées aux différents systèmes sensoriels des patients atteints de la MP. Elles ont permis de mettre en évidence le dysfonctionnement de certains de ces systèmes.

Les troubles de l'olfaction sont l'un des plus courants, avec 70 à 90% des patients touchés plus ou moins sévèrement (Chaudhuri & Schapira, 2009). Les malades présentent ainsi une diminution des capacités de détection, d'identification et de discrimination des odeurs qui peut survenir des années avant l'apparition des symptômes moteurs (Meshulam et al., 1998). Ces

troubles de l'odorat n'ont, pour l'heure, pas d'origine connue. En effet, il a été démontré que les cellules dopaminergiques étaient plus abondantes dans la partie glomérulaire du bulbe olfactif de patients Parkinsoniens, (Huisman, et al., 2004) ainsi que dans des modèles animaux de la MP (Lelan, et al 2011 ; Belzunegui et al., 2007) par rapport à leurs contrôles. Ces troubles ne peuvent donc pas être restreints à un problème de signalisation dopaminergique. Ils impliquent probablement d'autres voies de signalisation utilisant des neurotransmetteurs différents de la dopamine (Doty, 2012). La perte d'olfaction intervenant de façon précoce, elle constitue un bon marqueur prédictif de la maladie et peut être testée en clinique grâce à l'*University of Pennsylvania Smell Identification Test* (UPSIT). Les patients avec les scores les plus faibles à ce test présentent ainsi un risque accru de développer une MP au cours des quatre prochaines années, ainsi que des troubles moteurs majorés. De plus, il a été démontré que dans les formes familiales de la MP, ce test peut être utilisé de façon efficace comme marqueur prédictif de la maladie chez les parents du 1^{er} degré (Doty RL, 2012).

Les troubles de la vision touchent 78% des patients Parkinsoniens (Archibald et al., 2011). Ils sont nombreux et variés, impactant aussi bien la perception des couleurs que celle du mouvement ainsi que la sensibilité au contraste. Il est à noter que les patients Parkinsoniens présentent des dysfonctions dans la réalisation des mouvements de saccades oculaires (réponse motrice volontaire ou réflexe des yeux à une stimulation visuelle). Les saccades oculaires volontaires seraient plus courtes chez les patients mais aussi plus difficiles à réfréner, (Chambers & Prescott, 2010) tandis que les saccades réflexes seraient plus rapides en comparaison de leurs contrôles (Terao et al. 2011).

1.5 Douleur :

La douleur chronique est un des symptômes non-moteurs les plus commun et les plus handicapant de la MP, avec un fort impact sur la qualité de vie (Politis et al., 2010). On estime sa prévalence entre 40-85% (Gandolfi et al., 2017 ; Nègres-Pagès et al., 2008). Une étude a ainsi mis en lumière que les patients Parkinsoniens présentent une consommation de traitements analgésiques significativement plus élevée que dans la population générale du même âge (Brefel-Courbon et al., 2009). La douleur chronique dans la MP peut être bilatérale ou latéralisée. Dans ce dernier cas, il s'agira le plus souvent du côté où les troubles moteurs sont les plus prononcés (Nègres-Pagès et al., 2008). Elle est présente tout au long de la maladie et survient parfois longtemps avant l'apparition des complications motrices (Wasner & Deuschl, 2012).

1.5.1 Définition :

« Douleur » est un mot couramment utilisé dans le langage quotidien. Il s'agit pourtant d'une expérience multidimensionnelle complexe qu'il est essentiel de définir correctement afin

de mieux l'appréhender. Patrick Wall, un expert international reconnu ayant contribué largement à la recherche sur la douleur, la définit ainsi : « *Pain is not just a sensation, but, like hunger and thirst, is an awareness of an action plan to be rid of it* ». Plus couramment, *The International Association for the Study of Pain (IASP)* définit la douleur comme une « expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite en ces termes ». On distingue ainsi différentes composantes de la douleur :

- La composante sensori-motrice : elle correspond aux caractéristiques intrinsèques du message nociceptif (origine, intensité, durée, qualité). Cette composante est hautement variable selon les individus.
- La composante affective et émotionnelle : elle correspond à l'aspect désagréable de la douleur et à la façon dont le patient la ressent.
- La composante cognitive : elle correspond à la signification que possède la douleur pour le patient. Elle varie en fonction du caractère de la douleur (curable ou non, chronique ou aigue).
- La composante comportementale : elle correspond aux manifestations que la douleur provoque chez le patient. Il peut s'agir de manifestations verbales, de mouvements etc...

D'un point de vue physiopathologique, la douleur peut généralement être classée comme «nociceptive» ou «neuropathique». La douleur nociceptive est décrite comme une douleur résultant d'une lésion du tissu non neuronal et consécutive à l'activation de nocicepteurs. Dans le cadre de la MP, les douleurs nociceptives sont le plus souvent liées à la dystonie ou à une déformation du squelette imposée par la posture anormale et la rigidité musculaire (Ford, 2010). Ces conditions peuvent alors sur-stimuler les nocicepteurs périphériques. Inversement, la douleur neuropathique est définie comme une douleur due à une lésion du système somatosensoriel central ou périphérique. C'est-à-dire des nocicepteurs eux-mêmes, ou des voies nociceptives centrales.

1.5.2 Tester la douleur :

Une méthode fiable et reproductible est nécessaire afin de tester la douleur chez des patients Parkinsoniens. En clinique, elle est souvent mesurée par des questionnaires d'auto-évaluation ou des échelles visuelles standardisées comme la *Visual Analog Scale for Pain*, où le patient doit attribuer une note à l'intensité de sa douleur en la reportant manuellement sur une échelle allant de l'absence de douleur à la pire douleur imaginable (**Figure 5**). Cette méthode d'évaluation est l'une des plus utilisée en clinique, elle n'a cependant pas été validée pour une utilisation chez des patients souffrant de la MP (Skogar, 2016). L'unique échelle

validée pour estimer la douleur chez des patients Parkinsoniens est la « *King's Parkinson's Disease Pain Scale* » (KPPS). Cette échelle permet ainsi d'évaluer l'intensité, la localisation et la fréquence des douleurs ainsi que leur lien avec les fluctuations des troubles moteurs (Chaudhuri et al., 2015). Chez l'animal, la douleur est généralement évaluée par le biais de tests comportementaux (pour revue : Deuis et al., 2017). Le test de la « plaque chaude » ou « *hot plate test* » est un bon exemple de test nociceptif. On dépose l'animal sur une surface chaude (50-55°C) et le temps que écoulé avant que celui-ci présente les premiers signes d'inconfort est alors noté et comparé.

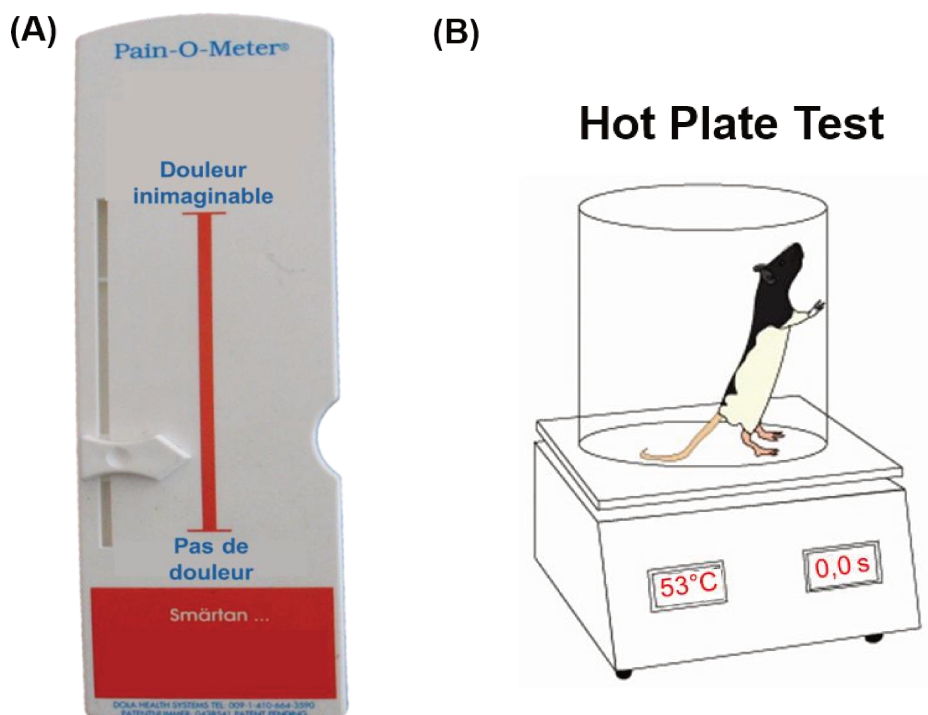


Figure 5 : A – Exemple d'échelle analogique visuelle utilisée en clinique pour l'évaluation de la douleur. B - Test de la plaque chaude. Le temps écoulé avant que l'animal ne présente les premiers signe d'inconfort et noté et ce « score » est ensuite comparé entre les animaux.

1.5.3 Hétérogénéité de la douleur Parkinsoniennes :

Un tiers des patients atteint de la MP se plaint d'au moins deux types de douleurs requérant chacun des traitements adaptés (Lee et al., 2006 ; Beiske et al., 2009). L'hétérogénéité des douleurs décrites par les patients a obligé très tôt les différents groupes s'intéressant à ces symptômes à les définir et les classer selon des critères stricts (Snider et al., 1976 ; Ford et al., 1998 ; Nègres-Pagès et al., 2008 ; Ford et al., 2010). La classification proposée par Ford et collaborateurs (1998, 2010) est aujourd'hui l'une des plus utilisée dans la littérature. Elle permet ainsi de distinguer :

- Les douleurs d'origines musculo-squelettiques qui sont les plus communes. Elles sont présentes chez 58.5% des patients souffrant de symptôme douloureux ;

- les douleurs radiculaires/neuropathiques, touchant 38% de ces patients ;
- les douleurs liées aux mouvements anormaux (dystonies, dyskinésies), affectant 33.5% de ces patients ;
- les douleurs centrales neuropathiques présentes chez 8.5% de ces patients.

Malgré une classification précise, une question reste non résolue par cette nomenclature « ces douleurs sont-elles liées directement à la MP ? ». Pour répondre à celle-ci, Nègres-Pagès et collaborateurs (2008) ont proposé une autre classification permettant de trier les douleurs ressenties en deux grandes catégories :

- Les douleurs liées directement à la MP, qui représentent 60% des syndromes douloureux des patients Parkinsoniens.
- Les douleurs non liées à la MP qui englobent les 40% restants. Il faut noter que ces douleurs peuvent être empirées par la MP, notamment les douleurs ostéo-articulaires qui sont majorées par les troubles de la posture, les dyskinésies et la rigidité.

De ces deux visions des douleurs Parkinsoniennes est apparue une nouvelle nomenclature (**Figure 6A**) rendant compte à la fois du caractère clinique des douleurs ressenties (nociceptives vs neuropathiques, régions touchées et sensations associées), et de leur lien, direct ou non, avec la MP (Wasner & Deuschl, 2012).

Dans cette revue Wasner & Deuschl, différentient trois grands types de douleurs associées à la MP: les douleurs « nociceptives » dont les mécanismes font intervenir l'activation exacerbée de nocicepteurs en l'absence de toute altération des voies nociceptives centrales. Ces douleurs peuvent être aggravées par les troubles moteurs de la maladie. A ces douleurs « nociceptives », ils opposent les douleurs « neuropathiques » qu'ils définissent comme des douleurs directement causées pas une lésion du système nociceptif. Ces douleurs neuropathiques peuvent alors découler d'une atteinte du système nerveux périphérique, ou avoir une origine centrale et donc potentiellement liée à la dégénérescence dopaminergique. Une dernière sous-catégorie des douleurs Parkinsoniennes ne peut pas être clairement classée selon ces deux critères. C'est le cas des douleurs découlant du syndrome des jambes sans repos retrouvé chez 20% des patients ou de l'akathisie (impatiences motrices, envie irréprouvable de se mouvoir). Les origines de ces deux syndromes douloureux restent aujourd'hui inconnues, elles semblent tout de même liées au système dopaminergique (Ford, 2010). Une dernière nomenclature a été proposée très récemment (Marques et al., 2019), dans celle-ci les auteurs proposent de discriminer les douleurs Parkinsoniennes centrales, particulièrement difficiles à définir, des autres sous-types de douleurs par un diagnostic d'exclusion. Ainsi les douleurs centrales proviendraient, au moins en partie, de phénomènes compensatoires/neuroplastiques pathologiques intervenant au niveau central et

provoqueraient un dysfonctionnement du système somatosensoriel. Ils définissent alors les douleurs centrales Parkinsoniennes comme des douleurs chroniques directement liée à la maladie et différentes des douleurs musculo-squelettique, radiculaire et dystoniques.

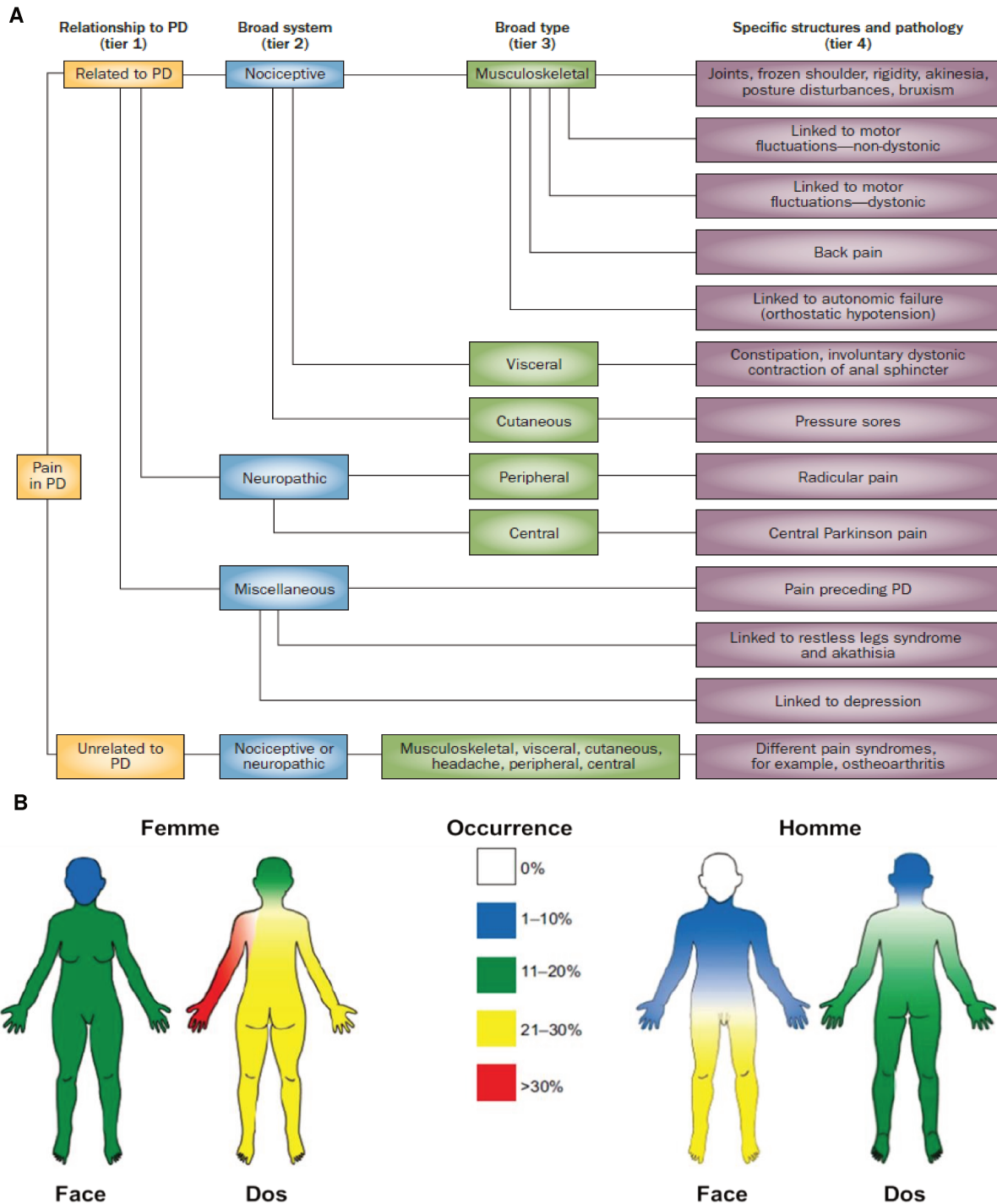


Figure 6 : A - Taxonomie de la douleur Parkinsonienne d'après Wasner & Deuschl, 2012. B - Emplacements des douleurs chroniques Parkinsoniennes pour les femmes (gauche) et les hommes (droite) les plus courants. D'après Skogar et al., 2012.

1.5.4 Physiopathologie des douleurs Parkinsoniennes :

L'étude des symptômes douloureux Parkinsoniens a été reléguée au second plan pendant une longue période. On observe cependant un regain d'intérêt pour ces symptômes dans la littérature ces dernières années. Ainsi, de multiples études publiées récemment reportent chez des patients Parkinsoniens des seuils de perception sensorielle et nociceptifs anormaux. Ces études se sont intéressées à différentes modalités sensorielles comme la chaleur, le froid ainsi qu'à l'aspect somatosensoriel (touché).

Dans une 1^{ère} étude, il a été reporté que des malades Parkinsoniens présentaient des seuils de perception à la chaleur abaissés (44°C vs 46.1°C) par rapport à des volontaires sains (Djaldetti et al., 2004). Ce phénomène, dénommé hyperalgésie, était même exacerbé chez les patients parkinsoniens présentant une symptomatologie douloureuse, comparés aux patients parkinsoniens non douloureux (42.6°C vs 45.6°C). De plus, les patients souffrant d'une MP asymétrique présentaient des seuils nociceptifs significativement abaissés du côté le plus atteint, ce qui est confirmé dans une étude indépendante (Perrotta et al., 2010).

Les patients Parkinsoniens semblent également plus sensibles au froid, comme attesté par le « *cold pressor test* » avec des seuils douloureux au froid significativement plus bas chez les patients Parkinsoniens comparativement au groupe contrôle associé (Brefel-Courbon et al., 2005). Dans une troisième étude, Zambito Marsala et collaborateurs (2011) ont testé, grâce à des chocs électriques d'intensité croissante délivrés dans les mains ou les pieds, les seuils de perception tactile et les seuils nociceptifs chez 106 patients Parkinsoniens. Ils ont pu démontrer que les seuils de perception tactile n'étaient pas modifiés chez les patients. Au contraire, les seuils de perception de la douleur étaient significativement diminués par rapport au groupe contrôle. Il est intéressant d'ajouter que deux études ont identifié une origine potentielle de ses seuils nociceptifs anormaux au niveau spinal. Il semble en effet que la sommation temporelle des influx nociceptifs soit facilitée chez les patients (Perrotta et al., 2010; Avenali et al., 2017). La littérature semble donc s'accorder sur le fait que les patients Parkinsoniens présentent généralement des seuils nociceptifs abaissés par rapport au reste de la population. Toutefois, une étude réalisée par Nolano et collaborateurs (2008), a montré l'effet inverse avec des patients Parkinsoniens présentant des seuils nociceptifs et tactiles à la chaleur, au froid et mécanique significativement plus élevés que chez le groupe contrôle. Des seuils sensoriels anormalement élevés (i.e une sensibilité diminuée) ont également été retrouvés au niveau de la plante du pied chez des patients Parkinsoniens (Prätorius et al., 2003)

Les mécanismes physiopathologiques sous-tendant les douleurs chroniques Parkinsoniennes restent à l'heure actuelle peu connus. Cependant, on associe volontiers

certaines de ces douleurs à une cause « nociceptive ». C'est le cas par exemple des douleurs causées par la dystonie ou la « main Parkinsonienne » toutes deux trouvant pour origine des contractures musculaires. Les douleurs neuropathiques Parkinsoniennes à l'inverse se déclenchent sans aucune cause clinique apparente, le plus souvent dans les extrémités (mains et pieds) et le dos (**Figure 6B**). Les patients décrivent ces douleurs comme lancinantes, souvent en des termes de brûlures, de démangeaisons ou de picotements apparaissant ou s'aggravant lors des phases « OFF » (Schestatsky et al., 2007). Les douleurs neuropathiques sont généralement associées à une lésion, ou à une dysfonction des voies nociceptives centrales, comme c'est le cas par exemple des atteintes thalamiques (Bogousslavsky et al., 1988).

i) Une origine périphérique ?

Il existe des arguments soutenant l'hypothèse d'une origine «périphérique» de ces douleurs, provoquée par la neurodégénérescence précoce des nocicepteurs (fibres C et A δ) eux-mêmes (Reichling & Levine, 2011). Cette hypothèse est d'ailleurs appuyée par des études récentes confirmant l'accumulation d'alpha-synucléine phosphorylée dans des biopsies de peau de patients Parkinsoniens (Donadio et al., 2016). D'autres travaux ont mis en évidence une perte des terminaisons nerveuses libres de petit et gros calibres au niveau de l'épiderme des malades (Nolano et al., 2008 ; Nolano et al., 2017). Ces mêmes auteurs ont souligné la présence d'une augmentation de l'arborisation des fibres nerveuses survivantes, probablement afin de maintenir une innervation épidermique optimale dans les premiers stades de la maladie. L'ensemble de ces études a ainsi pu mettre en évidence que des lésions périphériques du système somatosensoriel existent dans la MP, mais celles-ci restent peu explorées.

ii) Une origine centrale ?

Il a également été suggéré que les douleurs neuropathiques Parkinsoniennes pouvaient avoir une origine centrale et seraient la conséquence d'un dysfonctionnement des circuits sensoriels supra-spinaux, reliant les ganglions de la base au thalamus, au cortex, ainsi qu'à d'autres structures sous-corticales (Sürücü et al., 2013). Plusieurs travaux ont ainsi exploré l'intégrité des voies nociceptives centrales, notamment en électrophysiologie par l'exploration de potentiels nociceptifs évoqués par rayonnement laser (aussi appelés « *potentiels N2/P2* ») appliqué au niveau de la peau des sujets. Ces potentiels *N2/P2*, enregistrés en EEG, correspondent à l'intégration de l'influx nociceptif, transmis par les fibres A δ , par le complexe cingulaire antérieur et l'insula. Leur amplitude dépend donc de l'intégrité des voies nociceptives centrales et leur étude permet de discriminer une atteinte périphérique d'une atteinte centrale du système somatosensoriel (Garcia-Larrea et al., 2003; Lefaucheur,

2005). Grâce à cette technique, plusieurs groupes ont pu démontrer une atteinte centrale du traitement de l'information nociceptive (Schestatsky et al., 2007; Tinazzi et al., 2008; Zambito-Marsala et al., 2017). Dans la 1^{ère} étude (Schestatsky et al., 2007), les auteurs ont pu mettre en évidence une augmentation de l'amplitude des *potentiels N2/P2* chez des patients Parkinsoniens présentant des douleurs centrales comparés à des volontaires sains et des Parkinsoniens sans symptômes douloureux. Au contraire, d'autres travaux (Tinazzi et al., 2008; Zambito-Marsala et al., 2017) ont montré une diminution des *potentiels N2/P2* chez des patients Parkinsoniens. Ces différences de résultats peuvent s'expliquer par les populations étudiées, le groupe de Schestatsky ayant étudié des patients présentant une symptomatologie douloureuse centrale, tandis que les deux autres groupes étudiaient des populations Parkinsoniennes sans symptomatologie douloureuse. Enfin, dans une étude utilisant une technique d'imagerie nucléaire (*TEP - H₂O¹⁵*) permettant le suivi de l'activité cérébrale couplée à un test de recherche du seuil nociceptif au froid, les auteurs ont pu déceler l'activation anormale d'aires cérébrales « nociceptives » comme le cortex cingulaire antérieur, l'insula et le cortex préfrontal chez les patients Parkinsoniens mais pas chez le groupe contrôle (Brefel-Courbon et al., 2005). Il est également intéressant de noter que des neurones dopaminergiques ainsi que des récepteurs (D₁ et D₂) à la dopamine sont présents au sein des couches dorsales de la moelle épinière (Lindvall et al., 1983 ; Millan, 2002). On peut supposer dès lors, qu'une atteinte de ces cellules puisse intervenir dans la MP et provoquer une intégration anormale de l'influx nociceptif au niveau spinal. Des données ont été publiées en ce sens chez l'Homme et l'animal. En effet, les études de Perrotta et collaborateurs (2010) et Avenali et collaborateurs (2017) montrent une facilitation de la sommation temporelle de la douleur (effet *wind-up*¹) chez les patients Parkinsoniens au niveau spinal. De plus, des enregistrements électrophysiologiques réalisés sur des neurones de la couche V de la corne dorsale de la moelle épinière de rats lésés à la 6-hydroxydopamine montrent également un effet *wind-up* accru chez ces animaux comparativement à leurs contrôles (Charles et al., 2018). En outre, une étude publiée récemment, semble également pointer un déficit des voies nociceptives modulatrices descendantes impliquant le système noradrénergique et sérotoninergique chez des rats lésés à la 6-OHDA (Campos et al., 2019).

Ces études semblent donc indiquer que les voies nociceptives centrales sont affectées dans le contexte Parkinsonien, entraînant une mauvaise intégration de l'influx nociceptif. Le rôle des ganglions de la base dans la nociception est également de plus en plus discuté dans la littérature et fait l'objet d'une discussion dans le chapitre **2.6** de ce manuscrit.

¹ Phénomène neuroplastique intervenant suite à des stimulations douloureuses répétées de haute intensité, et provoquant une augmentation transitoire du taux de décharge des neurones relayant l'information nociceptive.

En conclusion, l'ensemble de ces études converge en faveur d'une perturbation de la nociception comme symptôme à part entière de la MP. Il semblerait que ces anomalies soient directement liées au processus neurodégénératif à l'œuvre. Certains groupes ont pu montrer une corrélation significative entre la durée de la maladie et le seuil nociceptif subjectif (Djaldetti et al., 2004), ainsi qu'une aggravation de la sensibilité à la douleur avec son évolution (Mylius et al., 2011). Il est important de rappeler ici que douleur et dépression sont étroitement liées dans le contexte de la MP ; les douleurs chroniques pouvant engendrer de la dépression, et la dépression pouvant exacerber les sensations douloureuses ressenties par les patients. Il faut également souligner que la composante sensori-motrice du message nociceptif n'est pas la seule perturbée dans la MP. En effet, plusieurs études ont également mis en lumière des altérations de la perception de la douleur, c'est-à-dire des composantes cognitive et affective de la nociception (Lim et al., 2008 ; Zambito-Marsala et al., 2011).

1.5.5 Traitement des douleurs Parkinsoniennes :

La prise en charge de la douleur chez le Parkinsonien reste aujourd'hui restreinte. Beiske et collaborateurs ont montré en 2009 que 50% des patients ne recevaient aucun traitement spécifique pour lutter contre la douleur.

i) Approches pharmacologiques :

Le traitement des douleurs Parkinsoniennes est difficile. Il semble qu'une association de molécules analgésiques soit le traitement le plus efficace (Jost & Buhmann, 2019). Ainsi, dans une revue récente Blanchet & Brefel-Courbon (2017), ont suggéré de combiner un traitement anti-inflammatoire (paracétamol) au traitement dopaminergique pour optimiser la prise en charge des douleurs nociceptives. Concernant les douleurs neuropathiques, la L-dopa ainsi que les opioïdes (Oxycodone/Naloxone) semblent être les plus efficaces, mais doivent être dosés avec attention car ils peuvent avoir des effets psychotropes chez les patients (Ghoche, 2012) et, dans certains cas, aggraver les symptômes de constipation (Gandolfi et al., 2017). La littérature n'est pas unanime quant à l'effet de l'introduction du traitement dopaminergique sur les symptômes douloureux Parkinsoniens. Certaines études ont montré une amélioration des symptômes douloureux grâce au traitement (Nutt, 1984; Gerdelat-Mas et al., 2007; Brefel-Courbon et al., 2005, 2013), d'autres n'ont vu aucune amélioration des seuils nociceptifs après administration d'agonistes dopaminergiques comme le pramipexol et la rotigotine (Dellapina et al., 2011; Rascol et al., 2016), ou de L-DOPA (Barone et al., 2010). Certains auteurs ont même constaté une aggravation de la symptomatologie douloureuse après introduction du traitement (Snider et al., 1976 ; Quinn et al., 1986 ; Coon and Laughlin, 2012). Ces études révèlent donc un rôle bien plus complexe qu'initialement envisagé du système dopaminergique, et plus généralement du réseau des ganglions de la base sur la

nociception. On peut également citer ici le rôle de certains antidépresseurs, comme la duloxétine, sur l'amélioration des douleurs Parkinsoniennes centrales (Gandolfi et al., 2017). D'autres études reportent une amélioration des douleurs nociceptives par des injections de toxine botulique (Bruno et al., 2016 ; Bonanni et al., 2007).

ii) Approches non-pharmacologiques :

Il existe également des approches non-pharmacologiques pour la prise en charge de la douleur dans la MP. Une étude par Nguy et al., (2019) a démontré les bienfaits d'une activité physique, même modérée, sur les seuils de douleur de patients Parkinsoniens. Dans cette étude, 30 patients étaient encouragés à réaliser deux types d'effort, le premier mobilisant le bras (*arm isometric exercise*), le second consistant à marcher à vitesse réduite ou modérée sur un tapis roulant. Dans les deux cas, les seuils de douleur à une pression mécanique étaient significativement rehaussés, jusqu'à être comparables à ceux de sujets contrôles de même âge.

D'autres études se sont intéressées à l'impact de la stimulation cérébrale profonde du noyau subthalamique (*STN-DBS*) sur ce symptôme (Dellapina et al., 2012 ; Pellaprat et al., 2014 ; Sürücü et al., 2013). Cette stratégie semblait efficace pour réduire les douleurs Parkinsoniennes dans 87% des cas, et semble particulièrement conseillée en l'absence de traitement dopaminergique (Kim et al., 2008). Les douleurs dystoniques sont celles qui répondent le mieux à la mise en place de la *STN-DBS*, avec près de 100% des patients déclarant une amélioration de ce symptôme, suivies par les douleurs neuropathiques (92%), les douleurs radiculaires (63%), et enfin les douleurs musculo-squelettiques (61%). Cette amélioration de la symptomatologie douloureuse semble pérenne dans le temps (Kim et al., 2012 ; Pellaprat et al., 2014 ; Jung et al., 2015), et s'associe avec une amélioration significative de la qualité de vie des patients (Cury et al., 2014). La stimulation cérébrale profonde du noyau subthalamique est même apparue comme un traitement plus efficace pour la prise en charge des douleurs Parkinsoniennes, que le traitement à la L-dopa dans l'étude de Sürücü et collaborateurs (2013). Pourtant, les mécanismes précis par lesquels la *STN-DBS* effectue son action analgésique ne sont pas encore bien compris à ce jour. Cependant il a été reporté qu'elle permettait :

- D'augmenter les seuils de douleur mécanique et à la chaleur. (Ciampi de Andrade et al., 2011 ; Dellapina et al., 2012) ;
- De diminuer le seuil de douleur au froid (Ciampi de Andrade et al., 2011) ;
- De diminuer l'activité de certaines zones cérébrales impliquées dans la nociception (cortex somatosensoriel) chez des patients Parkinsoniens douloureux (Dellapina et al., 2012) ;

- D'augmenter la tolérance à la douleur.

Nous venons de voir dans ce chapitre, que la maladie de Parkinson est une maladie complexe dont les symptômes sont un mélange de manifestations motrices et non-motrices. L'origine de ces symptômes réside principalement dans le dysfonctionnement du réseau des ganglions de la base, provoqué par la perte de la modulation dopaminergique. Or, l'hypothèse d'un rôle des ganglions de la base dans la nociception n'est pas nouvelle (Chudler & Dong, 1995). Du point de vue physiologique, il a été reporté que plusieurs structures des ganglions de la base (dont le noyau subthalamique) présentaient réponses aux stimuli nociceptifs. Il semble dès lors probable, que la MP puisse altérer le traitement de l'information nociceptive au niveau des ganglions de la base. Dans le prochain chapitre, nous détaillerons l'architecture et les fonctions de ce réseau. Nous nous intéresserons plus particulièrement à son rôle dans le traitement du message nociceptif, ainsi qu'à l'impact de la MP sur son fonctionnement.

2 – Les ganglions de la base

2.1 Généralités :

Nous avons vu dans le chapitre précédent que la maladie de Parkinson est une maladie complexe, entraînant l'apparition de nombreux symptômes ainsi que des douleurs. L'origine de cette pathologie semble, aujourd'hui, trouver consensus dans l'altération profonde du fonctionnement du réseau des ganglions de la base (GB), engendrée par la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la substance noire compacte. Dans ce chapitre, nous nous intéresserons à l'organisation fonctionnelle et anatomique de ce réseau. Une attention particulière sera apportée à la description du noyau subthalamique, puisque celui-ci s'est imposé comme une cible de choix dans la prise en charge des symptômes Parkinsoniens moteurs et non-moteurs, incluant la symptomatologie douloureuse, avec le développement de la stimulation cérébrale profonde. L'importance de ce réseau dans l'intégration et le traitement du message nociceptif sera également discutée, en conditions normale et pathologique.

2.2 Neuro-anatomie des ganglions de la base :

Une spécificité de ce réseau réside dans la conservation de son organisation, et de l'anatomie des structures le composant, chez une grande partie des vertébrés (Parent, 1986). Cette caractéristique est d'autant plus marquée chez les mammifères. Le rat, *Rattus norvegicus*, constitue ainsi un modèle de choix pour l'étude de son fonctionnement, bien que des différences existent avec l'Homme et les primates. Pour cette raison, l'anatomie décrite dans les pages suivantes se focalisera sur celle du rat, bien que des parallèles avec le primate, le chat et l'Homme puissent être apportés.

2.2.1 : Boucle cortico-sous-corticale :

Les ganglions de la base (GB) sont un ensemble de structures cérébrales retrouvées dans la profondeur de chacun des deux hémisphères cérébraux (Albin et al., 1989). Ces structures sont étroitement interconnectées, et forment un réseau neuronal à l'architecture complexe, (**Figure 7**) permettant la réalisation de comportements orientés vers un but, et la sélection de l'action (Parent & Hazrati, 1995 ; Redgrave et al., 1999). Une de ses caractéristiques remarquables réside dans son organisation en boucle, permettant de relier le cortex, les GB et le thalamus. Ainsi, la plupart des régions corticales envoient des informations aux GB qui les relaient ensuite à différentes structures sous-corticales, afin d'engager l'exécution de comportements. Ces mêmes informations seront adressées en retour aux aires corticales d'origine, via un relai sur le thalamus (Albin et al., 1989 ; Parent & Hazrati, 1995). Anatomiquement, les GB sont constitués de quatre structures différentes : le striatum, le globus pallidus (GP), la substance noire (SN) et le noyau subthalamique (NST). Le globus pallidus se divise en deux segments : interne et externe (GPi et GPe). La substance noire se

distingue également en deux sous-structures : la substance noire *pars reticulata* (ou réticulée ; SNr) et la substance noire *pars compacta* (ou compacte ; SNc).

L'un des premiers schémas résumant l'organisation interne des GB a été proposé par Albin et collaborateurs en 1989, sur la base de données expérimentales obtenues chez l'Homme et l'animal. Ce modèle décrit une structure d'entrée unique dans ce réseau, le striatum, qui reçoit des informations de la majorité des aires corticales, et des noyaux intralaminaires du thalamus. De la même façon, on distingue deux structures de sortie, la SNr et le GPi (appelé noyau entopédonculaire chez le rat). Ces deux structures inhibitrices se projettent largement vers le thalamus, les aires pré-motrices du tronc cérébral comme le colliculus supérieur (CS), la substance périaqueducale grise (PAG), et la région pontine incluant le noyau pédunculo-pontin (PPN) et le noyau parabrachial (PBN) (Redgrave & Coizet, 2007). En retour, le thalamus émet ses efférences excitatrices vers les aires corticales d'origine, créant l'architecture en boucle caractéristique des GB. La SNc, qui se projette massivement sur le striatum (Dahlstroem & Fuxe, 1964), et de façon plus discrète sur le NST et le GPe (Rommelfanger & Wichmann, 2010), exerce un rôle modulateur primordial sur l'activité de leurs neurones.

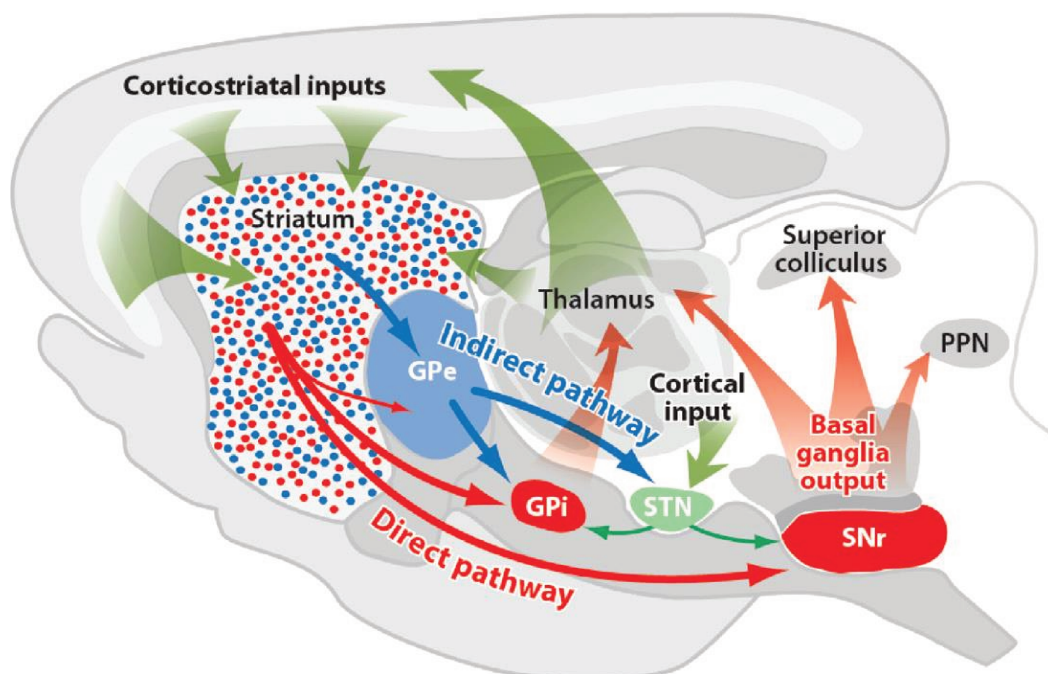


Figure 7: Schéma des ganglions de la base, vue sur une coupe sagittale schématisée de cerveau de rat. La voie directe entre le striatum et la SNr est représentée en rouge. La voie indirecte entre le striatum, le GPe et le STN est représentée en bleu. Les connexions glutamatergiques du STN avec le GPe et la SNr sont représentées en vert. Les connexions extérieures au réseau des GB sont indiquées par les flèches évasées, en vert pour les connexions entrantes, en rouges pour les connexions sortantes. Image adaptée de *Handbook of the Basal Ganglia*, chap 1. Abréviations : GPe : Globus Pallidus externe ; GPi : Globus Pallidus interne ; STN : Noyau subthalamique ; SNr : Substance noire réticulée ; PPN : Noyau pédunculo-pontin.

2.2.2 Le modèle du double circuit :

Le modèle d'Albin (1989) postule également l'existence de deux voies distinctes pour le flux des informations au travers des GB (**Figure 8A**). Ces deux voies auraient des conséquences antagonistes sur l'activité corticale.

- La voie directe : Elle se projette du striatum vers les structures de sortie des GB. Les neurones striataux GABAergiques de cette voie vont ainsi inhiber directement le GPi et la SNr, levant l'inhibition tonique de ces structures sur le thalamus, et permettant *in fine* l'activation du cortex. Lorsqu'elle est activée cette voie directe est donc excitatrice. Elle permettrait ainsi la réalisation de commandes motrices dans le contexte d'une activation des aires corticales correspondantes.

- La voie indirecte : Elle se projette du striatum aux structures de sortie des GB via deux relais successifs, sur le GPe premièrement puis le NST. Les neurones striataux GABAergiques de cette voie vont inhiber les neurones inhibiteurs du GPe se projetant sur le NST. Cette double inhibition permet ainsi aux neurones excitateurs du NST d'activer le GPi et la SNr, renforçant leur influence inhibitrice sur le thalamus. Lorsqu'elle est activée cette voie indirecte est donc inhibitrice. Elle permettrait ainsi l'arrêt des commandes motrices dans le contexte d'une inhibition des aires corticales correspondantes.

L'équilibre et la régulation de ce double circuit apparaît donc primordiale. Ainsi, tout déséquilibre en faveur de la voie directe aura pour conséquence une surexpression des activités corticales dont la chorée d'Huntington (hyperkinésie) est un exemple (Albin et al., 1989). A l'inverse, une suractivité de la voie indirecte induira une difficulté de sélection des séquences motrices corticales dont les troubles hypo-kinétiques observés dans la MP sont un exemple (Albin et al., 1989). Une explication probable à l'hyperactivité de la voie indirecte est l'influence opposée de la dopamine sur les neurones des voies directe et indirecte. En effet, les neurones de la voie directe expriment majoritairement le récepteur à la dopamine D1, activateur, tandis que les neurones de la voie indirecte expriment majoritairement le récepteur D2, inhibiteur (Lewis & Barker, 2009).

2.2.3 Le modèle du triple circuit :

Le modèle du double circuit a permis de conceptualiser les conséquences opposées que jouent chacune des deux voies composant le réseau des GB. Il a ainsi constitué une aide précieuse pour la compréhension du fonctionnement des GB, en conditions normales et pathologiques. Devant ce succès, le schéma initial en « *box & arrows* » d'Albin et collaborateurs, a rapidement été révisé, corrigé et complété (Alexander & Crutcher, 1990 ;

DeLong, 1990 ; Parent & Hazrati, 1995 ; Mink, 1996 ; Redgrave et al., 1999 ; Nambu et al., 2002).

i) La voie cortico-subthalamique :

L'une des révisions majeures du circuit original proposé par Albin et collaborateurs est l'ajout de la voie « hyperdirecte » (Mink, 1996 ; Nambu et al., 2002), faisant du NST une structure d'entrée à part entière à l'image du striatum. Cette voie hyperdirecte permet une connexion, sans relai sur le striatum, entre le cortex et le NST (**Figure 8B**). Bien que décrite dans l'article original d'Albin, son importance était alors que peu appréciée (Albin et al., 1989). Aujourd'hui son influence est largement admise ; le NST occupe ainsi une position clé pour intégrer très rapidement les informations corticales, influencer sur l'activité des structures de sortie des GB, et donc des voies thalamo-corticales (Nambu et al., 2002). Cette voie hyperdirecte agirait comme un interrupteur, permettant une « remise à zéro » en inhibant tous les programmes en cours, dans le but de réajuster le comportement (Redgrave, 1999 ; Nambu et al., 2004 ; Jahanshahi et al., 2015).

ii) La voie subthalamo-pallidale :

La projection réciproque entre le NST et le GPe avait également été omise du schéma d'Albin, bien que des travaux antérieurs soulignaient son existence (Van Der Kooy & Carter, 1981). L'importance de cette connexion particulière est apparue plus tard, dans le contexte Parkinsonien. En effet, les propriétés des neurones du NST et du GPe, ainsi que leur connexion réciproque, confèrent à ce mini réseau un potentiel de générateur d'oscillations pouvant se propager aux structures de sortie des GB (Plenz & Kitai, 1999). De manière

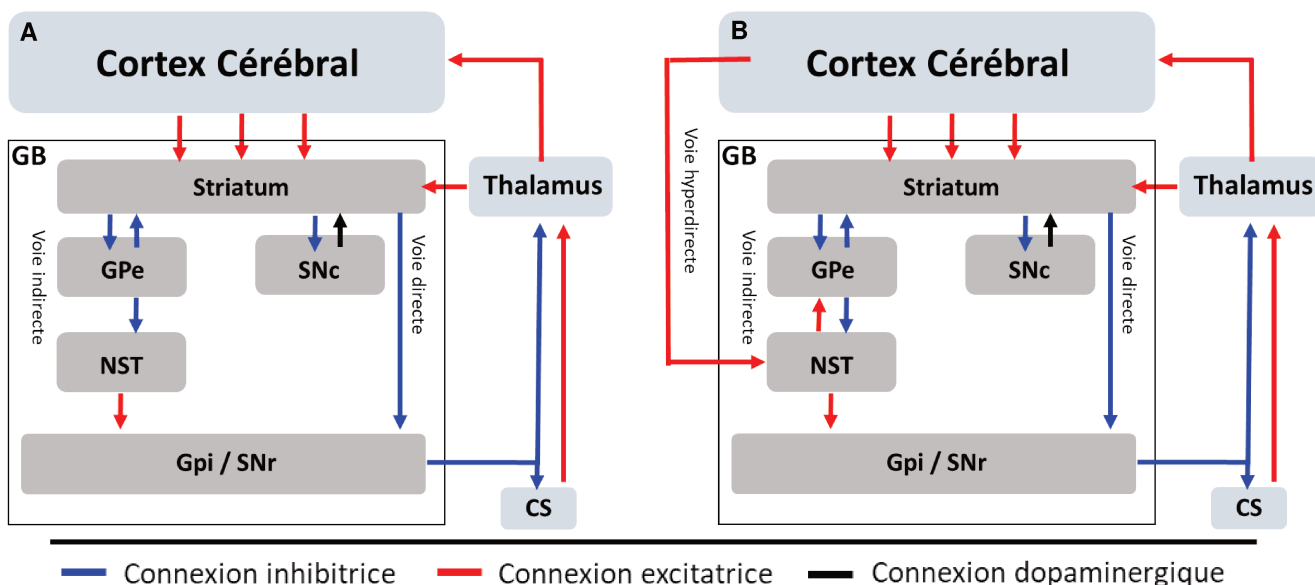


Figure 8 : Le réseau des ganglions de la base. **A – Modèle du double circuit** proposé par Albin et al., 1989. **B – Modèle du triple circuit** d'après Nambu et al., 2002. GPe : Globus Pallidus externe ; Gpi : Globus Pallidus interne ; STN : Noyau subthalamique ; SNr : Substantia nigra reticulata ; SNc : Substantia nigra compacta.

intéressante, une activité oscillatoire synchronisée dans la bande de fréquence bêta (12-35 Hz) est détectée chez les patients atteints de la MP, et a été associée à l'akinésie ainsi qu'à la bradykinésie.

2.3 : Organisation fonctionnelle :

Les premiers modèles anatomiques des GB rendent bien compte du transfert de l'information entre le cortex et les structures sous-corticales dans le contexte moteur. Cependant, il est apparu très rapidement que les fonctions des GB dépassaient très largement l'unique séquence motrice, et participaient également à l'apprentissage (Gaffan, 1996 ; Levy et al., 1997), à l'attention (Jackson & Houghton, 1995), à la perception sensorielle (Brown et al., 1997) et même à l'analgésie (Barasi et al., 1979 ; Barker, 1988 ; Chudler & Dong, 1995 ; Borsook et al. 2010). De plus, l'implication des GB dans des pathologies aux nombreuses manifestations cognitives et limbiques complexes, comme la maladie de Parkinson ou la maladie d'Huntington, vient souligner l'importance de ce réseau dans les comportements non-moteurs. Une des faiblesses des premiers modèles des GB réside donc dans l'absence de description de territoires associatif et limbique nécessaires à ces fonctions. Certains modèles se sont donc attachés à rassembler anatomie et fonction. On décrit ainsi généralement trois territoires fonctionnels distincts (**Figure 9**) au sein des GB (Parent, 1990 ; Yelnik 2008), bien que d'autres auteurs reportent l'existence de cinq territoires (Alexander et al., 1986). Ces trois territoires, limbique, associatif et sensori-moteur sont identifiés d'après la topographie de projection des neurones corticaux sur le striatum. Ils sont retrouvés dans chacun des noyaux des GB (**Figure 9**, Yelnik, 2008).

Territoire limbique : La partie ventro-médiane correspond au territoire limbique du striatum et permet le traitement d'informations émotionnelles et motivationnelles. Elle est connectée aux régions limbiques corticales (cortex cingulaire antérieur ; cortex préfrontal ventromédian ; cortex orbitofrontal) ainsi qu'à l'hippocampe, à l'amygdale et au bulbe olfactif. Elle se projette sur la partie dorsale de la SNr (Deniau & Chevalier, 1992) et sur le thalamus dorsomédian (Haber et al., 1990).

Territoire associatif : La partie centrale du striatum correspond au territoire associatif et permet le traitement d'informations cognitives. Elle est innervée par les cortex préfrontaux (dorsolatéral), pariétaux et occipitaux et se projette sur la partie rostrale de la SNr (Deniau & Chevalier, 1992) et les noyaux ventraux latéral (VL), antérieur (VA) et ventraux médian (VM) du thalamus (Ilinsky et al., 1985).

Territoire sensori-moteur : La partie dorso-latérale du striatum correspond à la partie sensori-motrice. Elle reçoit principalement des projections en provenance des régions motrices du cortex (cortex moteur primaire ; cortex pré-moteur ; aire motrice supplémentaire)

ainsi que du cortex somatosensoriel. Elle se projette sur la partie centrale de la SNr (Deniau & Chevalier, 1992) et sur les noyaux VA et VL du thalamus (Sidibé et al., 1997).

Cette organisation topographique stricte porterait à croire que le réseau des GB fonctionne selon des boucles fonctionnelles en vase clos, dans lesquelles les différents territoires fonctionnels et les informations qu'ils traitent seraient ségrégués les uns des autres (Parent, 1990). Cette vision est aujourd'hui remise en question, il semblerait en effet qu'un certain degré de chevauchement entre les territoires fonctionnels existe à tous les niveaux du réseau des GB (Haber et al., 2006 ; Shink et al., 1996 ; Percheron et al., 1984 ; Bevan et al., 1997). La conséquence de ce chevauchement serait une meilleure intégration des différentes informations traitées par le réseau des GB et une optimisation du processus de sélection.

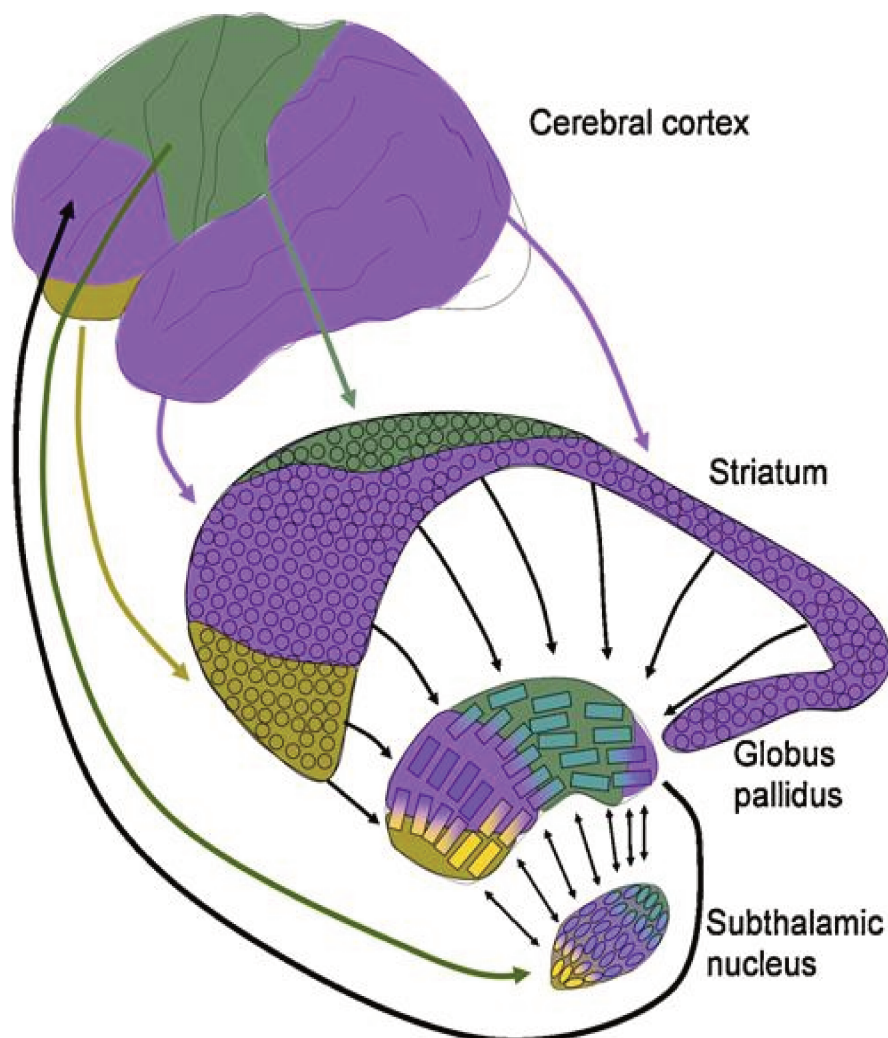


Figure 9 : Le réseau des ganglions de la base et ses territoires fonctionnels. Les territoires associatifs sont représentés en violet, les territoires limbiques en jaune et les territoires sensori-moteurs en vert (d'après Yelnik, 2008). Notez qu'ils sont retrouvés sur chacune des structures composant le réseau des GB.

2.4 : Architecture détaillée :

2.4.1 : Striatum :

Le striatum est la structure la plus volumineuse et la principale structure d'entrée des GB (**Figure 10**). Il tire son nom des nombreux faisceaux de fibres en provenance du cortex le traversant de haut en bas, et qui lui donnent son aspect strié (Ramón y Cajal, S, 1911). Chez le rat, le striatum apparaît anatomiquement comme une structure unique, cependant chez le primate et le chat, il est divisé dorsalement par les fibres de la capsule interne. Cette séparation anatomique permet la distinction entre le noyau caudé et le putamen chez ces espèces. Ces deux structures sont cependant reliées ventralement et sont considérées comme une entité fonctionnelle unique, avec des neurones et une connectivité similaires. La partie ventrale du striatum, constituée du noyau accumbens et des tubercules olfactifs, possède la particularité de recevoir des informations en provenance de structures limbiques (amygdale, hippocampe, aire tegmentale ventrale, cortex cingulaire antérieur) et du système nerveux autonome. Cette particularité lui vaut d'être parfois dénommé « striatum limbique » (Olmos & Heimer, 1999 ; Haber, 2016).

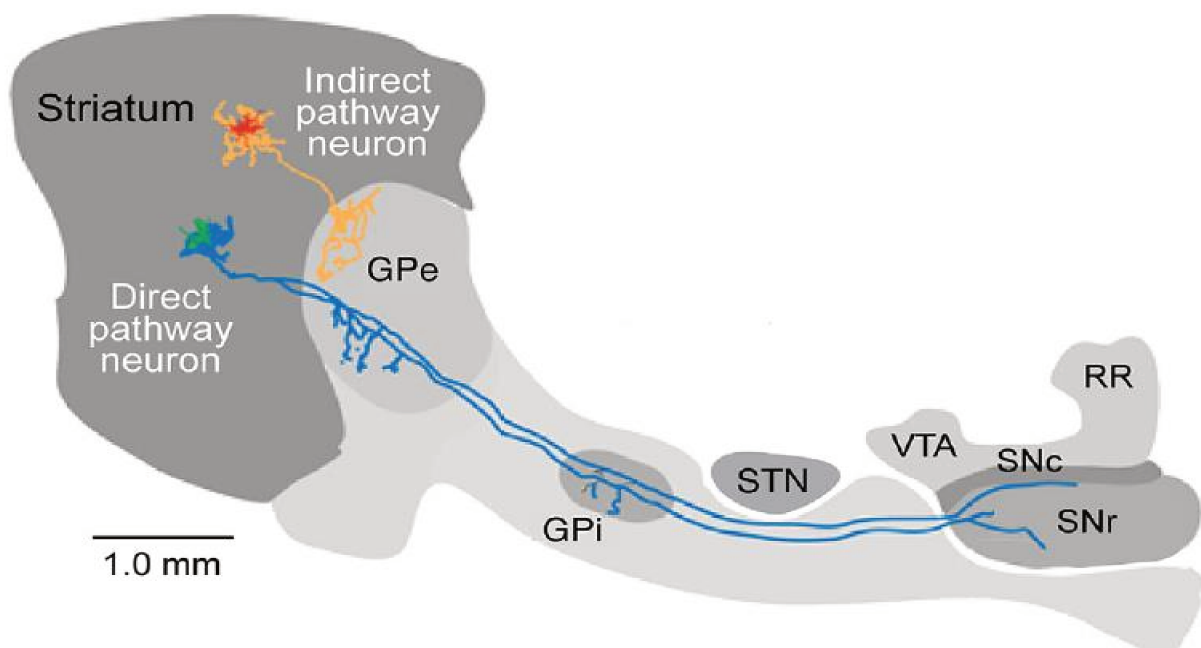


Figure 10: Traçage neuro-anatomique antérograde de deux types de Medium Spiny Neuron du striatum visualisés sur une coupe sagittale de cerveau de rat. En orange, reconstruction d'un MSN de la voie indirecte. En bleu, reconstruction d'un MSN de la voie directe. Abréviations : MSN : Medium Spiny Neuron ; GPe : Globus Pallidus externe ; GPi : Globus Pallidus interne ; STN : Noyau Subthalamique ; SNr : Substantia Nigra reticulata ; SNc : Substantia Nigra compacta. D'après *Handbook of the basal ganglia*, chap 1.

Le striatum est composé en grande majorité (90-95%) de neurones de projection dénommés « medium spiny neurons » (MSN) (Kemp & Powell, 1971 ; Yelnik et al., 1991). Les MSN tirent leur nom de leur arborisation dendritique développée, et entièrement recouverte d'épines dendritiques (**Figure 11A**, Yelnik et al., 1991). On estime leur nombre à 2,8 millions par hémisphère chez le rat (Oorschot, 1996). Ces neurones, utilisent le GABA comme neurotransmetteur (Ribak et al., 1979 ; Kita & Kitai, 1988) et reçoivent des afférences excitatrices glutamatergiques de la majeure partie des aires corticales (couches V et III) à l'exception de V1 (Kemp & Powell, 1970; Haber et al., 2006), des noyaux intra-laminaires du thalamus (Veening et al., 1980 ; Francois et al., 1991) ainsi que des afférences dopaminergiques de la substance noire compacte (Voorn et al., 1986) et GABAergiques du GPe.

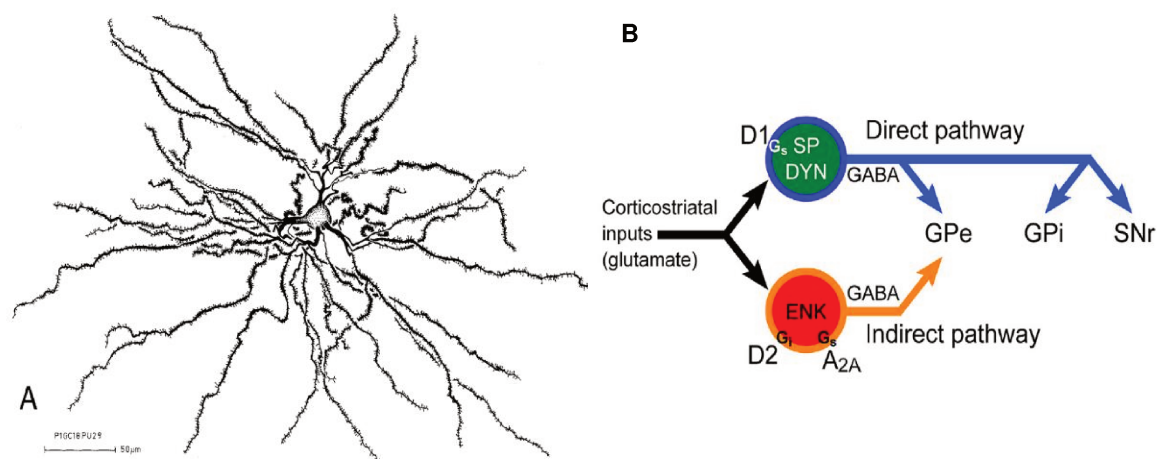


Figure 11 : A - Reconstruction d'un Medium Spiny Neuron d'après Yelnik et al. 1991. B – Distinction entre un Medium Spiny Neuron de la voie directe (en bleu) et de la voie indirecte (en rouge). D'après Handbook of the basal ganglia, chap 1.

Les cibles de projection des MSN sont le GPe, le GPi et la SNr (Graybiel et al., 1979). Comme nous l'avons décrit précédemment à l'aide du modèle d'Albin et collaborateurs, on distingue deux populations distinctes de MSN, en nombres équivalents (Gerfen & Young, 1988; Kawaguchi et al., 1990). La première regroupe des MSN positifs pour l'enképhaline et le récepteur à la dopamine D2 couplé à la protéine Gi inhibitrice (**Figure 11B**, rouge). Ces neurones se projettent préférentiellement sur le GPe et sont couramment appelés iMSN pour « indirect MSN » puisqu'ils sont connectés de façon indirecte aux structures de sortie des GB, via deux structures relais : d'abord sur le GPe puis sur le NST. La seconde population rassemble des MSN positifs pour la substance P, ils présentent le récepteur à la dopamine D1 couplé à la protéine Gs excitatrice (**Figure 11B**, bleu). Ils se projettent directement sur les structures de sortie des GB (SNr et GPi) et sont de ce fait souvent dénommés dMSN pour « direct MSN » (Gerfen et al., 1990). Les dMSN sont également connectés au GPe par le biais d'axones collatéraux.

2.4.2 : Globus pallidus :

Egalement appelé Pallidum du fait de sa couleur pâle lors de son observation au microscope, le globus pallidus se distingue en deux parties distinctes : externe (GPe) et interne (GPi). Chez le rongeur, l'équivalent du GPi est appelé noyau entopédonculaire. Pour des raisons de simplification, l'appellation GPi sera retenue par la suite.

i) Globus pallidus externe :

Le GPe est composé de ~46000 neurones (Oorschot, 1996) dont 95% sont des neurones de projection utilisant le GABA (Smith et al., 1987 ; Kita and Kitai, 1994). Ses afférences principales proviennent des iMSN inhibiteurs du striatum (Chang et al., 1981) et des neurones excitateurs du NST (Kita & Kitai, 1987). Ses neurones GABAergiques se projettent principalement sur le NST bien qu'ils contactent également le GPi et la SNr par le biais de collatérales (**Figure 12**). On distingue classiquement les neurones du GPe en deux sous-catégories de par leur morphologie, leurs propriétés électrophysiologiques ainsi que des critères neurochimiques:

- Les neurones « *prototypiques* » : Ce sont les plus abondants (~60% des neurones du GPe). Ils sont composés de neurones au corps cellulaire de taille moyenne (100 à 350 μm^2) d'où émergent 3 à 5 longues dendrites primaires (300-400 μm) en forme de disque. Ces dendrites primaires se divisent elles-mêmes en plusieurs segments (dendrites secondaires et tertiaires) et sont dépourvues d'épines. Ces neurones de projection émettent un axone se divisant en plusieurs collatérales, localement au sein même du GPe, mais aussi caudalement vers le NST (Baufreton et al., 2009 ; Kita and Kitai, 1994), le GPi et la SNr (Hazrati et al., 1990; Bolam et al., 1993; Kita & Kita, 1994). Une grande majorité de ces neurones exprime la parvalbumine (Mallet et al., 2012) ainsi que les facteurs de transcription Nkx2.1 et Lhx6 (Flandin et al., 2010 ; Abdi et al., 2015). D'un point de vue électrophysiologique, ils se distinguent par une activité soutenue et régulière et déchargent de façon anti-phasique au NST (Abdi et al., 2015 ; Mallet et al., 2012).
- Les neurones « *arkypallidaux* » : Moins abondants (~25% des neurones du GPe), ils se caractérisent par des neurones de petite taille (100 μm^2) présentant un arbre dendritique radial recouvert d'épines dendritiques. Ces neurones n'expriment pas la parvalbumine mais le précurseur aux opioïdes préproenképhaline, ainsi que le facteur de transcription FoxP2 (Mallet et al., 2012). Ils projettent leur axone majoritairement sur des interneurons du striatum dorsal. D'un point de vue électrophysiologique, ils se distinguent par une activité plus faible et irrégulière et déchargent en phase avec le NST (Abdi et al., 2015 ; Dodson et al., 2015).

ii) Globus pallidus interne :

Le GPi est, avec la SNr, l'une des deux structures de sortie du réseau des GB. Il est beaucoup moins développé chez les rongeurs que chez les primates avec une population neuronale estimée à ~3200 neurones par hémisphère (Oorschot, 1996). Ces neurones peuvent être GABAergiques ou cholinergiques et sont de taille moyenne et non-épineux (Van Der Kooy & Carter, 1981 ; Kha et al., 2000). Le GPi reçoit des afférences inhibitrices en provenance de la voie directe via le dMSN du striatum (Bolam & Smith, 1992) et des neurones du GPe (Hazrati et al. 1990) ainsi que des afférences excitatrices en provenance de la voie indirecte via les neurones excitateurs du NST (**Figure 12**, Carpenter & Strominger 1967 ; Kita & Kitai, 1987). Des afférences dopaminergiques en provenance de la SNc ont également été mises en évidence, avec pour conséquence une diminution du taux de décharge des neurones du GPi lors de leur activation (Richfield et al. 1987 ; Kliem et al. 2007). Concernant ses efférences, les neurones du GPi envoient des axones à différents niveaux du thalamus où ils ciblent particulièrement le noyau ventral antérieur (VA), les noyaux parafasciculaire (Pf) et centro-médian (CM) ainsi que l'habénula latérale et le noyau pédonculopontin (Van Der Kooy & Carter, 1981 ; Parent et al., 2001; Kha et al.,2000). Du point de vue électrophysiologique, les neurones du GPi se distinguent par une activité élevée (~25Hz) et irrégulière dépourvue de longue période de pause (Benhamou & Cohen, 2014).

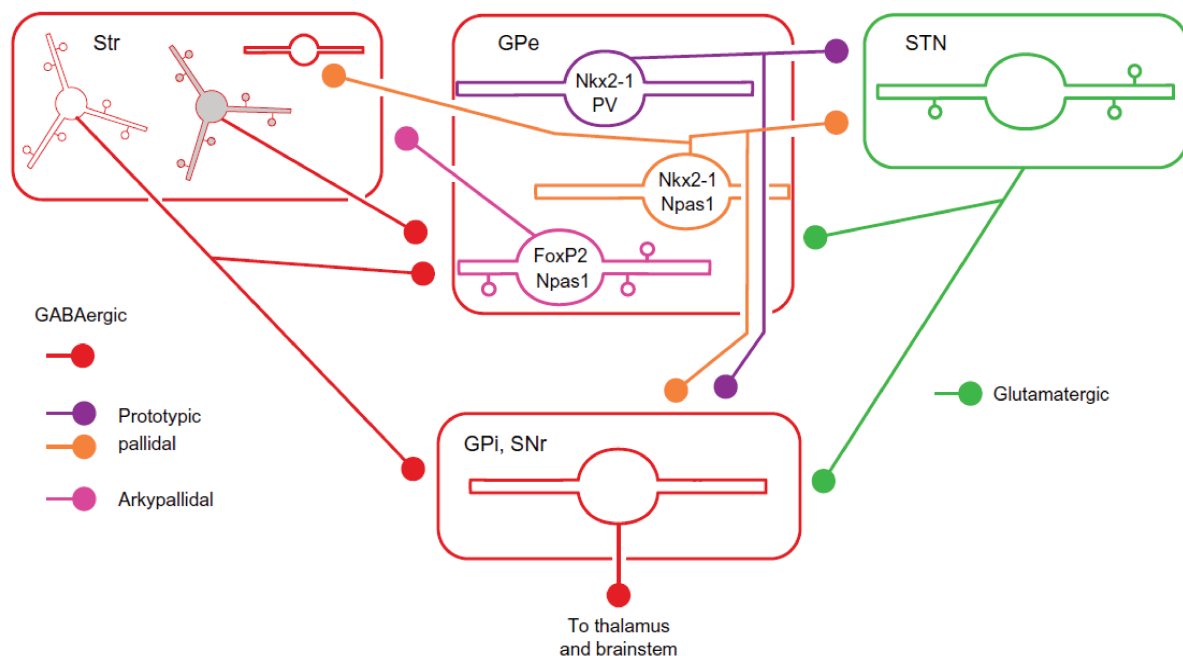


Figure 12 : Représentation schématique des connexions synaptiques des différentes structures des ganglions de la base.
D'après Handbook of the basal ganglia, chap 13.

2.4.3 Substance noire :

Comme décrit en introduction, la substance noire se compose de deux structures principales: la substance noire réticulée (SNr) et la substance noire compacte (SNc), facilement identifiables au microscope grâce à une coloration de Nissl. Ainsi, la SNr apparaît comme une large structure clairsemée de cellules neuronales, la SNc apparaît au contraire comme une bandelette de neurones de forte densité, située sur la face dorsale de la SNr.

i) Substance noire réticulée :

La SNr est un noyau de gros volume présentant une densité cellulaire faible. A l'image des autres structures des GB, elle est organisée en territoires fonctionnels. Ceux-ci s'arrangent sous la forme de lames semi-circulaires disposées à la manière de pelures d'oignon (Deniau et al. 1996). La région sensori-motrice représente le cœur de la SNr et occupe la partie dorso-latérale, le territoire limbique vient se placer dorsalement et médialement à ce cœur, le recouvrant en une fine bande (**Figure 13A**). La partie associative occupe la partie ventrale. La SNr partage de nombreuses similarités cytologiques et de connectivité avec le GPi si bien qu'ils sont très souvent confondus sous le terme de « structures de sortie » des GB (Albin et al., 1989 ; Parent & Hazrati, 1995). La SNr reçoit ainsi des afférences excitatrices du NST et inhibitrices du GPe et du striatum via la voie indirecte et directe respectivement. Elle est composée d'environ 26000 neurones (Oorschot, 1996) de taille moyenne et majoritairement GABAergiques même si une population dopaminergique existe dans sa partie ventrale (Oertel & Mugnaini, 1984 ; Gonzalez-Hernandez & Rodriguez, 2000). Leur soma peut avoir différentes morphologies et présente de deux à cinq dendrites peu ramifiées s'étendant dans les limites de leur territoire fonctionnel respectif (Mailly et al., 2001 ; Deniau et al., 1996 ; Tokuno et al., 1990). Cette particularité supporte l'hypothèse d'une organisation en canaux

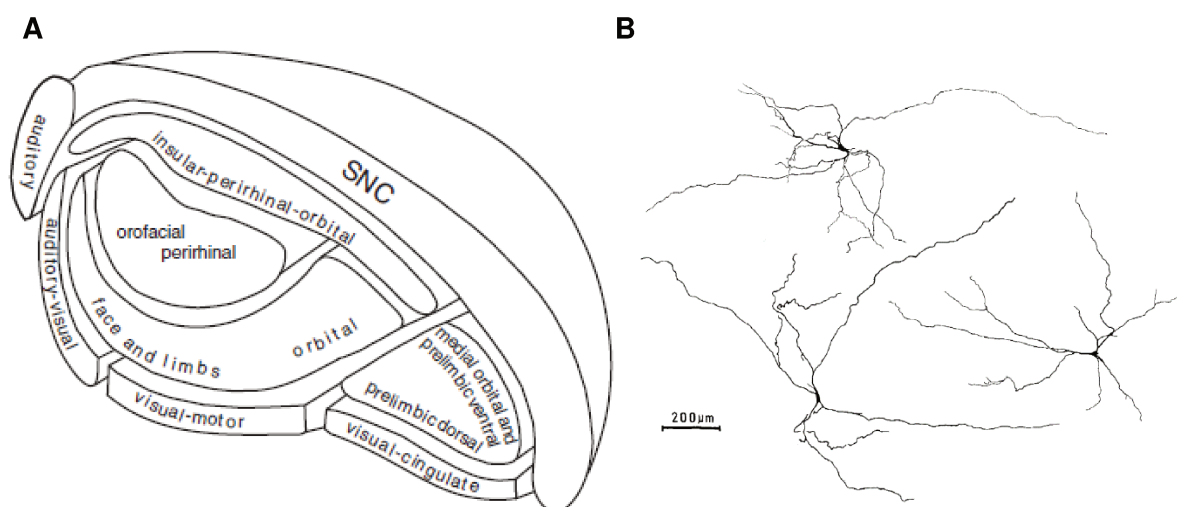


Figure 13 : A- Organisation en « pelures d'oignon » des projections striatales sur la SNr d'après Deniau & Chevalier, 1992. On distingue ainsi trois territoires fonctionnels. La région sensori-motrice occupe une place centrale, tandis que les territoires limbique et associatif occupent respectivement les parties dorsale/médiale et ventrale. B- Reconstruction de neurones nigraux, d'après Yelnik et al., 1987.

parallèles pour le traitement de l'information par les GB même si celle-ci n'est pas stricte. En effet, l'arborisation dendritique d'un neurone peut déborder sur le territoire fonctionnel adjacent (Deniau et al., 1996). Les neurones de la SNr projettent leur axone sur le thalamus, et plusieurs régions du mésencéphale et du pont notamment le colliculus supérieur, le noyau pédunculo-pontin, la substance grise périaqueducale, la formation réticulée et le noyau parabrachial (Gerfen et al., 1982 ; Deniau et al., 1978 ; Deniau & Chevalier 1992 ; Hopkins et al., 1976 ; Beitz, 1982 ; Marchand & Hagino., 1983 ; Schneider et al., 1986 ; Spann et al., 1991). Du point de vue électrophysiologique, les neurones de la SNr se caractérisent par des potentiels d'action de courte durée (~1ms) et une activité soutenue (~25-50Hz) et régulière (Gulley et al., 1999).

ii) Substance noire compacte :

La SNc contient la majorité des neurones dopaminergiques (DA) de la substance noire. Chez le rat, ces neurones sont au nombre de 7200 par hémisphère (Oorschot, 1996) et viennent coiffer la SNr sur sa face dorsale. L'organisation des dendrites des neurones DA dépend de leur position ; les neurones situés dans la partie dorsale sont locaux, tandis que les neurones de la partie ventrale pénètrent en profondeur dans la SNr (Tepper et al., 1987). Les afférences de la SNc sont principalement GABAergiques et proviennent du striatum (Smith & Bolam, 1990), du GPe (Bevan et al., 1996), et de la SNr (Bolam and Smith, 1990). Cependant, la SNc reçoit également des afférences glutamatergiques en provenance du NST (Kita & Kitai, 1987), ainsi que du cortex cérébral (Beckstead et al., 1979), du noyau parabrachial (Coizet et al., 2010) et du colliculus supérieur (Comoli et al., 2003). Des afférences sérotoninergiques du raphé dorsal (Vertes et al., 1991), et cholinergiques du noyau pédunculo-pontin (Clarke et al., 1987) ont également été décrites sur les neurones DA de la SNc. La cible de projection principale des neurones DA se fait sur le striatum (François et al., 1999), cette projection, aussi appelée voie nigro-striée est connue pour être la principale atteinte dans la maladie de Parkinson. Il faut cependant noter que les neurones DA de la SNc innervent l'ensemble des noyaux des GB (Takada et al., 1987 ; Anaya Martinez et al., 2006), ainsi que le thalamus, le cortex (Haber & Fudge, 1997) et des structures du tronc cérébral permettant leur modulation fine. Du point de vue électrophysiologique, les neurones de la SNc se caractérisent par des potentiels d'action de longue durée (2-3ms) et une activité lente (~1-4Hz) qui peut être en bouffée, rythmique oscillatoire à basse fréquence (<10Hz) ou irrégulière (Hyland et al., 2002).

2.4.4 Noyau Subthalamique :

i) Généralités :

Le noyau subthalamique (NST) est à la fois le plus petit (0.8mm^3 chez le rat) mais aussi l'unique noyau glutamatergique des GB (Smith & Parent, 1988). Au microscope, il se présente comme une structure fortement vascularisée et de forte densité cellulaire en forme d'amande venant se loger entre la *Zona Incerta* (ZI) et la face dorsale de la capsule interne. Chez le rat, on estime le nombre de neurones le composant à 13600 par hémisphère (Oorschot, 1996). Comme le striatum, le NST est une des deux structures d'entrée pour les informations au sein du réseau des GB. Il reçoit ainsi des projections excitatrices en provenance du cortex (Nambu et al., 2002) et de structures sous-corticales (Coizet et al., 2009 ; et pour revue: Redgrave & Coizet, 2007) mais aussi inhibitrices du GPe via la voie indirecte (Van Der Kooy et al., 1981). Ici aussi, on retrouve une organisation en territoires fonctionnels (**Figure 14A**). Ainsi la partie ventrale correspond à la région associative, la partie médiale représente la partie limbique et la partie dorsale correspond à la région sensori-motrice (Hamani et al., 2004).

ii) Cytologie :

Du point de vue cytologique, il semble que la population neuronale du NST soit homogène et constituée en grande majorité de neurones de projection utilisant le glutamate comme neurotransmetteur (Yelnik & Percheron, 1979 ; Smith & Parent, 1988). La présence d'interneurones inhibiteurs au sein du NST a longtemps été débattue, elle semble cependant aujourd'hui clairement démontrée chez l'Homme (Nisbet et al., 1996 ; Lévesque & Parent, 2005). La question de la présence d'interneurones au sein du NST chez le rat n'est cependant pas encore résolue. Le soma des neurones de projection du NST est fusiforme (**Figure 14B**) et de taille moyenne ($25 \times 10\mu\text{m}$; Koshimizu et al., 2013). De ce soma émergent 3 à 8 dendrites primaires fines ($\sim 1.0\mu\text{m}$) s'étendant en moyenne sur $500\mu\text{m}$ de façon ovoïde et orientées selon l'axe oblique du NST (**Figure 14B**; Yelnik & Percheron, 1979 ; Afsharpour, 1985). Une différence majeure entre les neurones du NST du rat et du primate se trouve dans l'extension de leur arborisation dendritique. Alors que chez le primate celle-ci est limitée aux frontières du NST (Rafols & Fox 1976), elle s'étend bien au-delà de ces limites chez le rat. On retrouve ainsi chez le rongeur des dendrites de neurones du NST dorsalement au sein de *Zona incerta* et ventralement au sein de la substance noire, de la capsule interne et de l'hypothalamus latéral (Afsharpour, 1985). Cette caractéristique particulière pourrait avoir des conséquences très importantes quant au rôle fonctionnel de ce noyau.

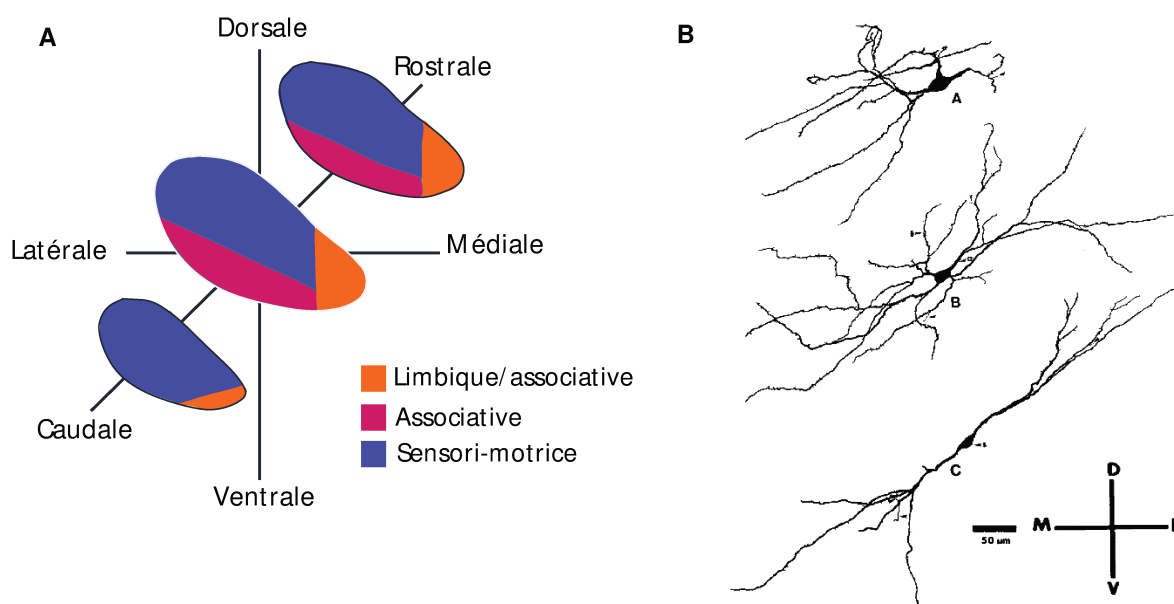


Figure 14 : A - Territoires fonctionnels du NST. adapté d'après Hamani et al. (2004) B – Morphologie de neurones du NST de rat d'après Afsharpour (1985).

iii) Connectivité :

- Afférences :

Le NST est à la fois une structure relai de la voie indirecte et une structure d'entrée à part entière au sein du réseau des GB via la voie hyperdirecte. Il reçoit de ce fait des afférences de très nombreuses structures et de différentes natures (**Figure 15**). Les afférences du NST ne sont pourtant pas distribuées de façon aléatoire sur ses neurones. On peut ainsi distinguer deux types de synapses en microscopie électronique : le premier forme des synapses asymétriques contactant généralement les parties distales des dendrites (Bevan & Bolam, 1995) ; le second forme des synapses symétriques contenant plusieurs zones actives et contactant les zones proximales des dendrites ainsi que le soma. Cette organisation correspond aux deux types d'afférences principales du NST: excitatrices pour la 1^{ère} provenant du cortex, et inhibitrices pour le 2nde et provenant du GPe (Chang et al., 1983).

o Afférences glutamatergiques :

Le NST reçoit des afférences glutamatergiques du cortex via la voie hyperdirecte (Kita et al., 1983 ; Rouzaire-Dubois & Scarnati, 1985) mais aussi du thalamus (Bevan et al., 1995), en particulier du noyau parafasciculaire, et de structures du mésencéphale et du pont comme le colliculus supérieur (Coizet et al., 2009), le noyau pédunculo-pontin (Bevan & Bolam, 1995) et la substance grise périaqueducule (Cavdar et al., 2018).

- **Afférence GABAergiques :**

Comme décrit précédemment, le NST est un noyau de la voie indirecte des GB, il reçoit de ce fait des afférences GABAergiques massives en provenance du GPe avec lequel il partage une connexion réciproque. On estime ainsi que 70 à 80% des neurones du GPe se projettent sur le NST. Cependant, il a été montré que seule une sous-population restreinte de neurones du NST recevait cette innervation du GPe (Baufreton et al., 2009). Cette population semble distribuée sur la totalité du NST (Smith et al., 1990 ; Bevan et al., 1997).

- **Efférences :**

Les axones des neurones excitateurs du NST sont myélinisés et projettent massivement sur le GPe (Kita & Kitai, 1987) et les structures de sortie des GB (SNr et GPi ; Van der Kooy & Hattori, 1980) mais également au niveau du striatum, du cortex (couches II, III et IV), des neurones dopaminergiques de la substance noire et plusieurs structures pontines comme le noyau pédonculopontin, le noyau parabrachial et la formation réticulée (Degos et al., 2008 ; Koshimizu et al., 2013) (**Figure 15**). Une caractéristique intéressante des axones des neurones du NST se trouve dans leur bifurcation à proximité du soma leur permettant de se projeter à la fois rostralement vers le GPe, le GPi, le striatum et le cortex et caudalement vers la SNr, la SNc et les régions pontines (Koshimizu et al., 2013 ; Smith et al., 1990 ; Van der Kooy & Hattori, 1980). La proportion de neurones projetant leur axone à la fois caudalement et rostralement est sujette à débat et dépendante de l'espèce étudiée. Chez le rat, il semble que la majorité des neurones du NST bifurquent selon l'axe rostro-caudal pour

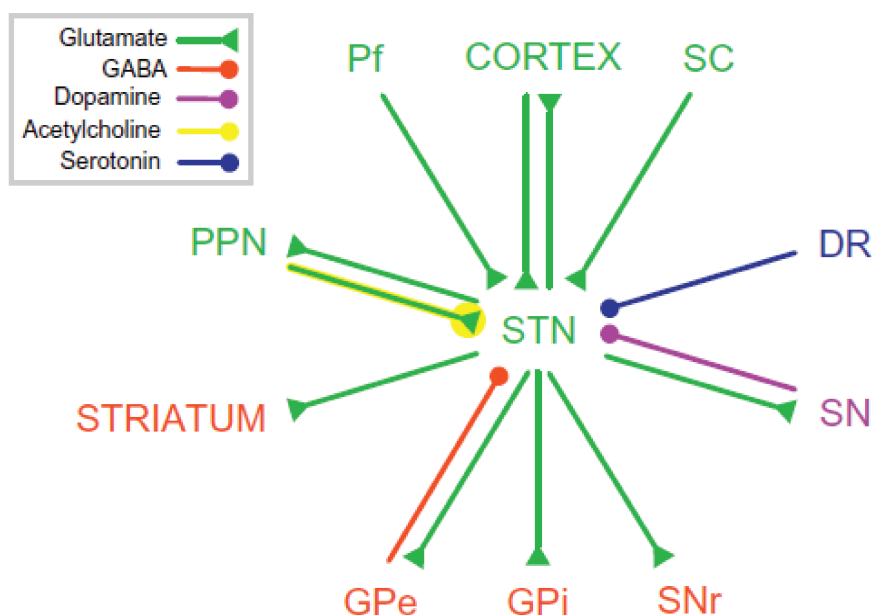


Figure 15 : Le noyau subthalamique est un véritable « hub » pour le transit d'informations en provenance de nombreuses structures. d'après *Handbook of the basal ganglia*, chap 14.

innervent des cibles multiples (Koshimizu et al., 2013) cependant les études chez le primate sont moins catégoriques (Yelnik & Percheron, 1979 ; Sato et al., 2000). Il est également intéressant de noter que les projections du NST sont topographiques. La projection nigrale conserve ainsi une topographie médio-latérale (**Fig. 14A**) tandis que la projection pallidale apparaît plus complexe.

iv) Propriétés électrophysiologiques :

Le NST est l'unique structure excitatrice du réseau des GB. Il utilise de ce fait le glutamate comme neurotransmetteur. Une particularité intéressante des neurones du NST est leur activité tonique à une fréquence relativement élevée de 5-40Hz (Nakanishi et al., 1987). Ils sont également capables de décharger selon 3 modes principaux : régulier, bursté ou irrégulier/mixte (Hassani et al., 1996 ; Kreiss et al., 1996 ; Hamani et al., 2004). Ces caractéristiques électrophysiologiques sont par ailleurs perturbées lors de l'altération du système dopaminergique, soulignant l'importance de la dopamine dans le fonctionnement normal du NST. Il a été ainsi démontré, dans des modèles animaux de la MP ainsi que chez des patients, qu'une augmentation du taux de décharge des neurones du NST accompagnait la perte de dopamine ainsi qu'un décalage en faveur du mode de décharge bursté (Hollerman & Grace, 1992 ; Magill et al., 2001). En condition d'anesthésie, les neurones du NST ont une activité spontanée plus faible et fortement corrélée avec l'activité corticale (Magill et al., 2001).

2.5 Fonctions des GB :

Le rôle des GB a longtemps été restreint au contrôle moteur, ces constatations viennent en grande partie de la littérature médicale où il a été observé que des lésions de différentes régions des GB, notamment du NST, entraînaient des mouvements anormaux de type hémiballisme (Whittier & Mettler, 1949). L'intérêt scientifique pour le réseau des GB s'est ensuite accentué dans les années 1990 lors de la démonstration de l'amélioration des symptômes moteurs liés à la MP par la lésion ou la stimulation électrique de certains de ses noyaux (Bergman et al., 1990 ; Benazzouz et al., 1993 ; Benabid et al., 1991 ; Limousin et al., 1998). Pourtant, le rôle du réseau des GB dépasse très largement le simple contrôle moteur. Sa position centrale dans le cerveau de nombreux vertébrés ne semble pas due au hasard, il s'agit en effet d'un emplacement stratégique pour recevoir et intégrer des signaux en provenance de nombreuses régions cérébrales. De part cette position centrale, ce réseau est également capable d'influer sur de nombreuses structures sous-corticales impliquées dans différents comportements nécessaires à l'organisme. Ce constat a amené plusieurs groupes à définir les GB comme un réseau permettant la sélection de l'action (Redgrave et al., 1999 ; Mink, 1996; Hikosaka et al., 2000). L'essor de la stimulation cérébrale profonde dans la prise

en charge de la MP a également permis de confirmer que le rôle des ganglions de la base ne se résumait pas à la commande motrice. En effet, de nombreux cas cliniques reportent des comportements anormaux suite à l'implantation d'une électrode dans le NST. Ces symptômes vont de l'hyper-agressivité (Sensi et al., 2004) et l'hypersexualité (Doshi & Bhargava, 2008) à l'euphorie (Krack et al., 2001) en passant par l'augmentation de l'appétit (Sauleau et al., 2009). Comme décrit en fin de chapitre 1, la stimulation cérébrale profonde est également capable de soulager les douleurs parkinsoniennes dans une grande majorité de cas (Dellapina et al., 2012). Elle semble même plus efficace que le traitement à la L-Dopa pour ce symptôme précis (Sürücü et al., 2013). Cependant les mécanismes par lesquels ces effets analgésiques sont obtenus restent aujourd'hui non élucidés. Il reste néanmoins que les GB, et dans ce cas précis le NST, semblent avoir un rôle important dans la transmission et l'intégration de l'influx nociceptif.

2.5.1 Nociception :

En accord avec la description faite précédemment d'un réseau permettant la « sélection de l'action », il paraît évident que le réseau des GB puisse recevoir et intégrer l'information douloureuse. Le but final de ce réseau étant d'opter pour l'action la plus appropriée dans le contexte donné. Dans le cas de la nociception, il s'agirait alors de réagir rapidement à la menace, réelle ou potentielle, en adaptant l'action en cours (par un comportement d'évitement, agressif ou de détresse par exemple). Ici encore, la position centrale du réseau des GB semble particulièrement adaptée pour intégrer puis agir sur les structures cérébrales permettant de mettre un terme à cette sensation douloureuse.

i) Etudes pionnières :

Quelques études pionnières ont décrit très tôt un rôle des GB dans la nociception. Un premier argument est la description d'une diminution de la sensibilité à la douleur suite à des injections intrapéritonéales d'apomorphine (un agoniste dopaminergique D_2 ; Denis & Melzack, 1983). Plus tard, d'autres groupes préciseront l'origine de cet effet en obtenant une analgésie similaire lors d'infusions d'apomorphine au sein du noyau accumbens chez le rat (Altier & Stewart 1993, 1999) ainsi qu'au sein du striatum chez le singe (Lineberry & Vierck, 1975 ; Lin et al., 1981). Des effets analgésiques semblables sont obtenus si l'on élève le niveau de dopamine intra-striatal par stimulation électrique de la substance noire (Barnes et al., 1979), plaçant de fait le réseau des GB au centre de l'intégration du message nociceptif. Il est intéressant de noter qu'à la même époque les premières constatations de symptômes douloureux chez des patients atteints de la MP apparaissaient (Snider et al., 1976) encourageant une recherche plus approfondie du rôle des GB dans la nociception.

i) Etudes électrophysiologiques :

Il existe également des arguments électrophysiologiques démontrant clairement un rôle des GB dans la nociception. Stephen Barasi a été l'un des pionniers, en réalisant des enregistrements électrophysiologiques de réponses nociceptives au sein de la substance noire (Barasi, 1979 ; Pay & Barasi, 1982). Dans ces études, les auteurs reportent ainsi que 50% des neurones de la substance noire (SNc et SNr) sont capables de répondre à la présentation d'un stimulus douloureux (chaleur) et possèdent un champ récepteur étendu. Ces réponses nociceptives se caractérisent par : **1)** l'augmentation du taux de décharge de neurones dans 62% des cas ; **2)** une réduction du taux de décharge dans 32% des cas ; et **3)** une augmentation suivie immédiatement d'une diminution du taux de décharge dans 6% des cas. Plus tard, d'autres études (Lin et al., 1983 ; Carelli & West, 1991) démontreront que les neurones du striatum sont également capables de répondre à des stimulations tactiles et que ces neurones possèdent eux aussi un champ récepteur large (absence de somatotopie stricte) ainsi qu'une capacité limitée à encoder l'intensité du stimulus (Chudler et al., 1993). Il semble également que ces neurones puissent répondre à d'autres modalités sensorielles, notamment à des stimulations nociceptives (Chudler et al., 1993), auditives et olfactives (Romanski et al., 1993) appuyant l'hypothèse d'une convergence des informations sensorielles au sein du striatum. Un paradoxe apparaît alors si l'on considère que ces neurones striataux « *polymodaux* » aux champs récepteurs larges reçoivent une innervation majeure du cortex somatosensoriel primaire (S1) (Flaherty and Graybiel 1991, 1993) qui, lui, possède des champs récepteurs fins (somatotopie stricte) et un encodage très précis des intensités de stimulation (Chudler et al., 1990). Deux hypothèses se dessinent pouvant expliquer ce phénomène : **1)** Il existe une convergence importante des informations sensorielles en provenance de S1 et transmises au striatum, entraînant une perte dans la précision de ces informations ; ou **2)** Les informations sensorielles transmises au striatum ne proviennent pas (ou minoritairement) de S1. Dans ce cas, elles pourraient provenir du cortex somatosensoriel secondaire (S2) dont les neurones sont connus pour posséder des champs récepteurs plus grossiers (Dong et al., 1989 ; 1994) ou directement du thalamus ou de structures sensori-motrices sous-corticales.

Le globus pallidus reçoit et traite également des informations nociceptives. Ses neurones répondent de façon similaire aux stimuli nociceptifs à ceux du striatum et présentent des champs récepteurs larges et une capacité d'encodage limitée (Bernard et al., 1992). Des réponses phasiques ont également été enregistrées au sein des neurones dopaminergiques de la SNc et de la VTA (Coizet et al., 2006, 2010 ; Brischoux et al., 2009 ; Ungless et al., 2004). Ces réponses phasiques se présentent majoritairement sous la forme d'une diminution du taux de décharge des neurones dopaminergiques même si des cas d'augmentation transitoire du

taux de décharge sont également reportés (Coizet et al., 2006 ; Brischoux et al., 2009). L'information nociceptive serait relayée aux neurones dopaminergique de la SNc via le noyau parabrachial (Coizet et al., 2010) et modulée par le colliculus supérieur (Coizet et al., 2006).

Il n'existe que peu d'informations quant à la présence de neurones répondant à des stimulations nociceptives au sein du NST. Une étude effectuée chez le rat évoque cependant une augmentation du signal Fos (un marqueur d'activité neuronale) suite à des stimulations nociceptives mécaniques au niveau du noyau sous-thalamique ipsilatéral. De manière intéressante, cette augmentation était exacerbée chez des rats dont la SNc avait été lésée à la 6-hydroxydopamine comparativement à leurs contrôles associés (Heise et al., 2008). Dans une seconde étude effectuée chez des patients Parkinsoniens, les auteurs ont testé différentes modalités douloureuses (mécanique et chaleur) lors d'enregistrements électrophysiologiques du NST. Ils reportent une augmentation de l'activité basale des neurones du NST consécutivement aux stimulations nociceptives (Belasen et al. 2016).

A la lumière de toutes ces informations, le réseau des GB apparaît comme primordial pour le traitement de l'information nociceptive. Ainsi, et comme cela a été discuté en chapitre 1, les patients atteints de la MP présentent de nombreuses sensations douloureuses d'origine inconnue et leurs seuils à la douleur sont modifiés. Il paraît dès lors légitime de se demander si le traitement de l'influx nociceptif au niveau des GB est altéré par la MP. Il a ainsi été reporté que des rats ayant subi une dénervation dopaminergique à la 6-OHDA présentaient une hypersensibilité à des stimulations mécaniques (Takeda et al., 2005 ; Saadé et al., 1997), thermiques (Saadé et al., 1997 ; Lin et al., 1983, 1985) et électriques (Charles et al., 2018 ; Carey 1986). Cependant, il est surprenant de constater qu'aucune donnée électrophysiologique n'existe quant à l'intégration du message nociceptif au niveau des ganglions de la base dans le contexte Parkinsonien.

2.6 Boucles sous-corticales :

Nous venons de voir, au travers des différents modèles des ganglions de la base présentés jusqu'à présent, que l'influence corticale est primordiale pour le bon fonctionnement de ce réseau. Cependant, de plus en plus d'études proposent une influence non-négligeable de structures sous-corticales sur l'activité des GB. Ces structures sous-corticales possèdent, pour une grande partie d'entre-elles, la capacité de guider le mouvement de par leur double fonction motrice et sensorielle (on parlera de structures sous-corticales sensori-motrices). De façon intéressante, il semble que ces structures partagent elles aussi une connexion en boucle avec le réseau des ganglions de la base et le thalamus. De telles connexions en boucle entre des structures sous-corticales et les ganglions de la base permettraient ainsi de court-circuiter l'influence corticale dans le but d'influer rapidement sur les structures de sortie des GB et *in fine* sur le comportement. On distingue ainsi deux types de boucles sous-corticales :

2.6.1 Boucles sous-cortico-thalamo-sous-corticales :

Ce premier type de boucle sous-corticale permet de lier des structures profondes sensori-motrices au réseau des GB via un relai préalable sur le thalamus (pour revue : McHaffie et al., 2005). La différence majeure avec les boucles cortico-sous-corticales se retrouve dans la position du thalamus. Le relai thalamique se trouve du côté « sortie » dans le cas des boucles corticales classiques, alors qu'il fait office de relai « d'entrée » dans le cas des boucles sous-corticales (**Figure 16**). Dans ces dernières, le thalamus va donc relayer les informations au niveau des structures d'entrée classiques des GB (Striatum et NST) puis ces informations seront adressées en retour par les voies de sortie des GB aux structures les ayant initiées (May & Hall, 1984 ; Deniau & Chevalier, 1992 ; Marchand et al., 1983 ; Schneider, 1986 ; Spann et al., 1991 ; Yasui et al., 1991). L'existence de telles boucles a été soulevée par des expériences de traçages neuro-anatomiques pour les colliculi supérieur (CS) et inférieur (Krout et al., 2001 ; Krout et al., 2002), le noyau pédunculopontin (PPN) (Erro et al., 1999), le noyau périaqueducal gris (PAG) (Krout & Loewy, 2000), le noyau cunéiforme (Krout et al., 2002) et le noyau parabrachial (PBN) (Krout & Loewy, 2000).

La boucle que forme le colliculus supérieur avec les GB est certainement la plus étudiée et la mieux comprise aujourd'hui (Wurtz & Albano, 1980 ; May & Hall, 1984 ; Deniau & Chevalier, 1992). C'est à travers cette connexion complexe transmettant des informations visuelles au réseau des GB que ces derniers influent sur les mécanismes moteurs du tronc

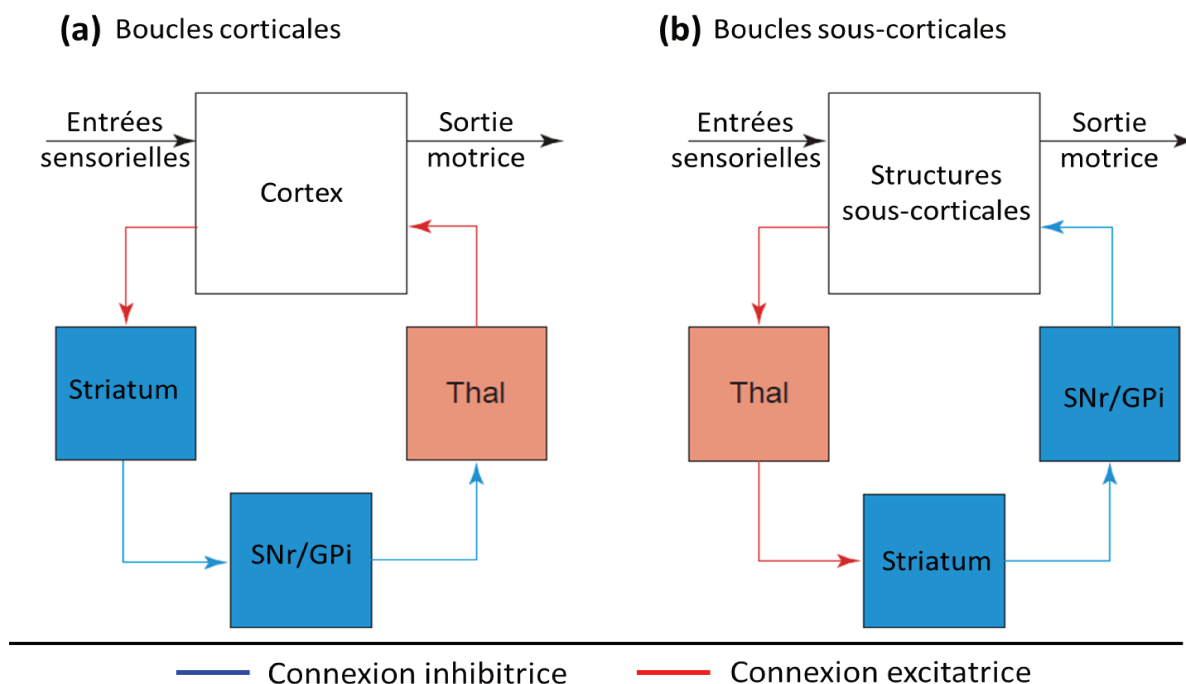


Figure 16 : (a) – Boucles sensori-motrices corticales ; (b) – Boucles sensori-motrices sous-corticales.

Le relai thalamique se trouve sur la voie de retour dans les boucles corticales (a) alors qu'il se trouve sur la voie d'entrée dans les boucles sous-corticales (b). SNr : Substance Noire réticulée ; GPi : Globus Pallidus interne ; Thal : Thalamus.

Illustration adaptée de McHaffie et al., 2005.

cérébral permettant la réalisation de saccades oculaires (Hikosaka et al., 2000). L'influence des boucles connectant les autres structures sous-corticales aux GB demeure cependant évasive. Pourtant ses boucles revêtent un intérêt particulier, notamment dans des contextes physiopathologiques affectant le fonctionnement des GB. Il paraît en effet légitime de se questionner sur l'impact d'une dégénération dopaminergique sur le fonctionnement de ce réseau sous-cortical.

2.6.2 Boucles sous-corticales « *hyperdirectes* » :

A l'image de la connexion « hyperdirecte » qui lie le cortex au NST dans le schéma classique des GB, un ensemble de données de la littérature tend aujourd'hui vers l'hypothèse de l'existence de boucles sous-corticales encore non décrites que nous avons nommées boucles « *hyperdirectes* » sous-corticales. Il a en effet été démontré par des expériences d'anatomie et d'électrophysiologie chez le rat que le noyau pédunculo-pontin (PPN) et le colliculus supérieur (CS) se projetaient directement sur les neurones du NST, sans relai préalable sur le thalamus (Jackson & Crossman, 1983 ; Tokuno et al., 1994 ; Mena-Segovia et al., 2004 ; Coizet et al., 2009). De plus, le PPN et le CS sont également connus pour recevoir une projection massive des voies de sortie des GB (Hopkins et al., 1976 ; Spann et al., 1991) soulevant la possibilité d'une architecture en boucle entre le CS/PPN-NST-SNr. L'existence de telles boucles n'est cependant pas clairement établie. En effet, les projections du PPN/CS vers le NST sont bien décrites (Jackson & Crossman, 1983 ; Tokuno et al., 1994 ; Coizet et al., 2009), et des travaux en cours dans l'équipe visent à démontrer la co-localisation des terminaisons en provenance de la SNr et les corps cellulaires des neurones du PPN/CS se projetant sur le NST. Cette proximité est indispensable pour la présence de telles boucles anatomiques.

2.6.3 Boucles sous-corticales *hyperdirectes* pathologiques ?

Nous avons vu précédemment que l'activité électrophysiologique du NST et des structures de sortie des GB était affectée dans le cadre de la MP. En effet, une des hypothèses physiopathologiques de la MP propose que la dégénérescence des neurones dopaminergiques entraîne une augmentation du taux de décharge de structures comme le NST et la SNr (Bergman et al., 1994 ; Albin et al., 1995). Cette hypothèse est couramment dénommée sous le nom de « *rate model* » dans la communauté scientifique. D'après ce « *rate model* », l'activité accrue des structures de sortie des GB entraînerait une augmentation de l'inhibition qu'elles exercent sur leurs cibles de projection. L'altération du fonctionnement de ces structures sous-corticales paraît dès lors envisageable et pourrait entraîner l'apparition de nombreux symptômes (**Figure 17**).

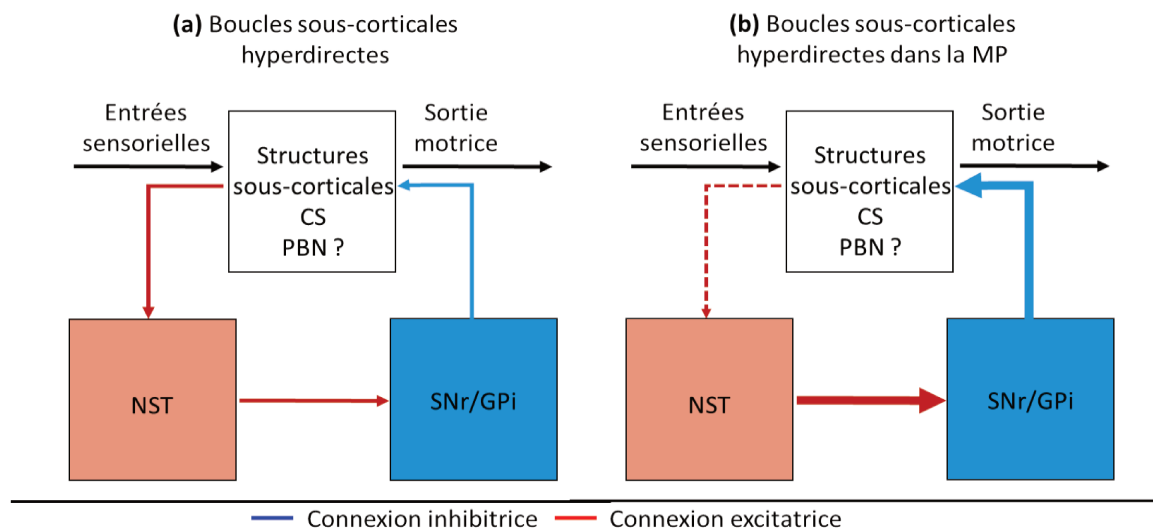


Figure 17 : (a) – Boucles sensori-motrices sous-corticales hyperdirectes; (b) – Boucles sensori-motrices sous-corticales hyperdirectes dans le contexte pathologique de la MP, notez l'augmentation du tonus inhibiteur de la SNr sur ses cibles. CS: Colliculus Supérieur ; PBN : Noyau Parabrachial.

Cette hypothèse se base sur une étude réalisée précédemment dans l'équipe (Rolland et al., 2013). Dans ce travail, la capacité des neurones du CS et du NST à répondre à la présentation de flashes lumineux dans des modèles de rats Parkinsoniens a été testée à l'aide d'enregistrements électrophysiologiques *in vivo* chez le rat anesthésié (**Figure 18**).

Dans ces conditions d'anesthésie, les neurones des couches intermédiaires et profondes du CS, se projetant vers le NST (Coizet et al., 2009) et recevant une projection directe de la SNr (Bentivoglio et al., 1979; Chevalier et al., 1981; Faull & Mehler, 1976; Hopkins & Niessen, 1976) ne répondent pas à la présentation des stimuli visuels. Cependant, cet effet de l'anesthésie peut être contrecarré par l'injection locale d'un antagoniste GABA_A, la bicuculline (Katsuta & Isa, 2003). Les réponses visuelles apparaissent alors exacerbées dans le CS de rats ayant subi une lésion dopaminergique partielle et totale de la SNc par injection de 6-OHDA. Ces réponses étant à la fois, plus rapides, de plus longue durée et de plus grande amplitude chez les animaux lésés que chez les animaux contrôles (**Figure 18**). Dans le NST, les réponses visuelles étaient également augmentées dans les groupes de rats parkinsoniens comparés au groupe contrôle. Replacés dans le contexte du « *rate model* », ces résultats suggèrent une adaptation des neurones du CS au cadre pathologique, probablement dans le but de compenser l'influence inhibitrice accrue de la SNr sur cette structure et permettant de maintenir son fonctionnement normal.

La réduction du tonus inhibiteur pathologique en provenance de la SNr induite par la bicuculline a contribué à révéler des phénomènes de neuroplasticité, exprimés par un impressionnant rebond sensoriel dans les neurones du CS. Cette notion de plasticité ou de

compensation neuronale pourrait s'étendre à d'autres structures cérébrales en lien avec les voies de sortie des GB tels que le noyau parabrachial ou la substance grise périaqueducale.

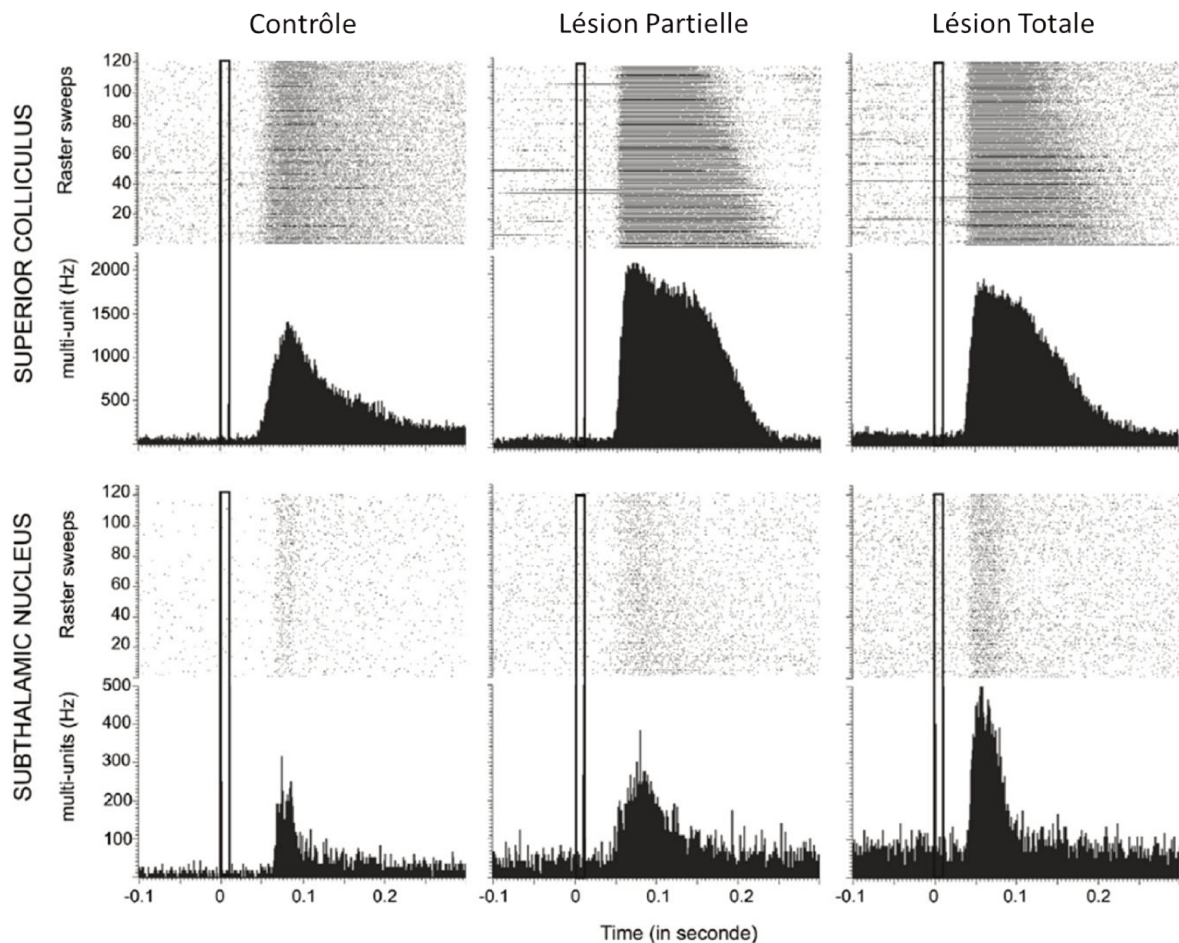


Figure 18 : Effets d'une dénervation dopaminergique unilatérale sur les réponses visuelles du colliculus supérieur et du noyau subthalamique. Histogrammes centrés sur le stimulus (PSTHs) et rasters représentant des exemples individuels de réponses visuelles enregistrées dans le colliculus supérieur et le noyau subthalamique en réponse à la présentation de stimuli visuels (ligne double) de rats anesthésiés contrôle (a) ; avec une lésion dopaminergique partielle (b) ; avec une lésion dopaminergique totale (c). D'après Rolland et al., 2013.

2.6.4 Vers une boucle nociceptive sous-corticale hyperdirecte ?

L'existence d'un territoire sensori-moteur au sein du NST est aujourd'hui bien établie, il reste cependant peu étudié. Nous venons de voir que le CS transmettait des informations visuelles au NST et que celles-ci étaient exacerbées dans le contexte parkinsonien (Coizet et al. 2009 ; Rolland et al., 2013). Il paraît donc possible que d'autres structures du mésencéphale et du pont comme le PAG et le PBN soient connectées de façon similaire au NST. Ces deux structures ont un rôle clé dans la nociception, les comportements de défense et plus généralement dans l'homéostasie générale de l'organisme (Saper, 2016). Alors qu'un lien anatomique et fonctionnel a d'ores et déjà été établi entre le PBN et les GB via les neurones dopaminergiques de la SNc (Coizet et al., 2010), il n'existe à ce jour aucune

connexion directe connue entre le PBN/PAG et le NST. D'un point de vue fonctionnel, une connexion entre le PBN, le NST et la SNr permettrait la transmission d'informations nociceptives au réseau des GB et leur intégration comportementale avec une latence minimale. En effet, le NST est positionné stratégiquement pour influencer sur les structures de sortie des GB, cet afflux nociceptif permettrait alors d'interrompre très rapidement les actions aux conséquences négatives (dont la douleur est un exemple évident) via les neurones inhibiteurs de la SNr, permettant finalement un réajustement du comportement (Jahanshahi et al., 2015). L'amélioration de la symptomatologie douloureuse que produit la stimulation cérébrale profonde du NST (Sürücü et al., 2013) est également un argument fort en faveur d'un rôle du NST dans le traitement de l'information douloureuse et de son altération dans le contexte Parkinsonien. Le prochain chapitre sera donc dédié à la description du noyau parabrachial puisqu'il apparaît comme le candidat idéal, à l'exemple du CS pour les informations visuelles, pour relayer les informations nociceptives au NST.

3 – Noyau parabrachial :

3.1 Généralités :

Le chapitre précédent nous a permis de décrire l'anatomie et les fonctions complexes du réseau des ganglions de la base. Plus particulièrement, nous avons vu que ce réseau jouait un rôle important dans le traitement de l'information nociceptive, et mis en relief l'existence de boucles sous-corticales reliant les GB à des structures sensori-motrices sous-corticales. Peu d'informations sont disponibles dans la littérature concernant la/les structure/s capables de transmettre des informations nociceptives aux GB. Le noyau parabrachial (PBN), grâce à ses connexions privilégiées avec ce réseau et la corne dorsale de la moelle épinière, représente cependant le candidat idéal. Dans ce chapitre nous décrivons succinctement cette structure pontine et ses fonctions, en insistant sur son rôle dans la nociception.

3.2 Anatomie :

Le noyau parabrachial (PBN) est une structure cérébrale principalement glutamatergique située dans la partie dorso-latérale du pont, où il entoure le pédoncule cérébelleux supérieur (**Figure 19A**), un large faisceau de fibres provenant des noyaux profonds du cervelet (Benarroch, 2016). Sur le plan anatomique, le PBN est composé de trois sous-divisions majeures : la partie latérale (IPBN), la partie médiale (mPBN) et les noyaux de Kölliker-Fuse. Ces parties distinctes se divisent elles-mêmes en plusieurs sous-noyaux. Chez le rat, le IPBN se divise en 8 sous-noyaux : interne (il), dorsal (dl), supérieur (sl), crescent (lc), extrême (exl), externe (el), central (cl) et ventral (vl) ; le mPBN se divise en 2 sous-noyaux :

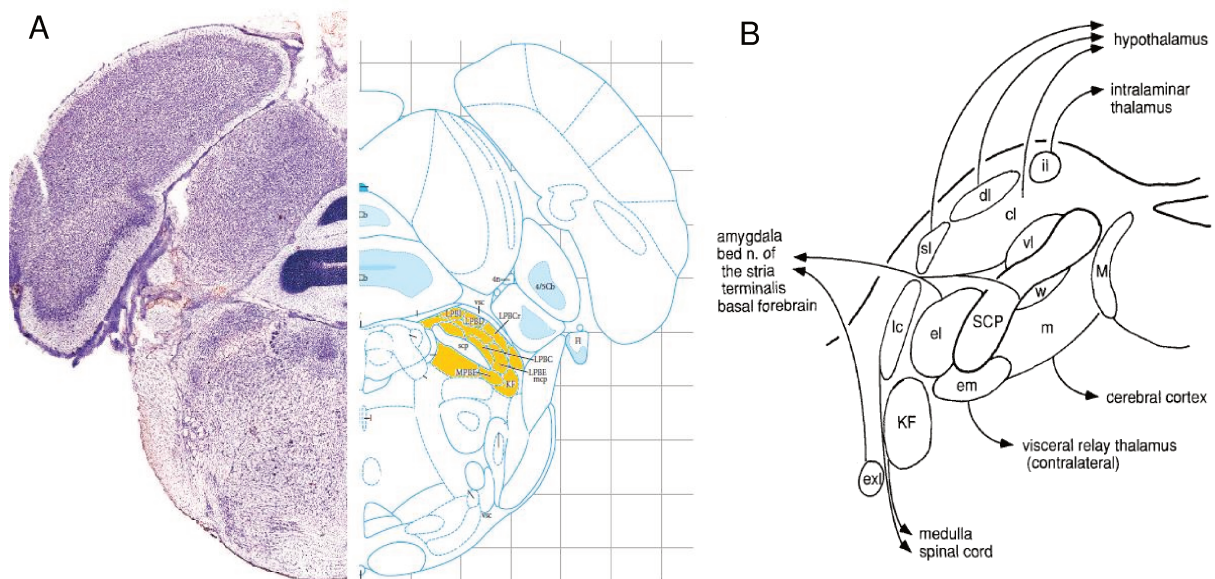


Figure 19 : Anatomie du noyau parabrachial. A - Localisation du PBN d'après l'atlas de Paxinos & Watson. B - Sous-divisions du PBN et leurs efférences : interne (il), dorsal (dl), supérieur (sl), crescent (lc), extrême (exl), externe (el), central (cl) et ventral (vl), externe (em), médian (m), kolliker-fuse (KF), pédoncule cérébelleux supérieur (scp).

externe (em) et médian (m) (**Figure 19B**). L'ensemble de ces sous-noyaux possèdent des marqueurs neurochimiques et une connectivité propres (Fulwiler & Saper, 1984).

3.3 Cytologie :

Du point de vue cytologique, le PBN est un noyau dense dont les neurones, glutamatergiques, possèdent une taille moyenne comprise entre 8-19 μ m (**Figure 20**). On le divise anatomiquement en 10 sous-noyaux (**Figure 19B**), chacun possédant une connectivité et des marqueurs neurochimiques distincts (Fulwiler & Saper, 1984). Par exemple, le peptide « *calcitonin gene related peptide* » (CGRP) qui est un marqueur des voies sensorielles viscérales, est retrouvé en abondance dans les neurones des noyaux externes du mPBN et du IPBN (De Lacalle & Saper, 2000). Ces neurones à CGRP sont connus pour relayer l'information nociceptive et viscérale au noyau central de l'amygdale (CeA) ipsilatérale, ainsi qu'au noyau parvicellulaire du thalamus controlatéral (Palmiter, 2018). Il a de plus été démontré que certains neurones du PBN positifs pour le peptide CGRP, co-exprimaient un autre peptide le « Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide » (PACAP). Ces neurones sont essentiels dans la nociception et sont impliqués dans les phénomènes d'hypersensibilité à la douleur (Missig et al., 2014). D'autres neurones du PBN positifs pour la cholécystokinine, sont sensibles à des modifications de la glycémie. On les retrouve également dans les noyaux latéraux (externe médian et latéral) du PBN, connus pour se projeter sur le noyau ventromédial de l'hypothalamus où ils jouent un rôle important dans le contrôle de la glycémie (Garfield et al., 2014).

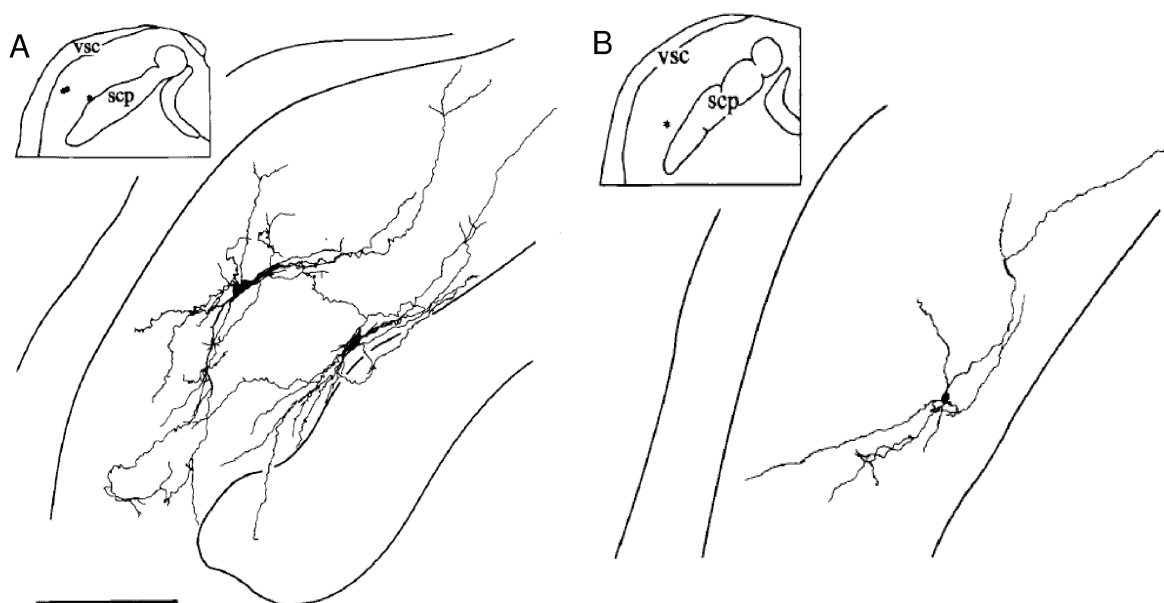


Figure 20 : Morphologie des neurones du PBN chez le rat. Les neurones du PBN s'orientent selon l'axe de pédoncule cérébelleux supérieur, leurs dendrites s'étendent largement aux sous-noyaux du PBN adjacents. Barre d'échelle : 200 μ m, d'après Herbert et al., 1995.

3.4 Afférences :

Le PBN reçoit des afférences de deux sources principales, le noyau du tractus solitaire (NTS), et les couches I-II-V et X de la corne dorsale de la moelle épinière (Hylden et al., 1989 ; Craig, 1995 ; Klop et al., 2005). Ces afférences relaient des informations viscérales et gustatives pour la première et thermiques ; nociceptives, viscérales et musculaires pour la seconde. En plus de ces deux afférences principales, le PBN reçoit également des informations de nombreuses autres structures du mésencéphale.

3.4.1 En provenance du NTS :

Le NTS est un noyau crucial dans le relai des informations gustatives et viscérales en provenance des nerfs faciaux, glossopharyngés et vagues, au reste du cerveau. La partie rostrale du NTS relaie des informations gustatives (Norgren et al., 1973, 1974, 1976) aux régions médiales du PBN (Saper, 1995). Cette connexion particulière entre le NTS et le PBN (**Figure 21B**) explique le rôle important du PBN dans les comportements de régulation de consommation de nourriture et de sodium (Benarroch, 2016 ; Garfield et al., 2014 ; Wu et al., 2012). La partie caudale du NTS envoie des informations viscérales au PBN, particulièrement en relation avec les activités cardiovasculaire, gastro-intestinale et respiratoire (Fulwiler & Saper, 1984 ; Allen et al., 1996 ; 1997).

3.4.2 En provenance de la moelle épinière :

Les neurones de la couche I-II de la corne dorsale de la moelle épinière (**Figure 21A**) jouent un rôle essentiel dans la transmission d'informations nociceptives et thermiques aux structures supra-spinales (Willis & Coggeshall, 2004). En effet, les signaux nociceptifs et thermiques périphériques acheminés via les fibres sensorielles (fibres A δ et C), se terminent dans la corne dorsale où les neurones de second ordre envoient et relaient ces informations à des structures supra-spinales (Willis & Coggeshall, 2004 ; Todd, 2010). Bien que la voie nociceptive la plus connue connecte la moelle épinière au noyau ventral postéromédial du thalamus (VPM ; voie spino-thalamique ; Zhang & Craig, 1996 ; Craig et al., 1995), on estime que la projection entre la moelle épinière et le PBN est 4x plus importante en nombre (Klop et al., 2005). Cette connexion spino-parabrachiale (**Figure 21B**) fait ainsi du PBN le principal destinataire supra-spinal de l'information nociceptive (Cechetto et al., 1985 ; Bernard & Besson, 1990 ; Todd, 2010). On estime, chez la souris, que >95% des neurones de projections de la couche I de la corne dorsale contactent le PBN (Al-Khater & Todd, 2009).

3.4.3 En provenance du cortex :

Le PBN établit des connexions réciproques avec plusieurs régions corticales. Ceci inclus le cortex cingulaire antérieur, le cortex préfrontal, et l'insula (Saper, 1982).

3.4.4 En provenance de structures sous-corticales :

Le PBN reçoit de nombreuses afférences en provenance de l'hypothalamus (noyaux préoptique, infundibulaire, arqué et paraventriculaire). Il reçoit également une projection en provenance du noyau central de l'amygdale (Benarroch, 2016). Comme décrit en fin de chapitre précédent, le PBN est placé sous le contrôle des GB, au travers d'une connexion directe avec la substance noire réticulée (Schneider, 1986).

Ainsi, le PBN collecte des signaux nociceptifs cutanés (mécaniques et thermiques) et profonds (musculaires, articulaires et viscéraux). Il est important de signaler que ces afférences convergent largement au niveau du PBN, créant ainsi un substrat anatomique pour l'intégration des informations nociceptives et thermiques avec les informations gustatives, cardio-respiratoires et viscérales (Benarroch, 2016 ; Herbert et al., 1995).

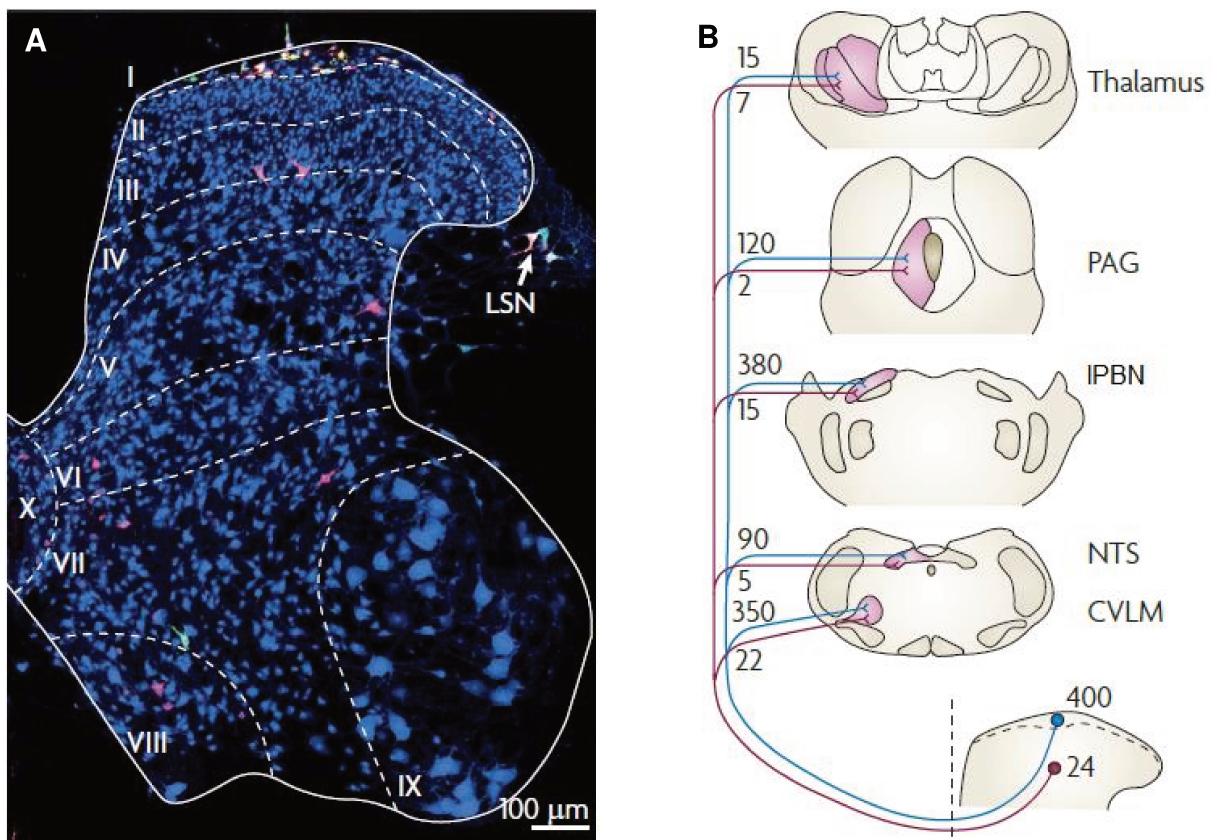


Figure 21 : A. Corne dorsale de moelle épinière de rat vue en microscopie à fluorescence (Bleu : NeuN ; Vert : Neurones se projetant sur le IPBN ; Rouge : NPK1 B. Voie spino-parabrachiale. Image adaptée de Todd, 2010.

3.5 Efférences :

Les projections du PBN sont complexes et nombreuses. Il relaie les informations viscérales, nociceptives et thermiques qu'il reçoit, à de nombreuses structures du tronc cérébral (hypothalamus, amygdale, thalamus, noyau périaqueducal gris) ainsi qu'au cortex. Approximativement 50 à 70% des neurones de la voie spino-parabrachiale se projettent sur l'amygdale ou l'hypothalamus (Gauriau & Bernard, 2010). Les principales projections thalamiques s'établissent sur le noyau ventral postérieur latéral (VPL), qui fournit des informations gustatives et viscérales à l'insula postérieure (Cecchetto & Saper, 1987 ; Bianchi et al., 1998) et le noyau ventral postérieur médian (VPM), qui reçoit des connexions en provenance de la couche I-II de la moelle épinière et fournit des informations nociceptives et thermiques à l'insula (Cecchetto & Saper, 1987). Le PBN émet également des efférences sur le noyau périaqueducal gris (PAG), dont le rôle est d'organiser les comportements de défense et de moduler la nociception grâce à ses projections descendantes sur la moelle épinière (Al-Khater & Todd, 2009). Les neurones du PBN émettent également des projections sur la corne dorsale de la moelle épinière. Cette projection semble faire partie des systèmes modulateurs descendants de la nociception, elle exerce un rôle anti-nociceptif sur les neurones spinaux (Chiang et al., 1994 ; Yoshida et al., 1997). Il est également intéressant de noter que le PBN se projette sur les neurones dopaminergiques de la substance noire compacte, où il transmet l'information nociceptive créant un second lien avec le réseau des GB (Coizet et al., 2010).

3.6 Fonctions :

Le noyau parabrachial a, jusqu'au début des années 1980, été retenu dans la littérature sous l'appellation de « *structure gustative pontine* » (Norgren et al., 1973 ; Weiss et al., 2014). Ses fonctions dépassent pourtant largement ce seul rôle et s'étendent du contrôle de l'appétit (Carter et al., 2013 ; Campos et al., 2016), au contrôle cardio-vasculaire (Chamberlin et al., 1992) et respiratoire, ainsi qu'à la thermorégulation. En addition, ses rôles majeurs dans le contrôle de l'éveil (Fuller et al., 2011 ; Kaur et al., 2013 ; Arima et al., 2019), la mise en place de la réponse autonome suite à des stimulations douloureuses (Allen & Pronych, 1997 ; Allen et al., 1996) et la nociception (Bernard et al., 1989, 1994 ; Bester et al., 1995), font du PBN un véritable chef d'orchestre dans le maintien de l'homéostasie générale de l'organisme (Saper, 2016 ; Palmiter, 2018).

3.6.1 Nociception :

Comme décrit précédemment, le noyau parabrachial est le destinataire principal des neurones nociceptifs des couches I-II de la corne dorsale de la moelle épinière. On estime chez le chat, que 6000 neurones spinaux se projettent sur le PBN. En comparaison, la projection spinothalamique est estimée à seulement 1500 neurones (Klop et al., 2005). Les

neurones nociceptifs spinaux se projettent bilatéralement sur la partie latérale du PBN, avec une prédominance pour le PBN controlatéral (**Figure 21B** ; Spike et al., 2003). La partie latérale du PBN est particulièrement riche en neurones possédant le marqueur neurochimique CGRP retrouvé dans les voies nociceptives viscérales (pour revue : Palmiter, 2018). Au travers de leurs connexions avec des structures limbiques comme l'amygdale, l'hypothalamus et l'insula, les neurones à CGRP du PBN se positionnent comme des pivots dans la dimension émotionnelle de la douleur, plutôt que dans son aspect somatotopique (Bernard & Besson, 1990 ; Bester et al., 1995 ; Hunt & Mantyh, 2001, Yasui et al., 1989). Il a d'ailleurs été démontré que les neurones du IPBN exprimant le peptide CGRP étaient essentiels dans le développement des comportements d'aversion (Han et al., 2015 ; Chen et al., 2018) et de défense (Barik et al., 2018), mais ne possèdent qu'un rôle limité dans la localisation précise de la douleur du fait de leur champ récepteur très large (Gauriau & Bernard, 2010).

Dans notre contexte, il est également intéressant de souligner que les neurones de la voie spino-parabrachiale sont impliqués dans le développement de différents types de douleurs chroniques. En particulier, il semble que les neurones du noyau parabrachial soient hyperactifs dans des modèles de douleur trigéminal (Okada et al., 2019), de démangeaisons chroniques (Mu et al., 2017) et de douleurs arthrosiques chroniques (Matsumoto et al., 1996). Enfin, il apparaît également que les neurones du PBN aient un rôle dans l'hyperalgésie induite par le stress chronique (Missig et al., 2014).

3.6.2 Rôle de la dopamine au sein du PBN :

Le noyau parabrachial est un noyau majoritairement glutamatergique. Il existe cependant une petite population de neurones dopaminergiques, localisée dans le noyau central latéral (cl) du IPBN, latéralement au locus cœruleus (Vincent SR, 1988 ; Kitahama et al., 1996). Le rôle et l'état fonctionnel de ces neurones dans la MP ne sont pas connus. Plusieurs études ont également démontré la présence de récepteurs à la dopamine à la surface des neurones du mPBN et du IPBN. Les neurones du PBN co-expriment les récepteurs D₁ et D₂ (Maltais et al., 2000). Il semble que la dopamine ait un rôle inhibiteur au niveau du PBN, en modulant négativement l'activité glutamatergique induite par les récepteurs AMPA (Chen et al., 1999, 2004). Le rôle de la dopamine au sein du PBN reste cependant très peu étudié.

3.7 Changements neurochimiques dans les états douloureux :

On définit généralement la douleur comme une sensation et une expérience émotionnelle désagréable. La douleur chronique se définit, elle, comme une douleur qui se prolonge dans le temps (> 3mois ; Kato et al., 2018). Du point de vue neurobiologique, il est tout à fait envisageable que cette longue période permette la mise à place de nombreux

phénomènes neuroplastiques, ainsi que leur maturation. Cette hypothèse est aujourd'hui généralement admise depuis l'observation d'un ensemble de modifications d'ordre neurochimiques au sein des neurones des voies sensorielles du cerveau, comme de la moelle épinière dans le contexte des douleurs chroniques (pour revue : Hunt & Mantyh, 2001). Pourtant, toutes les douleurs chroniques ne provoquent pas le même type de neuroplasticité. Il a ainsi été reporté dans des modèles de douleurs chroniques induits par inflammation, une augmentation significative du taux du peptide CGRP ainsi que de substance P au sein de la corne dorsale de la moelle épinière, alors qu'une diminution de ces mêmes neurotransmetteurs était observée dans des modèles de douleurs neuropathiques (Calza et al., 1996 ; Zhang et al., 1995). Au niveau des neurones du noyau central de l'amygdale (CeA), il semblerait que des phénomènes de neuroplasticité touchant les récepteurs aux neurotransmetteurs apparaîtraient dans des modèles animaux de douleurs chroniques arthrosiques (Neugebauer et al., 2003, 2004) et neuropathiques (Bird et al., 2005). Cette neuroplasticité provoque ainsi une hausse de l'excitabilité des neurones du CeA, médiée par un recrutement de récepteurs mGluR1 et mGluR5 (Neugebauer et al., 2003, 2004) et/ou par une augmentation des courants liés aux récepteurs NMDA (Bird et al., 2005). On peut dès lors imaginer que des mécanismes similaires puissent apparaître au sein des neurones du PBN dans le contexte Parkinsonien.

Conclusion :

A la vue de ces informations, le PBN se dégage comme une structure majeure dans de nombreux processus de maintien de l'homéostasie et notamment dans la nociception. Ses connexions privilégiées avec le thalamus et les structures limbiques font de ce noyau un véritable hub, permettant l'intégration d'informations sensorielles et nociceptives diverses en provenance de la périphérie et le relai de ces informations vers des structures cérébrales supérieures. Il est intéressant de rappeler qu'il partage une connexion réciproque avec les GB, structures connues pour dysfonctionner dans le contexte Parkinsonien. Plus précisément il reçoit une connexion directe en provenance de la SNr (Schneider, 1986), et se projette directement sur les neurones dopaminergiques de la SNc (Coizet et al., 2010). Comme nous l'avons vu au cours des chapitres précédents, une des hypothèses physiopathologiques de la MP propose que les neurones GABAergiques de la SNr deviennent hyperactifs suite à la dégénérescence dopaminergique. Consécutivement, cette activité inhibitrice accrue pourrait engendrer une hyper-inhibition pathologique des neurones du PBN dans le contexte Parkinsonien. Le traitement de l'information nociceptive par le PBN s'en trouverait alors altéré. Il est également envisageable que des phénomènes compensatoires, à l'image de ceux décrits au sein du colliculus supérieur (Rolland et al., 2013), puissent apparaître au sein des neurones du PBN afin de maintenir un fonctionnement normal. Cependant, à ce jour, aucune donnée

n'existe sur l'état fonctionnel de ce réseau nociceptif sous-cortical dans le contexte Parkinsonien.

4 - Problématique :

La maladie de Parkinson est caractérisée par la perte de neurones à dopamine localisée au sein de la substance noire compacte. Bien qu'associée classiquement à de nombreuses manifestations motrices, la MP provoque également des symptômes de douleur décrits par les patients comme des sensations transitoires bizarres telles que des brûlures, coups de poignard, démangeaisons et picotements. Les patients semblent également être plus sensibles aux stimuli douloureux comme l'atteste leur seuil de douleur anormalement faible. L'origine de ces symptômes douloureux est encore mal comprise, cependant la littérature semble s'accorder sur leur origine centrale probable, notamment du fait de l'amélioration de ces symptômes par la mise en place de la stimulation du noyau subthalamique. Pourtant le lien entre cette structure des ganglions de la base et les réseaux de la nociception est largement sous-exploré.

4.1 Objectifs & Hypothèses :

Les différents symptômes douloureux ressentis par les patients Parkinsoniens suggèrent une atteinte des circuits nociceptifs centraux. De plus, l'amélioration de la symptomatologie douloureuse, permise par la stimulation du NST, lève une question sur le rôle fondamental de cette structure des ganglions de la base dans la nociception. Il est alors raisonnable de :

- 1) Se demander si le NST reçoit et traite des informations nociceptives ;
- 2) D'identifier les structures lui relayant ces informations.

Ces deux questions seront l'objet de l'étude 1 qui est à l'origine de la publication : **Pautrat, A et al., 2018** *eLife* "Revealing a Novel Nociceptive Network That Links the Subthalamic Nucleus to Pain Processing".

Ce projet de thèse se place également dans le prolongement direct de travaux réalisés précédemment dans l'équipe (Rolland et al., 2013). Dans cette étude effectuée chez le rat, des enregistrements électrophysiologiques multi-unitaires *in vivo* ont permis de mettre en évidence la mise en place de phénomènes de neuroplasticité au sein d'une structure sous-corticale visuelle, le colliculus supérieur (CS), dans le contexte Parkinsonien. Les neurones de cette structure présentaient en effet des réponses visuelles exacerbées chez les animaux Parkinsoniens comparativement à celles d'animaux contrôles. Le CS étant sous le contrôle inhibiteur de la SNr (Chevalier & Deniau, 1990), Rolland et collaborateur (2013) émirent l'hypothèse que ces phénomènes neuroplastiques résultaient d'une adaptation des neurones du CS au tonus inhibiteur anormalement élevé en provenance de la SNr retrouvé dans la maladie de Parkinson (Burbaud et al., 1995). Le CS étant connu pour se projeter sur le NST

(Coizet et al., 2009), un autre résultat important de cette étude fut la découverte de la transmission de l'information visuelle exacerbée depuis le CS jusqu'au NST, soulevant l'hypothèse d'une altération de l'ensemble de ce réseau sensori-moteur sous-cortical dans la maladie de Parkinson (**Figure 22**).

L'étude 1 nous a permis d'identifier le noyau parabrachial, une structure pontine clé dans la nociception et la principale projection supra-spinale des neurones nociceptifs des couches dorsales de la moelle épinière, comme relai de l'information nociceptive pour le NST. Dans le contexte de l'étude 2, nous avons donc voulu vérifier, par électrophysiologie, l'état fonctionnel du PBN dans deux modèles de rats Parkinsoniens. Il est en effet intéressant de souligner que le PBN est, à l'exemple du CS, sous le contrôle inhibiteur de la SNr (Schneider, 1986). Il paraît donc probable que les neurones du PBN présentent eux aussi un dysfonctionnement dû à une activité inhibitrice de la SNr exacerbée dans le contexte Parkinsonien. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons réalisé des enregistrements électrophysiologiques simultanés au sein du NST, de la SNr et du PBN dans des modèles de rats lésés à la 6-OHDA, reproduisant des stades avancé ou partiel de dégénérescence dopaminergique. La stratégie visant à cibler simultanément plusieurs des structures impliquées permet d'apprécier, le cas échéant, la propagation d'informations nociceptives erronées au sein de ce réseau sous-cortical. Finalement, afin d'approfondir les résultats obtenus par Rolland et collaborateurs (2013), nous nous sommes également intéressés à l'éventuelle présence de phénomènes neuroplastiques et plus précisément à d'hypothétiques changements morphologiques des épines dendritiques des neurones du PBN.

Dans la partie suivante, nous présenterons les outils méthodologiques utilisés ainsi que les méthodes d'analyse associées. La troisième partie sera consacrée aux résultats obtenus lors de ces travaux sous la forme de deux études. La première décrira un nouveau circuit liant le NST au traitement de l'information nociceptive. La seconde se concentrera sur l'impact de la maladie de Parkinson sur le fonctionnement de ce réseau, ainsi que sur les mécanismes de neuroplasticité mis en place au niveau des neurones du PBN dans le contexte pathologique.

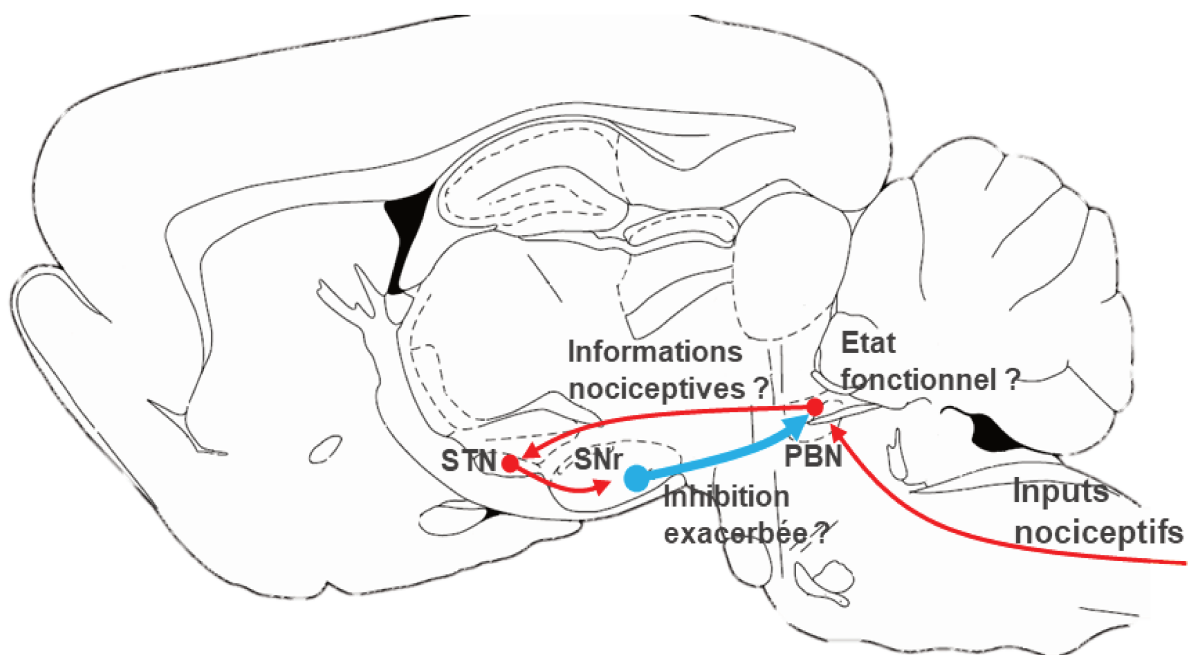


Figure 22 : Résumé graphique des objectifs et hypothèses.

1) Le NST traite-t-il l'information nociceptive ?

2) Le cas échéant, d'où proviennent ces informations ?

3) Quel est l'impact d'une dégénérescence dopaminergique sur le fonctionnement de ces structures ?

Abbreviations : STN : Noyau subthalamique ; SNr : Substance noire réticulée ; PBN : Noyau parabrachial.

En rouge : Connexions excitatrices ; En bleu : connexions inhibitrices.

II. Matériel & Méthodes

5 - Protocoles expérimentaux :

Le chapitre suivant s'attache à décrire les protocoles expérimentaux utilisés dans les deux études rattachées à ce mémoire. La 1^{ère} étude fait référence à l'article publié dans le journal eLife : Pautrat, A. et al. (2018) '*Revealing a novel nociceptive network that links the subthalamic nucleus to pain processing*' décrivant un nouveau réseau nociceptif reliant le PBN au NST. La 2nde étude fait référence à un article en préparation, s'intéressant à l'impact d'une dégénérescence dopaminergique sur le fonctionnement de ce réseau.

5.1 Animaux :

Toutes les expériences décrites dans les pages suivantes ont été réalisées sur des rats mâles *Long Evans* adultes (Janvier, France). Ils étaient hébergés au laboratoire dans les mêmes conditions environnementales selon un cycle lumière/obscurité de 12 h, à une température constante de 22 °C, et avec un accès *ad libitum* à la nourriture et à l'eau. Les expériences ont été réalisées conformément à la politique de l'Université Lyon 1, de l'Institut des Neurosciences de Grenoble (GIN) et de la législation française, c'est-à-dire dans le respect de la directive communautaire du 24 novembre 1986 (86/609/EEC). Ces recherches ont été autorisées par la Direction Départementale des Services Vétérinaires de l'Isère - Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, (Coizet, Véronique, PhD, permis numéro 381003). Les procédures ont été revues et validées par le Comité éthique du GIN n°004 agréé par le ministère chargé de la recherche.

5.2 Modèles lésionnelles à l'acide iboténique :

L'acide iboténique est une substance excitotoxique couramment utilisée en neurosciences afin de détruire les neurones de structures cérébrales d'intérêt. Lors de la 1^{ère} étude, des lésions à l'acide iboténique (AbCam biochemical, Cambridge, UK) ont été réalisées dans le colliculus supérieur, le noyau parabrachial et le noyau subthalamique. Pour cela, des rats mâles *Long Evans* (240-450g) étaient anesthésiés par injection intrapéritonéale d'un mélange kétamine-xylazine (0.76-1.1mL ; 1mL/kg) ou par anesthésie gazeuse à l'isoflurane (Isoflurin, Axiscience) et placés dans un cadre stéréotaxique selon le même axe utilisé pour l'atlas de Paxinos & Watson (2007). La température corporelle des rats était contrôlée tout au long de la chirurgie et maintenue à 37°C à l'aide d'une couverture chauffante. Avant incision, le scalp était rasé et désinfecté à la Bétadine puis une injection sous-cutanée de 0,3mL de Lidocaïne (Vétoquinol, France) était réalisée afin de prévenir toute hyper-sensibilité post-chirurgicale. Une incision médiane d'environ 2cm était ensuite réalisée sur le scalp permettant d'accéder aux sutures osseuses (point Bregma et Lambda) des os crâniens. Après une craniotomie effectuée à l'aplomb des structures ciblées (détails en **Tableau 1**), une canule de

30 gauges remplie d'acide iboténique ($20\mu\text{g}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ pour le CS et le PBN ; $8,4\mu\text{g}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ pour le NST) connectée par une tubulure à un pousse seringue permettait des micro-injections ($0,3-0,65\mu\text{L}$) locales d'acide iboténique ou de l'excipient (NaCl 0,9% stérile) pour les animaux contrôles. Dans le cas du PBN, la précision de l'injection était améliorée par l'utilisation du signal électrophysiologique comme décrit par Reilly et Trifunovic (2000, 2001). Les lésions étaient effectuées bilatéralement dans le cas du NST et unilatéralement dans le cas du PBN et CS.

| | NST | PBN | CS |
|-------------------------|--|---|--|
| Acide Iboténique | 0.5 μL à 8,4 $\mu\text{g}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ | 0.3 μL à 20 $\mu\text{g}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ | 0.5-0.65 μL à 20 $\mu\text{g}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ |
| AP | -3.6mm | -11.4mm | -7.4mm |
| Lat | -5,4 mm | +1.8 - 1,9 mm | -8.4mm |
| DV | - 12.0 mm | -5.2 - 5.8 mm | -5.5mm |
| Angle | 90° | 35° rostral | 90° |
| Modèle | Bilatéral | Unilatéral | Unilatéral |

Tableau 1 : Coordonnées stéréotaxiques utilisées pour les lésions à l'acide iboténique et volumes associés, calculées d'après l'atlas de Paxinos & Watson (2007) selon le point Bregma. AP : Antéro-postériorité ; Lat : Latéralité ; DV : Dorso-ventralité.

5.3 Modèles lésionnelles à la 6-hydroxydopamine :

Tout au long de la 2nde étude, les animaux étaient rendus héli-parkinsoniens par une injection stéréotaxique unilatérale (hémisphère droit) de 6-hydroxydopamine (6-OHDA) dans la substance noire compacte (SNc). La 6-OHDA est une neurotoxine dérivée de la dopamine qui cible les neurones catécholaminergiques. La toxine pénètre sélectivement les neurones dopaminergiques et noradrénergiques, grâce aux transporteurs monoaminergiques présents à la surface membranaire de ces neurones (Heikkila et al., 1989). Son injection intra-nigrale unilatérale entraîne une dégénérescence des neurones dopaminergique du côté ipsilatéral à l'injection. En 15 à 20 jours, la lésion se stabilise en fonction du volume éjecté et de la concentration utilisée. Deux processus dégénératifs opèrent lors de cette période. Le premier implique la formation de radicaux libres conduisant à la mort cellulaire par stress oxydatif. Le second induit une inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale (complexe I et IV) aboutissant également à la mort cellulaire (Glinka et al. 1997).

5.3.1 Chirurgie :

Des rats mâles Long Evans (240-450g) étaient anesthésiés par injection intrapéritonéale d'un mélange kétamine-xylazine (0.76-1.1mL ; 1mL/kg) ou par anesthésie gazeuse à l'isoflurane (Isoflurin, Axiscience) et placés dans un cadre stéréotaxique comme décrit précédemment. Après désinfection à la Bétadine, une incision médiane d'environ 2cm

était réalisée sur le scalp permettant d'identifier les points Bregma et Lambda des os crâniens. L'accès à l'os situé à l'aplomb de la substance noire compacte était ensuite dégagé.

5.3.2 Préparation de la 6-OHDA :

La 6-OHDA est une molécule qui s'oxyde spontanément et très rapidement. Elle présente de plus une sensibilité à la lumière marquée. Sa préparation se fait dans un environnement sombre et froid (chambre froide à 4°C) par dissolution dans une solution stérile de NaCl 0.9%. Classiquement, la totalité du tube de 5mg de 6-OHDA (Sigma, référence H116) est dilué dans un volume de 1,92mL de NaCl pour une concentration finale de 2,6mg/mL. Des aliquotes de 200µL sont ensuite réalisés et stockés à -80°C jusqu'à utilisation.

5.3.3 Protocole d'injection :

Pour des raisons de simplicité et de reproductibilité nous avons utilisé le point de référence interaural pour ces chirurgies. Les coordonnées utilisées pour les lésions de la substance noire compacte de l'hémisphère droit sont résumées dans le tableau suivant :

| | Lésion totale | Lésion Partielle |
|--------------------|---------------|------------------|
| 6-OHDA | 3,0µL | 1,0 µL |
| Antéro-Post | + 3,0 mm | + 3,0 mm |
| Latéralité | - 2,1 mm | - 2,4 mm |
| Ventralité | + 2,5mm | + 2,4 mm |

Tableau 2 : Coordonnées stéréotaxiques utilisées pour l'injection de 6-OHDA au sein de la SNc calculées d'après l'atlas de Paxinos & Watson (2007) selon le point interaural.

Après une craniotomie effectuée à l'aplomb de la substance noire compacte de l'hémisphère droit, une canule préalablement remplie de la solution de 6-OHDA est insérée jusqu'aux coordonnées stéréotaxiques désirées. La canule, reliée à une tubulure connectée à un pousse seringue permettait une injection régulière (débit 0,5µL/min) de la toxine au niveau de la SNc. A la fin de l'injection, un temps de diffusion de cinq minutes était respecté, permettant d'éviter tout risque d'aspiration mécanique lors de la sortie de la canule. Après avoir suturé le scalp, les rats étaient placés sous une lampe chauffante jusqu'à leur réveil. Pour les animaux du groupe contrôle, la 6-OHDA était remplacée par l'excipient utilisé (NaCl 0,9%). Au moment de leur réveil d'anesthésie, les animaux ayant subi une lésion importante de la SNc présente une posture asymétrique avec une déviation de la tête et du tronc ainsi que des mouvements du côté ipsilatéral à la lésion. Les animaux sont ensuite remis dans leur cage pendant trois semaines avant le début des expérimentations.

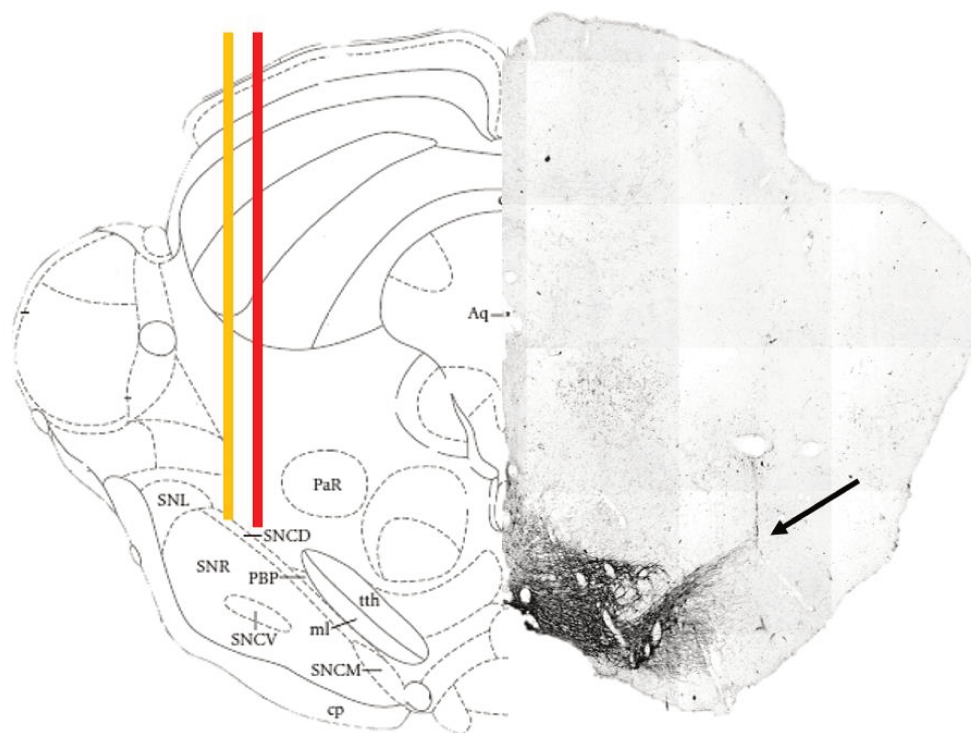


Figure 23 : Représentation schématique (gauche) de la chirurgie stéréotaxique réalisée pour l'injection de la 6-OHDA au sein de la SNc. La barre orange représente la position de la canule pour le modèle de lésion partielle, la barre rouge pour le modèle de lésion totale. Droite : Immunohistochimie dirigée contre la tyrosine hydroxylase sur une coupe coronale de cerveau de rat ayant subi une lésion partielle de la SNc. Notez la perte de dopamine sur l'extrémité latérale de la SNc ainsi que la cicatrice laissée par la canule (flèche noire).

5.3.4 Contrôle histologique de la lésion dopaminergique :

L'étendue de la lésion induite par la 6-OHDA est contrôlée *post mortem* par immunohistochimie dirigée contre l'enzyme Tyrosine Hydroxylase (TH, **Fig. 1**). Cette enzyme clé, dans la synthèse de la dopamine, a la particularité d'être exprimée fortement dans les neurones dopaminergiques. A la fin des expérimentations, les animaux étaient euthanasiés par overdose de pentobarbital (50mg/kg ; injection intrapéritonéale), perfusés par voie intracardiaque avec une solution de 250mL NaCl à 0.9% pour rinçage, puis avec une solution de 250mL de paraformaldéhyde à 4% pour fixation. Les cerveaux étaient ensuite post-fixés dans la même solution fixatrice pendant 12h puis déshydratés dans une solution de sucrose à 20% pendant 48h. Après leur congélation dans une solution d'isopentane à -60°C, les cerveaux sont coupés au cryostat dans le plan coronal à une épaisseur de 30µm. Deux séries sont alors réalisées, la première pour contrôle histologique du positionnement des électrodes par coloration au Crésyl Violet, la seconde pour le marquage immunohistochimique de la tyrosine hydroxylase. Les coupes destinées à la coloration immunohistochimique sont stockées à -20°C dans un liquide cryo-protecteur jusqu'à leur utilisation.

Ces coupes sont ensuite nettoyées à l'aide de tampon phosphate 0.1M (PB 0.1M) et incubées dans une solution bloquante composée de : PB 0.1M-Triton X 0.3% contenant 5% de Normal Horse Serum (NHS) et 2.5% de Bovine Serum Albumin (BSA) pendant deux heures permettant la perméabilisation des membranes cellulaires. La solution bloquante est ensuite retirée et les coupes sont incubées sur la nuit dans une solution contenant l'anticorps primaire (produit chez la souris et dirigé contre la TH ; Chemicon, Hampshire UK) à une dilution de 1 :3000 dans une solution de PB 0.1M-Triton X 0.3% contenant 1% de BSA et 2% de NHS. Après des lavages supplémentaires dans du PB 0.1M, les coupes sont transférées dans l'anticorps secondaire biotinylé (produit chez le cheval et dirigé contre la souris) à une dilution de 1 :1000 (dilué dans du PB 0.1M-Tx 0.3%, 2% NHS) pendant 2h. Après lavage au PB 0.1M les coupes sont ensuite transférées dans une solution de kit ABC-peroxydase (Vector Lab, Burlingame, Californie, USA) dilué à 1 :100 dans du PB 0.1M-Tx 0.3% pendant 2h afin de réaliser la réaction immunohistochimique. Enfin les coupes sont révélées par réaction avec de la DAB (Kit DAB Vector) après ajout de H₂O₂ pour initier la réaction. La réaction est arrêtée après 1 minute par du PB 0.1M, les lames sont alors déshydratées dans des bains d'alcool de titres croissants et montées entre lame gélatinée et lamelle après passage dans le xylène pour nettoyage.

L'immunomarquage anti-TH des neurones DA (SNc et striatum) est ensuite évalué par microscopie photonique (Nikon, Eclipse 80i, TRIBVN, Chatillon, France). Afin de quantifier l'immunomarquage, les lames de microscopie sont numérisées à l'aide d'une caméra branchée sur le microscope (Pike F-421C, ALLIED Vision Technologies Stradtroda, Germany). Les densités optiques (DO) sont alors mesurées pour les hémisphères lésés et non-lésés (Striatum : AP +0.20mm à -0.30mm du Bregma ; SNc : AP -5.3mm à : -5.8 mm du Bregma) de chaque animal. Les DO des hémisphères lésés sont alors comparées à celles des hémisphères contrôles. Le pourcentage de lésion est ainsi obtenu pour chaque animal au niveau de la SNc et du Striatum. La différence de proportion de neurones DA lésés est ensuite testée statistiquement (ANOVA) entre chacun de nos trois groupes de rats : contrôle - lésion partielle - lésion totale.

5.4 Traçage anatomique :

Au cours de la 1^{ère} étude, des injections de traceurs anatomiques ont été effectuées afin de caractériser le réseau reliant le PBN au NST. Pour cela 14 rats *Long Evans* ont été utilisés. Les animaux étaient anesthésiés comme décrit précédemment, placés dans un cadre stéréotaxique puis des injections intracérébrales de différents traceurs étaient réalisées. Les coordonnées stéréotaxiques utilisées sont décrites en **Tableau 3**.

5.4.1 Traçage anatomique antérograde :

Le traçage anatomique antérograde a été effectué à l'aide de *Phaseolus vulgaris leucoagglutinin* (PHA-L 2,5%, Vector Labs, Peterborough, UK) ou de *Biotinylated dextran amines* (BDA 10%, Sigma Aldrich) au sein du PBN. Des petits volumes 30-90nL de BDA étaient éjectés par pression d'air via une micropipette de verre (\varnothing 15-20 μ m) comme décrit précédemment (Coizet et al., 2010). Dans le cas du PHA-L, celui-ci était injecté par iontophorèse via une micropipette en verre (\varnothing 10 μ m) avec courant anodique de 5 μ A, selon des cycles on/off de 7s pendant 20min.

5.4.2 Traçage anatomique rétrograde :

Le traçage anatomique rétrograde a été effectué à l'aide de *Cholera Toxin subunit B* (CTB 1%) ou de *Fluorogold* (FG, 4%) au sein du NST. Les injections étaient réalisées par pression via une micropipette de verre (\varnothing 15-20 μ m). Les volumes injectés étaient de 10-20nL.

5.4.3 Traçage anatomique – Histologie :

Après avoir respecté un délai de sept jours afin de laisser le temps aux traceurs de migrer, les animaux étaient euthanasiés au pentobarbital (50mg/kg ; injection intrapéritonéale), perfusés par voie intracardiaque avec une solution de 250mL NaCl à 0,9% pour rinçage, puis avec une solution de 250mL de paraformaldéhyde à 4% pour fixation. Après une post-fixation de 24h, les cerveaux étaient plongés dans une solution de sucrose 20% pour cryo-protection puis coupés (30 μ m) dans le plan coronal à l'aide d'un cryostat. Afin de révéler la présence des traceurs PHA-L, CTB et BDA des coupes flottantes étaient prélevées, lavées dans du tampon phosphate 0,1M (PB 0,1M) puis les membranes cellulaires étaient perméabilisées par un bain de PB-TX 0,3% pendant 30min. Les coupes d'animaux ayant subi une injection de PHA-L et de CTB étaient incubées avec un anticorps primaire (anti-PHA-L 1 :1000, Vector Labs, ou anti-CTB 1 :4000, Quadrantech, obtenus chez la chèvre) sur la nuit à température ambiante. Le lendemain, les coupes étaient lavées dans du PB-TX 0,3% puis incubées 2h dans un anticorps secondaire biotinylé produit chez le lapin et dirigé contre les anticorps de chèvre (anti-goat IgG, Vector Labs, 1 :100, dilué dans du PB 0,1M contenant 2% de sérum de lapin). Après lavage au PB 0,1M les coupes étaient transférées dans une solution de kit ABC-peroxydase (Elite Vectastain ABC reagent, Vector Labs, 1 :100 dilué dans du PB-TX 0,3%) pendant 2h. Enfin, la présence de peroxydase associée aux traceurs était révélée par réaction chromogène avec du 3,3'-Diaminobenzidine (DAB, Vector Labs) après ajout d'une goutte de H₂O₂ pour initier la réaction. La réaction était arrêtée après 1 minute par du PB 0,1M, les coupes étaient alors montées sur des lames gélatinées puis déshydratées dans des bains d'alcool de titres croissants, lavées dans du Xylène, recouvertes de DPX et protégées sous une lamelle de

verre. Les coupes d'intérêt étaient ensuite numérisées et la présence de traceurs vérifiée par microscopie (Nikon Eclipse 80i, TRIBVN, v2.9.2, Chatillon, France). Dans le cas du *fluorogold*, les coupes étaient montées directement sur lames gélatinées et observées au microscope à fluorescence après montage dans du DPX.

5.4.4 Traçage anatomique – Analyse :

Les coupes d'intérêt étaient sélectionnées et imagées au microscope (Nikon Eclipse 80i, TRIBVN, v2.9.2, Chatillon, France) sous un grossissement de 100x. Pour les injections antérogrades effectuées dans le PBN, trois plans coronaux localisés au niveau du NST étaient analysés (AP : -3.6mm; -3,8mm; -4,1mm après Bregma) ainsi que trois plans sagittaux (Lat : +1,9mm ; +2,4mm; +2,9mm par rapport au Bregma). Pour les injections rétrogrades dans le NST, trois plans coronaux (AP : -8.8mm; -9,3mm; -9,8mm après Bregma) localisés au niveau du PBN étaient analysés. Ces images étaient ensuite importées dans un logiciel de dessin (Macromédia Freehand) et la présence des traceurs antérogrades et rétrogrades était reportée à l'aide d'une tablette graphique sur des sections sagittales dessinées à la main.

Pour la reconstruction 3D, les meilleures images des coupes sagittales étaient sélectionnées et rassemblées en un stack d'images 2D créé à l'aide des logiciels *Cygwin* (Cygwin TM sources) et *IMOD* (Boulder laboratory for 3D Electron Microscopy of Cells, University of Colorado, Boulder, CO) comme décrit par Kremer et al., (1996). Les sections étaient ensuite alignées à l'aide du programme *Midas* et les structures d'intérêt étaient dessinées ainsi que les axones marquées par la présence des traceurs.

5.5 Electrophysiologie *in vivo* chez le rat anesthésié :

5.5.1 Chirurgie :

Après un minimum de trois semaines après la lésion dopaminergique les rats étaient anesthésiés par injection intrapéritonéale d'uréthane 25% (éthyl-carbamate, Sigma-Aldrich; 5mL/kg) dissout dans de l'eau distillée. Deux électrodes en acier inoxydable permettant les stimulations électriques nociceptives sont insérées dans la patte arrière controlatérale aux lésions à l'acide iboténique ou aux lésions dopaminergiques. La première électrode était placée sous la peau de la surface plantaire, la seconde sous la peau de la face interne de la patte. Les rats étaient ensuite installés sur un cadre stéréotaxique placé au centre d'une cage de Faraday. Une incision cutanée était réalisée sur le scalp afin de mettre la boîte crânienne à nu, laquelle était ensuite séchée afin de distinguer les repères anatomiques bregma et lambda. Les trajectoires permettant d'atteindre les positions théoriques des structures ciblées

ont été déterminées à l'aide de l'atlas stéréotaxique de Paxinos et Watson (7^{ème} édition, 2007) selon les coordonnées suivantes par rapport au point Bregma :

| | AP | Lat | DV | Angle |
|------------|-----------|---------|---------|-------------|
| NST | -3,6mm | +2,5mm | -7,4mm | 90° |
| SNr | -5,4 mm | -1,8 mm | -8,4mm | 28° médian |
| PBN | - 12,0 mm | +2,0 mm | -5,5mm | 30° rostral |
| CS | -6,2 mm | +2,1 mm | -4,2 mm | 90° |

Tableau 3 : Coordonnées stéréotaxiques utilisées pour l'électrophysiologie, les lésions à l'acide iboténique et les expériences de traçage anatomique calculées d'après l'atlas de Paxinos & Watson (2007) selon le point Bregma. AP : Antéro-postériorité ; Lat : Latéralité ; DV : Dorso-ventralité.

Trois craniotomies sont ensuite réalisées aux coordonnées décrites ci-dessus afin de permettre l'accès aux structures visées (NST, SNr et PBN, **Figure 24**). Les enregistrements électrophysiologiques commençaient lorsque les trois électrodes étaient positionnées.

5.5.2 Enregistrements extracellulaires unitaires :

Des enregistrements unitaires extracellulaires ont été réalisés au cours des deux études au sein du NST, et dans le PBN dans la 2^{nde} étude. Dans la 1^{ère} étude, les enregistrements extracellulaires unitaires du NST sont effectués du côté ipsilatéral aux lésions du CS et du PBN effectuées à l'acide iboténique (hémisphère droit), et du côté controlatéral aux électrodes de stimulations nociceptives. Dans la 2^{nde} étude, les enregistrements unitaires du NST et du PBN étaient réalisés simultanément et du côté ipsilatéral aux lésions dopaminergique. Les enregistrements unitaires sont réalisés à l'aide de capillaires de verre (Phymep, ref : GC150F-15) étirées grâce à une « étireuse verticale » (Narashige Laboratory Instruments Ltd. Tokyo, Japan), leur extrémité est brisée afin d'obtenir une ouverture < 1µm de diamètre (impédance 8-20MΩ, mesurée à 135Hz dans une solution saline à 0,9%). Après leur fabrication, les électrodes sont stockées jusqu'à leur utilisation. Le jour des expériences électrophysiologiques, les pipettes de verre sont ensuite remplies d'un liquide conducteur (solution saline à 0,9% et 2% de bleu de Pontamine ; BDH Chemicals Ltd, Poole, UK).

Lors des enregistrements, les électrodes sont descendues dans la profondeur du cerveau grâce à un microcontrôleur hydraulique automatique (Trent Wells Inc.) dans le cas du NST et par un microcontrôleur manuel (FHC, Bowdoin, ME USA) dans le cas du PBN. Les enregistrements unitaires sont effectués aux positions théoriques correspondant au NST et PBN, calculées à l'aide de l'atlas de Paxinos & Watson (voir **Tableau 3**). Lorsqu'un hypothétique neurone du NST ou du PBN était rencontré, son activité était enregistrée pendant 2x240sec. Lors de la 1^{ère} période, le stimulateur nociceptif était en position off. Lors de la 2^{nde}

période, le stimulateur nociceptif était allumé. Les potentiels d'actions ainsi obtenus étaient amplifiés 1000x (NeuroLog Systems, Digitimer, UK), filtrés entre 300Hz-10kHz, digitalisés à 10kHz grâce au système d'acquisition CED1401 (CED Systems, Cambridge, UK) et enregistrés directement sur un ordinateur via l'utilisation du logiciel Spike 2 v7.2.

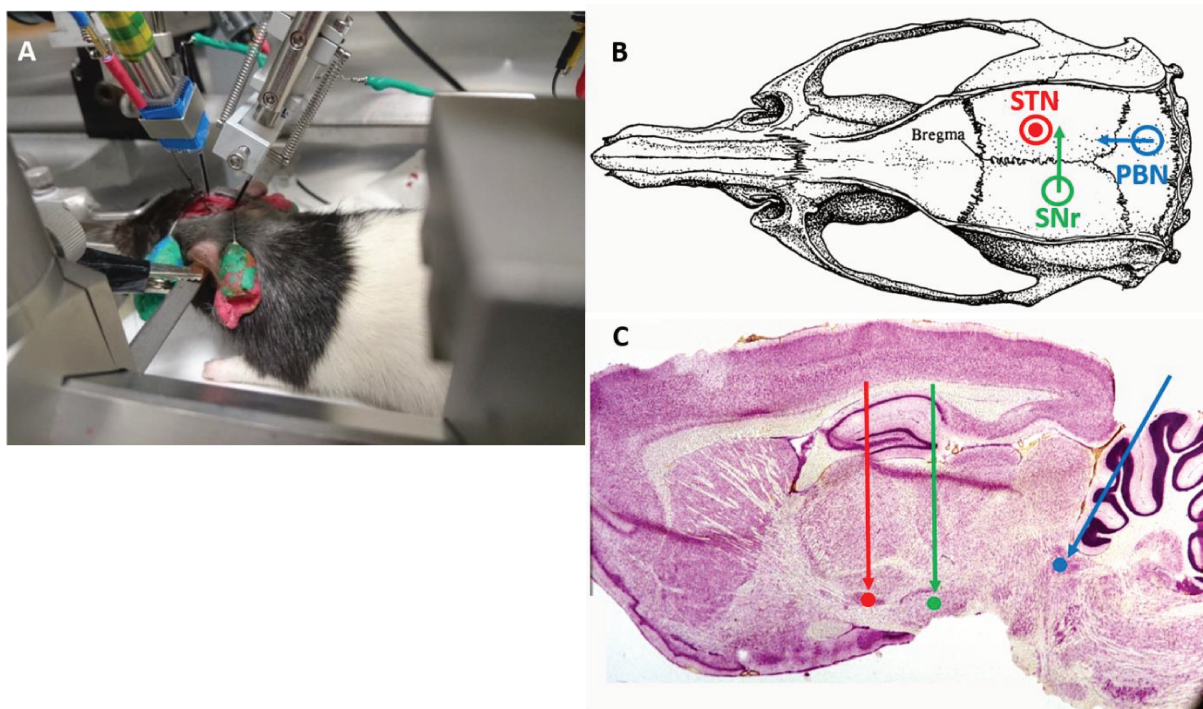


Figure 14: **A-** Approche utilisée pour l'implantation des électrodes d'électrophysiologie. **B-** Coordonnées des craniotomies (ronds) et trajectoires (flèches) des électrodes utilisée lors de a 2nde étude. **C-** Coupe sagittale de cerveau de rat colorée au crésyl violet indiquant la trajectoire des électrodes utilisée lors de a 2nde étude.

5.5.3 Enregistrements multi-unitaires :

Lors de la 1^{ère} étude, des enregistrements extracellulaires multi-unitaires du CS et du PBN étaient réalisés à l'aide d'électrodes en Tungsten-Parylène (Phymep, Paris, France) d'impédance de 2M Ω . Les trajectoires utilisées étaient les mêmes que celles décrites en **Tableau 1**. Ces électrodes en Tungstène étaient couplées à une canule de 30 Gauges fabriquée au laboratoire et permettant l'injection locale très précise d'agents pharmacologiques (muscimol, lidocaïne, bicuculline). La même stratégie (électrode + canule) a été réutilisée lors de la 2nde étude, pour l'enregistrement de l'activité de la SNr. La craniotomie était réalisée dans l'hémisphère gauche, et l'ensemble électrode-canule était positionné au sein de la SNr de l'hémisphère droit selon un angle médian de 28° environ 8,4mm sous la surface du cerveau. Lors des sessions d'enregistrements, des micro-injections (0,50 μ L) de muscimol étaient effectuées à l'aide d'une seringue Hamilton de 10 μ L connectée via une tubulure en plastique à un pousse-seringue réglé à une vitesse de 0,5 μ L/min.

5.5.4 Stimulations nociceptives :

Comme décrit précédemment (Coizet et al. 2006, 2010), les stimulations nociceptives consistaient en un choc électrique répété 120 fois sur une période de 240 secondes (0.5Hz, 2ms). Ils étaient délivrés au niveau de la patte arrière gauche (controlatérale aux sites d'enregistrements) à une intensité de 5mA. Les activités unitaire et multi-unitaire étaient enregistrées lors d'une période contrôle de 120 stimulations, lors de laquelle le stimulateur était éteint, puis de nouveau pendant 120 stimulations avec le stimulateur allumé. La durée totale d'un enregistrement était de 2 x 240s soit 8min.

Nous nous sommes assurés de la nature nociceptive des stimulations électriques réalisées en les comparant avec des pressions mécaniques réalisées manuellement. Ces pressions mécaniques activaient de la même façon les neurones enregistrés que notre protocole de stimulation électrique (Pautrat et al., 2018). De plus, nous avons vérifié que les neurones des couches superficielles des couches dorsales de la moelle épinière présentaient une expression accrue du marqueur d'activité C-fos lors de nos périodes de stimulation en comparaison de rats ayant été implantés avec les électrodes de stimulations mais n'ayant pas reçu les chocs électriques nociceptifs. Enfin, l'intensité choisie (5mA) correspond approximativement à trois fois l'intensité requise pour l'activation des fibres C (Chang and Shyu, 2001).

5.5.5 Electrophysiologie - Histologie :

Le positionnement de chacune des trois électrodes était vérifié systématiquement. Pour les enregistrements multi-unitaires, une petite lésion était effectuée à la fin de la session d'enregistrement par passage d'un courant continu de 10 μ A au travers de l'électrode en tungstène pendant 50 secondes. Pour les enregistrements unitaires, la position finale de l'électrode était repérée par un dépôt de bleu de Pontamine contenu dans la pipette grâce au passage d'un courant cathodique de 27.5 μ A pendant 20 minutes. Les animaux étaient ensuite euthanasiés par overdose de pentobarbital, perfusés à l'aide d'une solution saline pour rinçage puis d'une solution fixatrice (PFA 4%) comme décrit précédemment. Des coupes frontales de cerveaux de 30 μ m d'épaisseur étaient ensuite obtenues au cryostat, montées sur des lames de verres préalablement gélatinées et enfin colorées selon la méthode de Nissl. Brièvement, les coupes sont d'abord déshydratées dans des bains d'alcool de titres croissants, colorées pendant 3 minutes dans une solution de Crésyl Violet 0.5% (Sigma, ref C5042) puis lavées dans un bain de xylène avant montage. La localisation du point bleu de Pontamine est alors réalisée par observation au microscope optique et seuls les animaux présentant ce dépôt bleu dans les noyaux d'intérêt étaient retenus pour l'analyse des données.

5.5.6 Electrophysiologie - Analyse des résultats :

Les données obtenues en électrophysiologie sont analysées grâce à une macro Excel (développée par Peter Furness, Sheffield University, UK). Cette macro permet d'analyser les réponses phasiques et toniques des neurones aux stimulations nociceptives. Elle permet également de connaître la direction de la réponse (inhibition vs activation). Cette macro nécessite la transformation des données brutes enregistrées lors des journées d'expérimentation en histogrammes péri-stimulus (PSTHs, **Figure 25**). Ainsi, pour chaque enregistrement, deux PSTHs étaient réalisés. Le premier correspondant à la période contrôle, le 2nd à la période de stimulations nociceptives. La macro permettait le calcul de l'activité moyenne basale (en Hertz) lors des 500ms avant la stimulation de chaque neurone en période contrôle et de stimulation. Le neurone enregistré était considéré comme répondant aux stimulations nociceptives si son activité post-stimuli dépassait un seuil fixé à 1.96x l'écart type standard (SD) de son activité basale pré-stimuli (3.0x SD dans le cas des enregistrements multi-unitaires). Le cas échéant, plusieurs paramètres (**Figure 25**) de la réponse phasique du neurone étaient calculés, comme la latence de la réponse (le temps que met l'activité à croiser

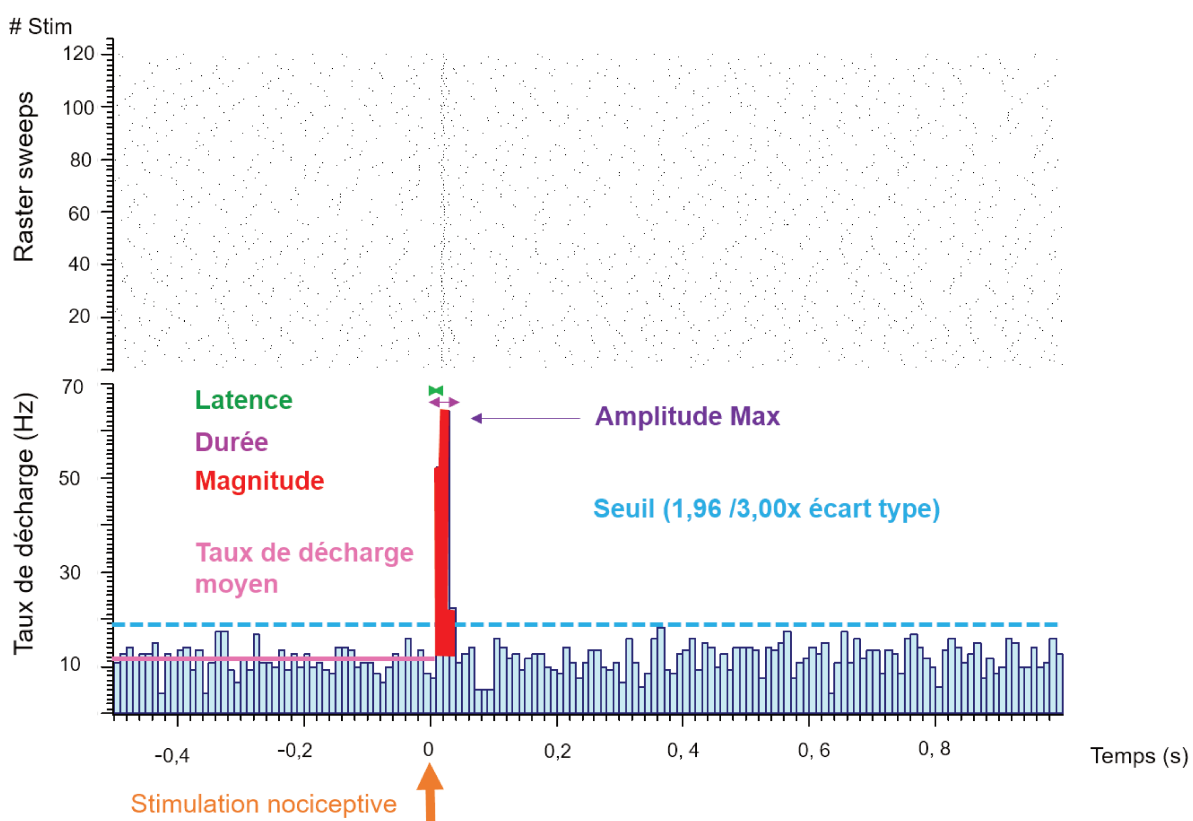


Figure 25: Péri-stimulus histogramme obtenu lors de l'enregistrement d'un neurone unitaire du noyau parabrachial. Notez la présence d'une réponse phasique (rouge) suite à la stimulation nociceptive (flèche orange). Plusieurs paramètres peuvent être calculés grâce à ce type d'histogramme : la latence ainsi que la durée de la réponse (en seconde), le taux de décharge moyen avant et pendant les stimulations nociceptives (en Hertz), l'amplitude maximale de la réponse (en Hertz), le taux de décharge moyen de la réponse (en Hertz) ainsi que la magnitude de la réponse (taux de décharge moyen de la réponse à laquelle on soustrait l'activité moyenne basale du neurone).

le seuil de 1,96SD après les stimulations) et la durée de la réponse (le temps pendant laquelle l'activité du neurone dépasse le seuil après les stimulations). Ces histogrammes permettaient également le calcul de l'amplitude maximale de la réponse (le taux de décharge maximal enregistré lors de la réponse, en Hertz), le taux de décharge moyen lors de la réponse (aire sous la courbe lors de la réponse, en Hertz) et la magnitude de la réponse (aire sous la courbe lors de la réponse à laquelle est soustraite l'activité moyenne basale du neurone, en Hertz).

5.6 Marquage neuronale par la méthode de Golgi-cox :

Cette procédure a été réalisée lors de la 2^{nde} étude. Trois groupes de rats (N= 16) ont été préparés pour l'étude morphologique des neurones du noyau parabrachial selon la méthode de Golgi-cox : Six rats contrôles, cinq rats ayant subi une lésion partielle de la SNc et cinq rats ayant subi une lésion totale de la SNc. Trois semaines après l'injection de la 6-OHDA dans la SNc, les animaux étaient euthanasiés et leur cerveaux prélevés après fixation au paraformaldéhyde 4% comme décrit précédemment. La solution de Golgi-cox était préparée plusieurs jours en avance et stockée à l'abri de la lumière comme décrit par Levine et al. (2013). Brièvement, 10g de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$ Sigma Aldrich ref: 207802) sont dissouts dans 200mL d'eau distillée à température ambiante (*solution A*). 10g de chlorure de mercure (II) ($HgCl_2$ Sigma Aldrich ref: 215465) sont dissouts dans 200mL d'eau distillée chauffée à 80°C puis refroidie à température ambiante (*solution B*). La *solution B* est alors versée délicatement dans la *solution A*. 10g de chromate de potassium (K_2CrO_4 ; Sigma Aldrich ref: 216615) sont dissouts dans 600mL d'eau distillée (*solution C*). Enfin, la *solution C* est ajoutée au mélange précédent pour former la solution finale. La solution finale est alors composée de 1% dichromate de potassium, 1% chromate de potassium, 1% de chlorure de mercure (II).

Les cerveaux étaient post-fixés le temps d'une nuit, puis immergés entiers dans une solution de Golgi-cox pendant 2 jours. A la fin de ces deux jours, la solution était changée et les cerveaux étaient immergés à nouveau pour une durée de 12 jours (total de 14j). A la fin de cette étape, les cerveaux étaient rincés dans une solution de dichromate de potassium 1% pendant 24h. Après une étape de cryo-protection dans une solution de sucrose 20% le temps d'une nuit, les cerveaux étaient congelés dans l'isopentane refroidit à -60°C pour être coupés au cryostat dans le plan coronal. Trois séries étaient réalisées, la première correspondait à des coupes de 30µm d'épaisseur réalisées au niveau du striatum, la seconde à des coupes de 30µm d'épaisseur réalisées au niveau de la substance noire compacte. Ces deux séries servaient à l'évaluation de la lésion dopaminergique induite par l'injection de 6-OHDA selon la même méthode que décrite précédemment. La troisième série, réalisée au niveau du PBN (AP : -8.8mm à -10.0mm après bregma), était composée de coupes plus épaisses, de 80µm

d'épaisseur. Ces coupes étaient montées directement sur des lames de microscopie préalablement gélatinées. Cette épaisseur de coupe permettait une conservation du tissu et une observation des épines dendritiques optimales. Les lames de microscopie étaient ensuite développées et préparées pour le montage dans des bains successifs :

- 2 min d'eau distillée pour réhydratation du tissu,
- 30 min NH₃ 28% (Sigma Aldrich, ref : 338818),
- 2 x 2 min d'eau distillée pour rinçage,
- 10 min « *Kodak Rapid Fix* » dilué dans l'eau distillée à 1:6,
- 2 min dans l'éthanol à 50%,
- 2 min dans l'éthanol à 70%,
- 2 min dans l'éthanol à 95%,
- 2 min dans l'éthanol à 95%,
- 2 min dans l'éthanol à 100%,
- 2 min dans l'éthanol à 100%,
- 2 min dans l'éthanol à 100%,
- 10 min dans le xylène pour dégraissage.

Les lames étaient ensuite enduites de liquide de montage (DPX, Sigma Aldrich) et recouvertes d'une lamelle en verre. Après une période de séchage de 72h, les lames étaient nettoyées à l'alcool et numérisées.

5.6.1 Analyse des coupes imprégnées selon la méthode de Golgi-cox

Des images centrées sur le PBN des coupes imprégnées par la solution de Golgi-cox sont obtenues grâce à un scanner de lames (Zeiss, AxioScan Z1) avec un grossissement de 400x. Afin de suivre l'arborisation dendritique des neurones marqués, les images étaient constituées de 10 *Z-stacks* espacés de 2.0µm permettant ainsi d'imager 20µm de plan focal. Ces images sont ensuite binarisées et analysées dans le programme « *Reconstruct* » téléchargeable gratuitement (<http://synapses.clm.utexas.edu>) comme décrit par Risher et al., (2014). Les caractéristiques géométriques (longueur et largeur) des épines dendritiques de neurones clairement localisées dans le PBN sont ainsi mesurées. Ces mesures permettent ensuite la classification automatique des épines analysées selon six morphologies distinctes (**Figure 26**) indiquant une maturité croissante : *filopodia*, *long thin*, *thin*, *stubby*, *mushroom* et *branched*. Le programme « *Reconstruct* » permet également de recueillir des données

comme la densité d'épines dendritiques par μm de segment dendritique ainsi que la proportion relative de chaque morphologie d'épines.

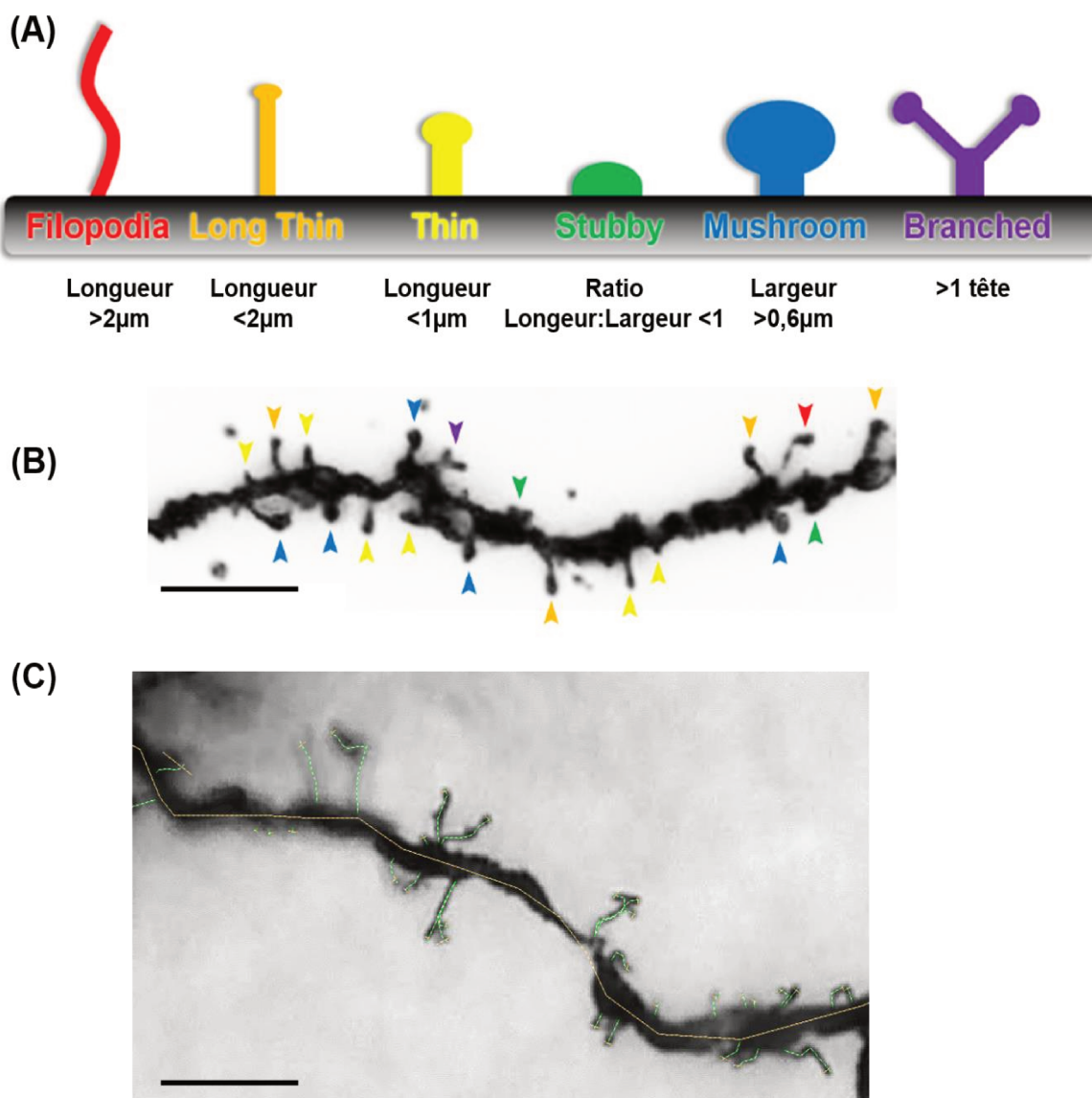


Figure 26: Les caractéristiques géométriques des épines dendritiques de neurones du noyau parabrachial permettent leur classification morphologique objective. (A) Les différents types d'épines dendritiques retrouvés sur les neurones. Le degré de maturité des épines progresse de gauche à droite. On observe ainsi de longues et minces structures de type « filopodia » (rouge) peu mature et des épines matures de type « mushroom », à la tête large (bleu), et occasionnellement à des épines à la tête ramifiée « branched » (violet). Les caractéristiques géométriques des épines, décrites sous chaque type, servent à leur classification automatique par le logiciel « Reconstruct ». (B) Coloration Golgi-cox d'une branche dendritique secondaire d'un neurone pyramidal de couche II/III du cortex visuel primaire de rat. Les pointes de flèche indiquent les différentes morphologies, selon le même code couleur qu'en (A). (C) Exemple de reconstruction des épines dendritiques d'un neurone du noyau parabrachial par le logiciel « Reconstruct ». La largeur des épines correspond aux traits pointillés rouges, leur longueur aux traits pointillés verts. La longueur du segment dendritique est obtenue par la mesure du trait orange. Echelle $5\mu\text{m}$. Image adaptée de Risher et al., (2014).

5.7 Microscopie électronique :

Cette procédure a été réalisée lors de la 2^{nde} étude, sur les trois mêmes groupes expérimentaux décrits précédemment afin d'évaluer l'incidence d'une lésion dopaminergique de la SNc sur la morphologie des synapses des neurones du PBN. Trois rats par groupe ont été utilisés (N=9) pour cette procédure.

5.7.1 Traçage anatomique antérograde :

Deux semaines après l'injection de la 6-OHDA, les rats étaient opérés une seconde fois afin d'injecter un traceur antérograde, le *Phaseolus vulgaris leucoagglutinin* (*PHA-L* 2,5%, Vector Labs, Peterborough, UK) au sein de la substance noire réticulée par iontophorèse (courant anodique de 5 μ A, selon des cycles on/off de 7s pendant 20min). La substance noire réticulée étant connue pour se projeter sur les neurones du noyau parabrachial (Schneider et al., 1986) nous avons vérifié la présence de *PHA-L* au niveau du PBN par immunohistochimie. Pour cela, les animaux étaient euthanasiés et leur cerveau prélevés selon la même méthode décrite précédemment. Après avoir été coupées au cryostat (épaisseur de 30 μ m), des coupes flottantes de cerveau situées au niveau du PBN étaient lavées dans du PB 0,1M puis incubées dans du PB-TX 0,3% pendant 30min afin de perméabiliser les membranes. Les coupes étaient ensuite incubées avec un anticorps primaire (anti-*PHA-L*, Vector Labs, obtenu chez la chèvre) à une concentration de 1 :1000 sur la nuit. Le lendemain, les coupes étaient lavées dans du PB-TX 0.3% puis incubées 2h dans un anticorps secondaire biotinylé produit chez le lapin et dirigé contre les anticorps de chèvre (anti-goat IgG, Vector Labs, 1 :100, dilué dans du PB 0,1M contenant 2% de sérum de lapin). Après lavage au PB 0.1M les coupes étaient transférées dans une solution de kit ABC-peroxydase (Elite Vectastain ABC reagent, Vector Labs, 1 :100 dilué dans du PB-TX 0.3%) pendant 2h. Enfin, la présence de peroxydase associée au *PHA-L* était révélée par réaction chromogène avec du 3,3'-Diaminobenzidine (DAB, Vector Labs) après ajout d'une goutte de H₂O₂ pour initier la réaction. La réaction était arrêtée après 1 minute par du PB 0.1M, les coupes étaient alors montées sur des lames gélatinées puis déshydratées dans des bains d'alcool de titres croissants, lavées dans du Xylène, recouvertes de DPX et protégées sous une lamelle de verre. Les coupes d'intérêt étaient ensuite numérisées et la présence de *PHA-L* vérifiée (Nikon Eclipse 80i, TRIBVN, v2.9.2, Chatillon, France).

5.7.2 Préparation du tissu pour la microscopie électronique :

Les coupes marquées par immunohistochimie sur lesquelles le *PHA-L* et le PBN étaient clairement visibles étaient ensuite incluses dans une résine époxy. Pour ce faire, les échantillons étaient lavés, post-fixés avec 1% de tétroxyde d'osmium (OsO₄, Sigma Aldrich)

dans un tampon phosphate, 0,1M pH 7,2 pendant 25 minutes, colorés avec de l'acétate d'uranyle 1% ($C_4H_8O_6U$, Sigma Aldrich) dilué dans de l'éthanol à 70% à pH 4 pendant 40 minutes à l'obscurité. Les échantillons étaient ensuite déshydratés par une série de bains d'éthanol de titres croissants avant d'être coulés dans une résine époxy (Flukka) prise entre deux feuilles d'Aclar. La résine d'époxy était placée 72h dans un four à 60°C pour polymérisation. Après trois jours, les feuilles d'Aclar étaient retirées et les échantillons coupés avec un ultra-microtome (Leica ultracut). Les sections étaient colorées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb avant d'être examinées au microscope électronique à transmission à 80 kV (JEOL 1200EX). Des images ($n=40$ par animal) sur lesquelles des synapses étaient clairement identifiables étaient prises à un grossissement de 12 000x à 50 000x avec un appareil photo numérique (Veleta, Olympus). Ces synapses étaient ensuite mesurées avec le logiciel ITEM (Soft Imaging System). Ces expériences ont été réalisées au sein de la plateforme de microscopie électronique de l'institut.

5.8 Test de la *Hot-Plate* :

Ce test consiste à placer l'animal sur une surface métallique chauffée à une température élevée constante dépassant le seuil nociceptif (généralement $50^\circ C < t < 55^\circ C$; Deuis et al., 2017) et entourée par un cylindre de plexiglass transparent (**Figure 27**). L'expérimentateur doit alors regarder attentivement le comportement du rat afin de mesurer le temps (en secondes) que met l'animal à montrer les premiers signes d'inconfort. Généralement ces signes s'expriment sous la forme d'un retrait des pattes parfois suivi d'un léchage ou sous la forme de sauts. La latence entre le moment où l'animal est déposé sur la plaque chaude et les premiers signes d'inconfort est alors notée et l'animal est rapidement retiré de la surface avant de retourner dans sa cage. Le temps que passe le rat sur la plaque chaude n'excède jamais 30s. Le test était entièrement filmé ce qui permettait une seconde analyse plus fine *a posteriori*.

Cette procédure a été réalisée au cours de la 1^{ère} et de la 2^{nde} étude. Lors de la 1^{ère} étude, visant à évaluer le rôle fonctionnel du NST dans la nociception, 20 rats ont été utilisés (8 contrôles, 12 avec une lésion bilatérale du NST). Lors de la 2^{nde} étude, cette procédure a été réalisée sur les trois groupes expérimentaux décrits précédemment afin d'évaluer l'incidence d'une lésion dopaminergique de la SNc sur les seuils de douleur des animaux. Au total 38 rats ont été testés lors de la 2^{nde} étude (14 contrôles, 13 lésions partielles, 11 lésions totales). Les rats étaient testés trois semaines après la chirurgie lésionnelle, dans les deux études.

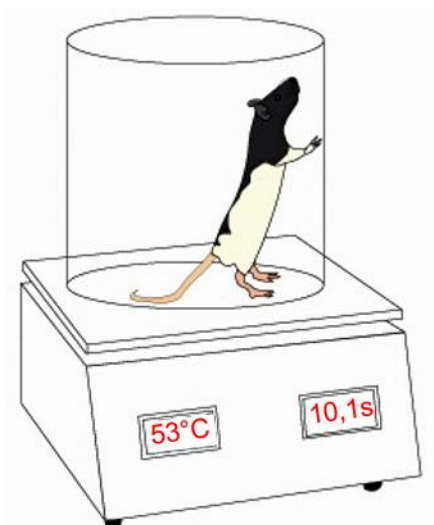


Figure 27: Test de la plaque chauffante ou « Hot-plate test ». Le rat est placé sur une plaque chauffée à une température constante (dans ce cas, 53°C). Le temps que met l'animal à présenter les premiers signes d'inconfort est alors noté (ici, 10.1s). Il n'excède jamais 30s. Dans le cas où le rat ne présente pas de signes d'inconfort après 30s, il est retiré de la plaque et la latence de 30s est retenue.

5.9 Tests statistiques :

Tous les tests statistiques ont été réalisés avec le logiciel GraphPad Prism v6.01. La fiabilité statistique, pour l'ensemble des données présentées, a été évaluée avec un test statistique approprié (détail fourni dans le matériel et méthodes des études correspondantes). Ainsi, dans la plupart des cas pour la 1^{ère} étude, des *two-tailed t-tests* ou des tests de Wilcoxon ont été utilisés. Dans la 2^{nde} étude, comparant trois groupes expérimentaux, les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide d'une analyse ANOVA suivie du test de comparaison multiple *post-hoc* de Tukey. Les comparaisons des durées de réponse, des latences de réponse, des amplitudes maximales et des moyennes de réponse avant et après les injections de muscimol dans le SNr ont été testées à l'aide d'une Two-way-ANOVA sur des mesures répétées suivies par le test de comparaison multiple *post-hoc* de Bonferroni. Le changement de la fréquence de décharge moyenne du NST/PBN avant et après la stimulation nociceptive a été évalué pendant les 500ms qui ont précédé la stimulation contrôles (stimulateur éteint) et les stimulations nociceptives. Les données ont été importées dans MATLAB, regroupées et comparées à l'aide d'un test de Wilcoxon. Les patterns de décharges des neurones du NST/PBN ont également été évalués à l'aide de MATLAB, selon la méthodologie développée par Pierrat et al (2011). Les neurones ont été classés comme irréguliers, réguliers ou burstés selon la répartition des *interspike* et les autocorrélogrammes. L'activité burstée a montré une distribution à intervalle large ou bimodal et un pic unique significatif sur les autocorrélogrammes. L'activité irrégulière était caractérisée par une large répartition des intervalles *interspike* et un autocorrélogramme plat. L'activité régulière était caractérisée par

une distribution *interspike* étroite et un autocorrélogramme avec de multiples pics réguliers. Les résultats sont représentés dans le texte sous la forme de : moyenne \pm SEM. Le seuil de significativité a été fixé à $p < 0,05$.

III. Résultats

6 – Résultats

Etude 1 : Découverte d'un nouveau réseau nociceptif liant le noyau subthalamique au traitement de l'information nociceptive

Les résultats de l'étude 1 sont présentés sous la forme d'un article publié dans le journal eLife en août 2018 intitulé: '*Revealing a novel nociceptive network that links the subthalamic nucleus to pain processing*' et dont je suis co-auteur. Dans cet article, nous nous sommes attachés à décrire, sur les plans anatomique et fonctionnel, une connexion jusqu'alors non reportée dans la littérature entre le PBN et le NST. Cette connexion revêt une importance particulière à la fois dans le fonctionnement normal du cerveau et dans le contexte Parkinsonien. En effet, la littérature récente s'intéressant au NST semble désigner un rôle fondamental de ce noyau dans sa capacité à interrompre les comportements en cours et ce, dans le but de rectifier les actions menant à des conséquences négatives (Wessel et al., 2016; Jahanshahi et al., 2015) dont la douleur est exemple typique. Il est ainsi intéressant de noter que les patients atteints de la maladie de Parkinson (MP) présentent des déficits liés à cette fonction essentielle du NST (Terao et al., 2011; Redgrave et al., 2010). Les patients Parkinsoniens sont également plus sensibles aux stimulations nociceptives et de nombreuses études reportent, chez ces patients, des sensations douloureuses bizarres dont les origines sont encore débattues (Snider et al., 1976; Zambito-Marsala et al., 2011; Blanchet & Brefel-Courbon, 2017). Il semble cependant que ces douleurs soient directement liées à un dysfonctionnement des voies nociceptives centrales (Zambito-Marsala et al., 2017). Cette hypothèse est d'ailleurs appuyée par les effets bénéfiques obtenus par la stimulation à haute fréquence du NST, sur la symptomatologie douloureuse Parkinsonienne (Dellapina et al., 2012; Sürücü et al., 2015). Cependant le lien entre nociception et NST reste largement sous-exploré.

Dans cet article nous décrivons donc, par électrophysiologie *in vivo* :

- 1) la présence de réponses phasiques (hausse/diminution transitoire du taux de décharge consécutive aux stimulations) à des stimuli nociceptifs au sein de neurones unitaires du NST.
- 2) la présence de réponses toniques (hausse/diminution à long terme du taux de décharge consécutive aux stimulations) à des stimuli nociceptifs au sein de neurones unitaires du NST.

De plus, nous démontrons le rôle fonctionnel du NST dans la nociception lors d'une expérience comportemental (hot-plate). Dans cette expérience, les latences avant les premières manifestations d'inconfort d'animaux contrôles et d'animaux ayant subi une lésion bilatérale du NST sont comparées. Comme attendu, les animaux lésés présentent des latences

augmentés et ce test comportemental, venant en complément des mesures électrophysiologiques déjà réalisées, vient appuyer le rôle du NST dans la nociception.

De plus, dans une troisième série d'expériences, nous identifions le noyau parabrachial, une structure pontine clé dans la nociception, comme relai de l'information nociceptive au NST. En effet l'inhibition pharmacologique ou la destruction à l'acide iboténique de ce noyau entraîne une diminution drastique des réponses nociceptives enregistrées au sein des neurones du NST. Enfin, des expériences de traçage neuro-anatomiques réalisées à l'aide de traceurs antérogrades au sein du PBN et rétrogrades au sein du NST confirmeront cette connexion.



Revealing a novel nociceptive network that links the subthalamic nucleus to pain processing

Arnaud Pautrat^{1,2}, Marta Rolland^{1,2}, Margaux Barthelemy^{1,2}, Christelle Baunez³, Valérie Sinniger^{2,4}, Brigitte Piallat^{1,2}, Marc Savasta^{1,2}, Paul G Overton⁵, Olivier David^{1,2}, Veronique Coizet^{1,2*}

¹Inserm, Grenoble, France; ²Grenoble Institute of Neurosciences, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France; ³Institut de Neurosciences de la Timone, Aix-Marseille Université, Marseille, France; ⁴Service d'Hépatogastroentérologie, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France; ⁵Department of Psychology, University of Sheffield, Sheffield, United Kingdom

Abstract Pain is a prevalent symptom of Parkinson's disease, and is effectively treated by deep brain stimulation of the subthalamic nucleus (STN). However, the link between pain and the STN remains unclear. In the present work, using in vivo electrophysiology in rats, we report that STN neurons exhibit complex tonic and phasic responses to noxious stimuli. We also show that nociception is altered following lesions of the STN, and characterize the role of the superior colliculus and the parabrachial nucleus in the transmission of nociceptive information to the STN, physiologically from both structures and anatomically in the case of the parabrachial nucleus. We show that STN nociceptive responses are abnormal in a rat model of PD, suggesting their dependence on the integrity of the nigrostriatal dopaminergic system. The STN-linked nociceptive network that we reveal is likely to be of considerable clinical importance in neurological diseases involving a dysfunction of the basal ganglia.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.001>

***For correspondence:**

veronique.coizet@univ-grenoble-alpes.fr

Competing interests: The authors declare that no competing interests exist.

Funding: See page 25

Received: 13 March 2018

Accepted: 06 August 2018

Published: 28 August 2018

Reviewing editor: Peggy Mason, University of Chicago, United States

© Copyright Pautrat et al. This article is distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use and redistribution provided that the original author and source are credited.

Introduction

Pain is highly prevalent in Parkinson's disease (PD) and includes primary symptoms assumed to originate from a dysfunction of the central nervous system. Patients describe bizarre and unexplained painful sensations such as burning, stabbing, aching, itching or tingling sensations, predominating on the more affected side (Schestatsky et al., 2007). These symptoms are not directly related to the pain caused by the motor symptoms (Ha and Jankovic, 2012). Sensitivity to noxious stimulation is also increased in patients with PD, with or without pain symptoms (Berardelli et al., 2012; Brefel-Courbon et al., 2013; Tinazzi et al., 2008), and their nociceptive threshold is altered (Chudler and Dong, 1995; Conte et al., 2013; Djaldetti et al., 2004). Although it is well known that PD affects the basal ganglia, there is to date no clear description of a link between the basal ganglia and the cerebral network involved in pain. Interestingly, deep brain stimulation of the subthalamic nucleus (STN-DBS) in PD, a valuable and effective therapeutic technique for motor symptoms (Krack et al., 2003; Limousin et al., 1998), has also been shown to reduce pain (Cury et al., 2014; Hanagasi et al., 2011; Kim et al., 2008; Klingelhofer et al., 2014). By contrast, the effects of dopamine replacement therapy on the pain symptoms in PD are controversial, with some investigations reporting an improvement, no effect or an aggravation of pain symptoms or nociceptive thresholds (Conte et al., 2013; Dellapina et al., 2011). These variable results of dopamine replacement therapy indicate a role for other systems in the pain symptoms observed in PD. Importantly in

eLife digest Parkinson's disease is a condition affecting the human brain that becomes worse over time. The most common symptoms are tremors, muscle spasms and movements that are much slower than normal; all of which decrease an individual's quality of life. Although there is currently no cure, the brain structures involved in Parkinson's disease are known. These are collectively termed the basal ganglia, and are often targeted to treat the symptoms of Parkinson's disease. For example, electrically stimulating the subthalamic nucleus (STN), one part of the basal ganglia, reduces muscle tremors and stiffness.

Pain is another common symptom in Parkinson's disease. Patients often report strange burning or stabbing sensations with no obvious physical cause. They are also likely to be more sensitive to painful stimuli and have a lower pain threshold than normal. This suggested that the brain circuits that allow us to perceive and process pain could be somehow involved in Parkinson's disease. Indeed, stimulating the STN is known to relieve pain in Parkinson's disease, as well as the muscle symptoms, but exactly how the STN might link up with the brain's 'pain network' remains poorly understood. Pautrat et al. therefore set out to explore the connection between pain networks and the STN, and determine its potential role in Parkinson's disease.

First, the electrical activity of nerve cells in the STN of rats was measured, which revealed that these cells do respond to mildly painful sensations. Experiments using dyes to label cells in both the STN and brain structures known to transmit painful signals showed that the STN was indeed directly linked to the brain's pain network. Moreover, rats with a STN that did not work properly also responded abnormally to painful stimuli, confirming that the STN did indeed influence their perception of pain. Finally, Pautrat et al. repeated their measurements of electrical activity in the STN, this time using rats that lacked the same group of nerve cells affected in the basal ganglia of patients with Parkinson's disease. Such rats are commonly used to model the disease in laboratory experiments. In these rats, the STN cells responded very strongly to painful stimuli, suggesting that problems with the STN could be causing some of the pain symptoms in Parkinson's disease.

This work reveals a new role for the STN in controlling responses to pain, both in health and disease. Pautrat et al. hope that their results will inspire research into more effective treatments of nerve pain in both Parkinson's disease and other neurodegenerative conditions.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.002>

the present context, it has been demonstrated that pain relief following STN-DBS is superior to that following dopaminergic treatment, further positioning STN as a crucial structure in pain symptoms in PD and their relief (*Sürücü et al., 2013*).

The mechanism by which STN-DBS improves pain in PD patients remains unclear, which raises a fundamental question about the link between the subthalamic nucleus (STN) and pain. Preliminary evidence suggests that noxious stimulation can modulate background activity in the STN, at least in the Parkinsonian brain (*Belasen et al., 2016; Heise et al., 2008*). As a consequence, the STN could be linked to a nociceptive network involved in the perception of noxious stimuli, although this has yet to be explored fully. Despite the classical description of a sensory territory in the STN (*Alexander et al., 1986*) and the functional impact that STN sensory responses could have on the basal ganglia (*Baunez et al., 2011*), there is a paucity of information in the literature regarding the type of sensory stimuli that activate this structure and the afferent sensory source(s) (*Coizet et al., 2009; Hammond et al., 1978; Matsumura et al., 1992*). Two major subcortical central targets for ascending nociceptive information from the spinal cord are potential relays for nociceptive information to the STN: the superior colliculus (SC) and the parabrachial nucleus (PBN) (*Hylden et al., 1989; Craig, 1995; Klop et al., 2005; McHaffie et al., 1989*).

We have shown that the SC, a highly conserved but evolutionarily ancient subcortical multi-sensory structure, directly projects to the STN and is the primary, if not exclusive, source of visual input into the STN (*Coizet et al., 2009; Tokuno et al., 1994*). This projection shows that subcortical hyper-direct pathways exist between brainstem sensorimotor structures and the STN which predate, from an evolutionary perspective, those from the cortex — thus reinforcing the position of the STN as a critical input structure processing short latency visual signals in the basal ganglia (*Baunez et al.,*

2011). The substantia nigra pars compacta (SNc) is also on the input side of the basal ganglia and we have shown that SNc receives nociceptive-related afferents from the PBN (Coizet et al., 2010), raising the possibility that the STN may also receive such inputs.

It is interesting to note that the STN is well known to project heavily to basal ganglia output structures such as the substantia nigra pars reticulata (SNr) (Alexander et al., 1986; Gurney et al., 2001), which in turn projects to the SC and PBN (Schneider, 1986; Deniau and Chevalier, 1992), linking the STN, SNr and SC/PBN anatomically. With the STN in a position to modulate a nociceptive network involving the SC/PBN, the elevated activity in the STN in Parkinsonism (Bergman et al., 1994; Albin et al., 1995) could underlie some of the unexplained pain symptoms in this disease, with STN-DBS acting (at least in part) locally to achieve its analgesic effects. Nociceptive processing in the STN would also be consistent with the nucleus's role as part of the brain's interrupt circuitry (Jahanshahi et al., 2015), terminating behaviors that achieve negative outcomes, of which pain is a clear example.

Therefore, the main objective of the present work was to characterize the link between STN and nociception, answering the following questions:

Does the STN process nociceptive information? We explored the possibility that noxious stimulation could induce nociceptive responses in the rat STN with in vivo electrophysiology.

Is the STN linked to a nociceptive network? We tested the potential role of the SC and PBN in the transmission of nociceptive information to the STN, both physiologically and, in the case of the PBN, anatomically.

Can manipulation of the integrity of the STN change nociceptive responses measured behaviorally? We tested STN-lesioned and sham-operated rats using a hotplate test.

Finally, to examine the hypothesis that STN dysfunction could underlie some of the pain symptoms observed in PD, we evaluated whether STN nociceptive responses were abnormal in a rat model of PD.

We present convergent evidence that the STN is functionally linked to a nociceptive network and that STN nociceptive responses are affected in Parkinsonism. The objectives above are summarized in *Figure 1*.

Results

Nociceptive responses in STN

STN neurons

A total of 98 cells were recorded across the STN (*Figure 2A*). The STN neurons sampled in the present study were characterized by a triphasic action potential in the majority of cases ($n = 88$, mean duration = 2.1 ± 0.06 ms), the remaining cells having a biphasic action potential ($n = 10$, mean duration 1.58 ± 0.12 ms) (*Figure 2B*). The STN cells had a mean baseline firing rate of 7.39 Hz (± 0.53 Hz) and exhibited various spontaneous patterns of activity such as an irregular pattern ($n = 42$, 43%), a regular pattern ($n = 26$, 27%) and a bursting pattern ($n = 20$, 20%) (*Figure 2C*). The remaining cells ($n = 10$, 10%) exhibited a mixture of these features. These electrophysiological characteristics are concordant with those reported elsewhere in the literature in anesthetized rats (Hassani et al., 1996; Kreiss et al., 1996; Hamani et al., 2004).

Phasic response

Following noxious stimulation performed on the contralateral hindpaw (120, 0.5 Hz), 19 STN cells remained unresponsive (19%) whereas 79 STN neurons (81%) exhibited a phasic response to the footshock with several patterns of response:

- I. Monophasic excitation ($n = 42$): the response consisted of a monophasic excitation. This type of response could be subdivided into two categories according to their latencies and durations:
 1. Monophasic short/long ($n = 20$, *Figure 3Aa*): the cells exhibited a short-latency, long-duration excitation.
 2. Monophasic short/short ($n = 17$, *Figure 3Ab*): the cells exhibited a short-latency, short-duration excitation.

| | Objectives | Methods | Methods illustrations |
|---|--|---|---|
| What is the link between nociception and STN ? | Are STN neurons responsive to noxious stimulation ? | Extracellular electrophysiology | <p>Can a noxious stimulus activate the STN ?</p> <p>STN single unit recording</p> |
| | Where is the nociceptive information coming from ? | Extracellular electrophysiology | <p>Can a pharmacological blockade of SC suppress STN nociceptive responses ?</p> <p>STN single unit electrode, SC multi-unit electrode, SC canula (muscimol - GABA agonist)</p> <p>Can a lesion of SC reduce the occurrence of STN nociceptive responses ?</p> <p>STN single unit electrode, SC ibotenic acid lesion</p> |
| | Hypothesis 1: Superior colliculus (SC) Hypothesis 2: Parabrachial nucleus (PBN) | | <p>Can a pharmacological blockade of PBN suppress STN nociceptive responses ?</p> <p>STN single unit electrode, PBN multi-unit electrode, PBN canula (muscimol - GABA agonist)</p> <p>Can a lesion of PBN reduce the occurrence of STN nociceptive responses ?</p> <p>STN single unit electrode, PBN ibotenic acid lesion</p> |
| Is STN anatomically linked to a nociceptive network ? | Tract tracing neuro-anatomy | <p>Retrograde tracers in STN</p> <p>Anterograde tracers in PBN</p> <p>SC → STN: Tokuno et al., 1994; Coizet et al., 2009 PBN → STN: ?</p> | |
| Is STN functionally relevant for nociceptive perception ? | Does a lesion of STN change the rat nociceptive response ? | Behavioral assessment | <p>STN Ibotenic acid lesion (or vehicle)</p> <p>Hot plate test</p> |
| Parkinson's disease and STN nociceptive responses | Are STN nociceptive responses abnormal in a rat model of Parkinson's disease ? | Extracellular electrophysiology | <p>Dopaminergic lesion: 6-OHDA in SNc (or vehicle)</p> <p>STN single unit recording</p> |

Figure 1. Summary of the objectives and methods.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.003>

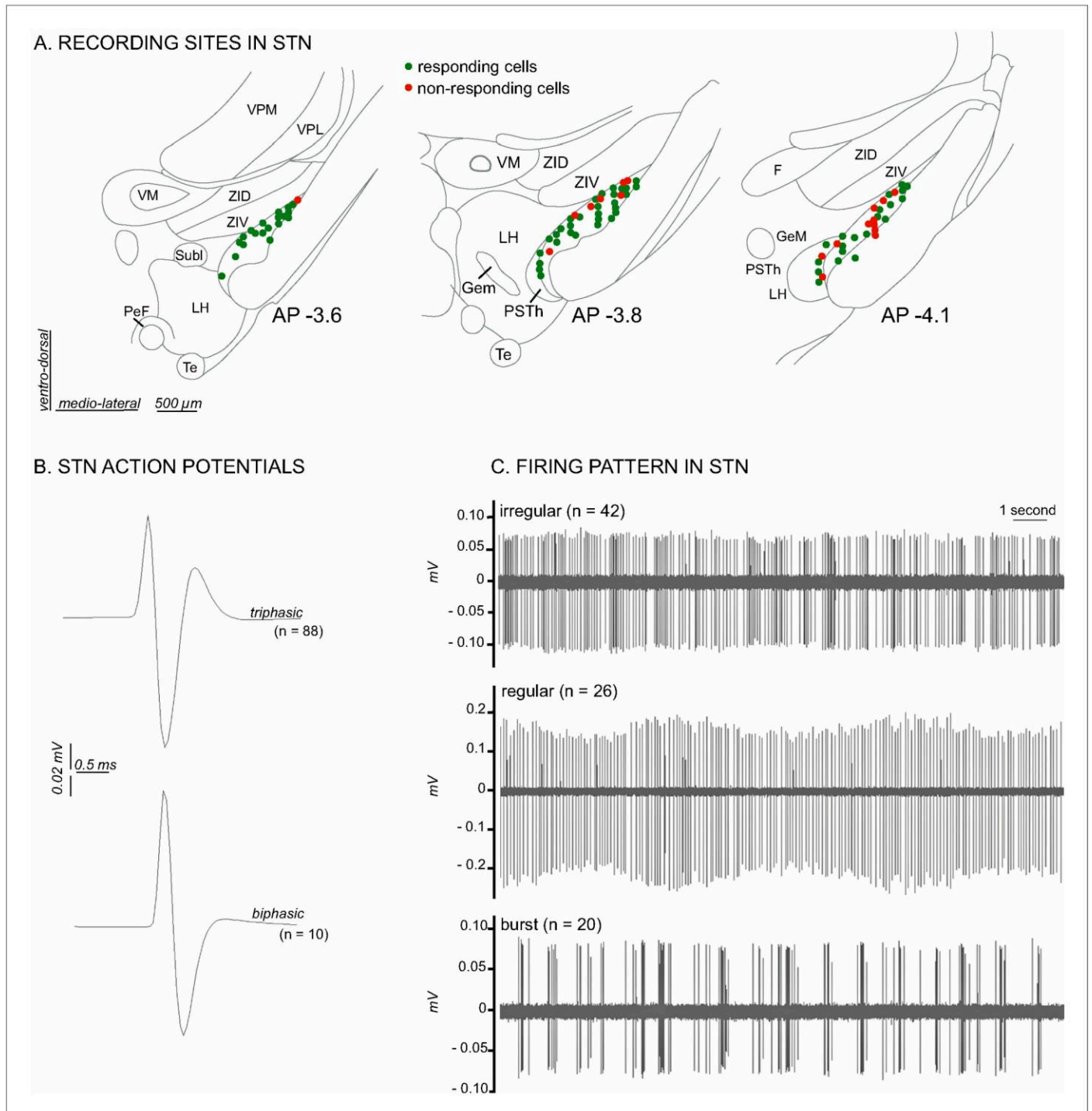


Figure 2. Histological and electrophysiological markers of recorded STN neurons. (A) Location of recording sites within the STN. Note that the number of non-responding cells is higher in the caudal part of the STN. (B) Example of triphasic (top) and biphasic (bottom) spike waveforms of STN neurons. (C) Individual recordings illustrating STN irregular (top), regular (middle) and in burst (bottom) firing patterns. Abbreviations: F, nucleus of the fields of Forel; GeM, Gemini hypothalamic nucleus; LH, lateral hypothalamic area; PeF, perifornical nucleus; PSTh, parasubthalamic nucleus; Subl, subincertal nucleus; Te, terete hypothalamic nucleus; VM, ventromedial thalamic nucleus; VPL, ventral posterolateral thalamic nucleus; VPM, ventral posteromedial thalamic nucleus; ZID, zona incerta, dorsal part; ZIV, zona incerta, ventral part.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.004>

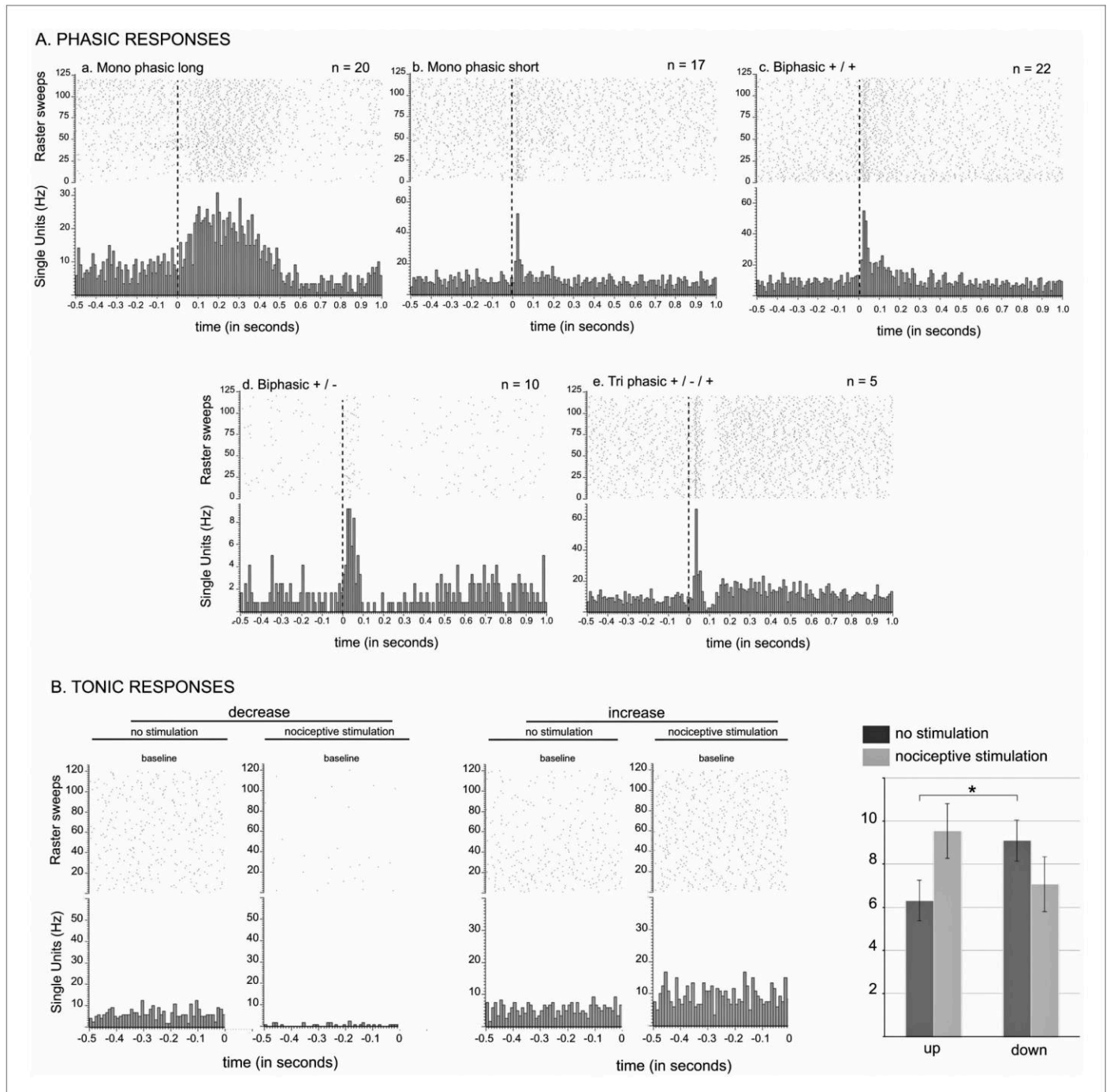


Figure 3. STN nociceptive phasic and tonic response. (A) Phasic responses. Peristimulus histograms showing individual cases of different types of phasic noxious-evoked responses in the STN. The dashed vertical line indicates the onset time of the nociceptive footshock. The n associated with each histogram indicates the number of cases exhibiting that class of response; total n = 98. (B) Tonic responses. Peristimulus histograms showing individual cases of decreased (left) and increased (right) STN baseline firing rate with the nociceptive stimulation. Histograms of the group mean data (\pm standard error of the mean [SEM]) during the sham (dark gray) and nociceptive (light gray) stimulation. The histograms show a significant increase or decrease of the baseline firing rate in the up ($p < 0.001$) and down groups ($p < 0.001$), respectively, and no effect of the no change group ($p = 0.1272$). Note the higher baseline firing rate of the down cells during the sham stimulation compared to that of the up groups ($p < 0.05$).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.005>

- II. **Biphasic +/+** (n = 22, **Figure 3Ac**): the cells had an initial short-latency, short-duration excitation followed by a longer-latency and longer-duration excitation.
- III. **Biphasic +/-** (n = 10, **Figure 3Ad**): the response in these cells had two phases, a short-latency, short-duration excitation followed by an inhibition.
- IV. **Triphasic +/-/+** (n = 5, **Figure 3Ae**): the response was characterized by an initial short-latency, short-duration excitation, then an inhibition or a marked reduction in firing rate followed by third late-latency and long-lasting excitation.

The remaining phasic responses could not be classified this way (n = 5).

The details of the latencies and durations of each response types can be found in **Table 1** below:

A significantly larger number of non-responding cells were located in the caudal portion of STN ($\chi^2 = 6.94$, $df = 2$, $p < 0.05$, **Figure 2A**). Of the 24 cells activated by noxious stimulation that were tested for multi-modal responses, only three exhibited an excitation in response to non-noxious somatosensory stimulation (light brush), hence the majority were nociceptive-only cells.

Baseline firing rate

The introduction of noxious stimulation induced a statistically significant increase in STN baseline firing rate (Wilcoxon test: $W[97] = -1199$; $p = 0.05$; mean \pm SEM: no noxious stimulation: 7.13 ± 0.51 Hz vs noxious stimulation: 7.78 ± 0.52 Hz). However, we could clearly observe some cells whose baseline firing rate decreased when the footshock was delivered (**Figure 3B**). We therefore performed an individual analysis on each of the 98 STN cells, whether responding to the noxious stimulation or not, to test whether the change of their baseline firing rate after the introduction of the stimulation was statistically robust (Wilcoxon test, $p < 0.05$), and if so, in which direction the change took place. We identified 39 (40%) and 17 (18%) cells showing a significant increase ('up' group) and decrease ('down' group), respectively, in their baseline firing rate with the stimulation, and no significant change for the remaining 42 cells (42%, 'no change' group). Contingency analysis did not reveal a specific topography of their location within STN, or a link to the shape of their action potential or to the presence or absence of a phasic response. Once grouped together in terms of direction, the 'up' and 'down' groups both exhibited a statistically significant change in their baseline firing rate. (Up — Wilcoxon test: $W[38] = -780$, $p < 0.001$; mean \pm SEM: no noxious stimulation 6.31 ± 0.83 Hz vs noxious stimulation 9.09 ± 0.94 Hz. Down — Wilcoxon test: $W[16] = 153$, $p < 0.001$; mean \pm SEM: no noxious stimulation 9.55 ± 1.43 Hz vs noxious stimulation 7.08 ± 1.26 Hz), unlike the 'no change' group (Wilcoxon test: $W[41] = 245$, $p = 0.1272$; mean \pm SEM: no noxious stimulation 6.92 ± 0.65 Hz vs noxious stimulation 6.85 ± 0.67 Hz). Interestingly, the spontaneous firing of STN cells from the 'down' group had a significantly higher firing rate than that of the 'up' and 'no change' groups during the control period (Mann-Whitney test: $U = 225$, $p < 0.05$; mean \pm SEM: 'up' 6.31 ± 0.83 Hz vs 'down' 9.55 ± 1.43 Hz, $U = 261$, $p = 0.05$; mean \pm SEM: 'no change' 6.919 ± 0.65 Hz vs 'down' 9.55 ± 1.43 Hz), whereas the 'up' and 'no change' groups did not differ significantly. This suggests the presence of a separate population of STN neurons that have a higher firing rate.

STN and nociceptive responses: is nociceptive information in the STN functionally relevant?

To evaluate the involvement of STN in nociceptive responses, we tested nociceptive responses in STN-lesioned and sham-operated rats behaviorally using a hot-plate test. The lesions were

Table 1. Response types latencies and durations

| RESPONSE TYPE | PHASE 1 | | PHASE 2 | | PHASE 3 | | |
|---------------|---------|---------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|
| | LATENCY | DURATION | LATENCY | DURATION | LATENCY | DURATION | |
| I. | 1. | 37,80 \pm 3,15 ms | 338.40 \pm 49.79 ms | — | — | — | — |
| | 2. | 20.18 \pm 3.15 ms | 34.47 \pm 3.92 ms | — | — | — | — |
| II. | | 20.00 \pm 3.02 ms | 35.00 \pm 3.86 ms | 97.00 \pm 6.97 ms | 269.00 \pm 40.05 ms | — | — |
| III. | | 23.00 \pm 4.61 ms | 69.00 \pm 19.59 ms | 133.70 \pm 32.76 ms | 176.70 \pm 3.83 ms | — | — |
| IV. | | 16.4 \pm 4.57 ms | 46.4 \pm 7.90 ms | 101.2 \pm 18.56 ms | 28.2 \pm 5.27 ms | 227.6 \pm 43.53 ms | 216.8 \pm 69.3 ms |

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.006>

positioned within specific sub-regions of the STN, sparing the surrounding structures such as the zona incerta or the hypothalamus located above and medial to the STN, respectively. The bi-lateral STN lesions were localized in the posterior half ($n = 6$) or in the anterior/central ($n = 6$) parts of this structure, covering from 8% to 34% of the total surface of both bilateral STN (mean \pm SEM: $20 \pm 2.4\%$) (**Figure 4**).

These partial and highly localized STN lesions affected the nociceptive responses of the rats. Analysis showed a significant increase of the latency to produce the first sign of discomfort from the hotplate in the STN-lesioned group compared to the sham group (mean \pm SEM: control = 10.81 ± 0.83 s; STN lesioned = 14.35 ± 0.9 s; $p < 0.05$).

Where does nociceptive information in the STN come from?

Nociceptive responses in afferent structures

Footshocks produced short-latency, short-duration excitatory responses in the SC and PBN (**Table 2**). The PBN nociceptive responses were smaller in magnitude and amplitude than those in the SC. Footshocks did not change the spontaneous baseline firing rate in the SC or the PBN (SC: $t[7] = 1.218$; $p = 0.13$; PBN: $W = 8$; number of pairs = 11; $p = 0.38$). The latencies of the SC and PBN responses to the stimulation were both significantly shorter than those of the STN (SC-STN: $t[15] = 2.88$; $p < 0.001$; mean \pm SEM: SC 9 ± 0.8 ms vs STN 25.33 ± 5.27 ms; PBN-STN: $t[22] = 3.34$; $p < 0.01$; mean \pm SEM: PBN 11.55 ± 1.35 ms vs STN 24.54 ± 3.13 ms). Given that the response to noxious stimulation in SC and PBN occurs before that in the STN, both SC and PBN could be part of the nociceptive afferent network directed at the STN.

Effect of SC or PBN inhibition on STN nociceptive responses

To test the possibility that the SC or PBN transmits nociceptive signals to the STN, we pharmacologically inhibited their neuronal activity with muscimol, a GABA_A agonist, and evaluated the effect of their temporary inactivation on STN nociceptive responses. Simultaneous recordings were made from SC (multi-unit) and STN (single unit) neurons ($n = 9$) or from PBN (multi-unit) and STN (single unit) neurons ($n = 13$) before and after the delivery of a noxious footshock.

Muscimol in the SC

The injection of muscimol adjacent to the SC electrode decreased the tonic activity in this structure ($t[7] = 4.31$; $p < 0.001$) and abolished the phasic responses altogether in three cases. In the remaining cases, the muscimol produced a significant reduction of the magnitude ($t[4] = 5.49$; $p < 0.01$) and the maximum amplitude ($t[4] = 3.18$; $p < 0.05$), as well as a trend towards the duration of the response ($t[4] = 1.74$, $p = 0.08$), but did not affect the latency ($p = 0.19$). The depression of the SC neuronal activity by muscimol abolished STN nociceptive response in one case (1/9), and significantly reduced the duration of STN nociceptive responses in the remaining cases ($t[7] = 3.27$; $p < 0.05$), with a trend towards a decrease in magnitude, the difference being close to reaching the statistical threshold ($t[7] = 2.31$; $p = 0.054$). The remaining parameters of the response and the baseline firing rate of STN cells were not statistically different to those in the pre-drug period.

Muscimol in the PBN

The injection of muscimol adjacent to the PBN electrode significantly decreased the tonic activity of this structure ($t[10] = 2.59$; $p < 0.05$) and abolished the phasic nociceptive responses in the PBN altogether in two cases. In the remaining cases, the injection of muscimol increased the latencies ($t[8] = 3.12$, $p < 0.01$) and produced a significant reduction in the duration of the response ($t[8] = 3.44$, $p < 0.01$), the magnitude of response ($t[8] = 2.88$; $p < 0.01$) and the maximum amplitude ($t[8] = 3.91$; $p < 0.01$). Unlike the SC, this general depression of PBN neuronal activity by muscimol completely abolished nociceptive phasic responses in five STN cells (5/13, **Figure 5**) and significantly reduced numerous parameters of the remaining STN responses to the stimulation, such as the duration (Wilcoxon test: $W = 31$, number of pairs = 8, $p < 0.05$), magnitude ($t[7] = 4.25$; $p < 0.01$) and maximum amplitude ($t[7] = 3.21$, $p < 0.01$). Neither the latency ($t[7] = 0.04$, $p = 0.48$, ns) nor the baseline firing rate ($t[12] = 0.19$, $p = 0.42$, ns) were significantly affected by the injection of muscimol in PBN.

These results show that PBN pharmacological blockade with muscimol is more effective at reducing STN phasic nociceptive responses.

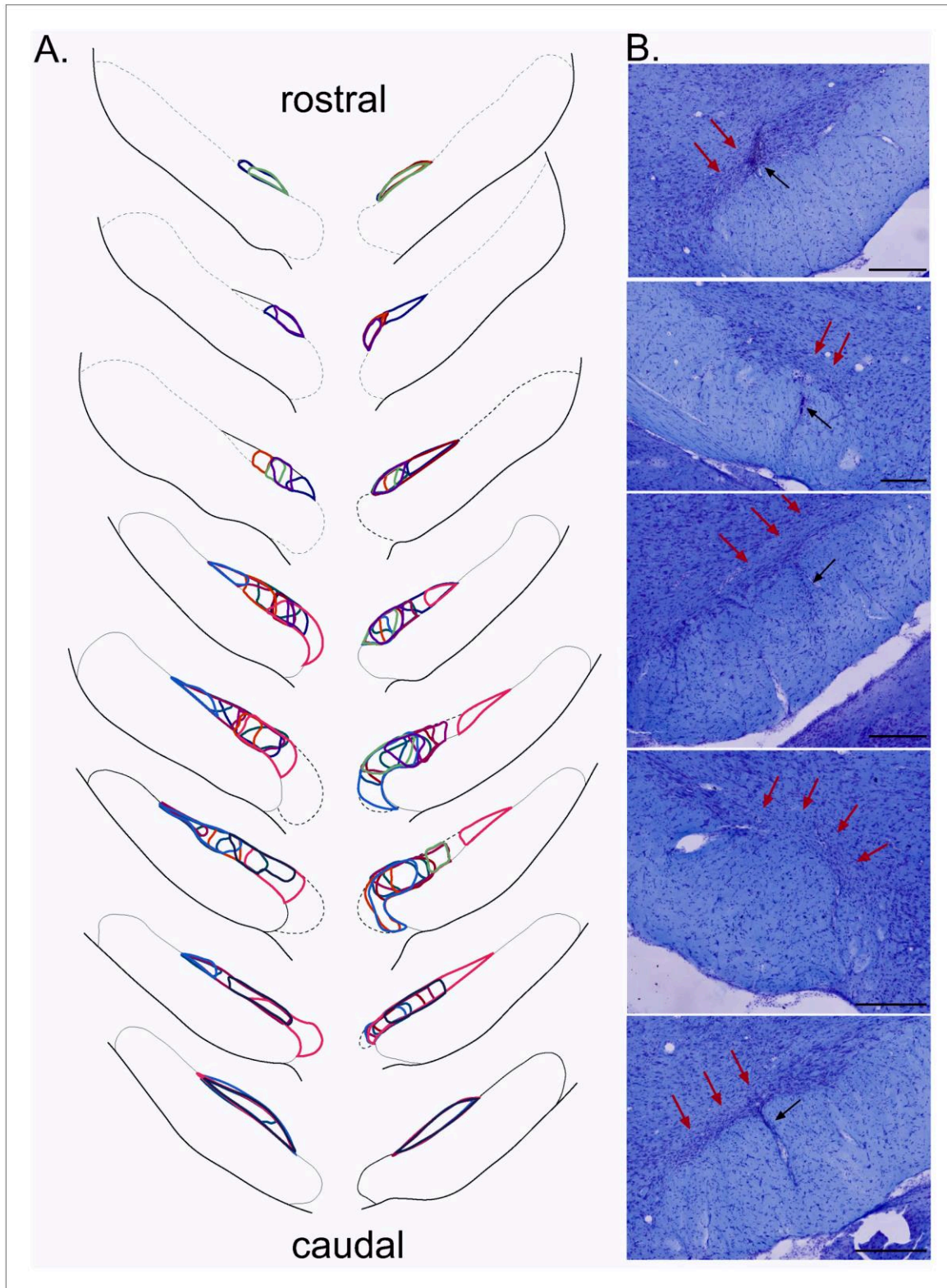


Figure 4. Plots of the STN lesion. (A) Schematic of the ibotenic acid STN lesions, each colour represents the plot of an individual animal. (B) Coronal sections (stained with cresyl violet) of the STN following a bilateral injection of ibotenic acid. Red arrows indicate the location of the lesion and black arrows the tract of the cannula. Scale bars = 400 μ m.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.007>

Table 2. Nociceptive responses in the subthalamic nucleus, superior colliculus and parabrachial nucleus.

| Microinjection of muscimol in the superior colliculus | | | | |
|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | Superior colliculus | | Subthalamic nucleus | |
| | Pre muscimol | Post muscimol | Pre muscimol | Post muscimol |
| Latency | 9 ± 0.8 ms | 7.60 ± 0.68 ms | 25.33 ± 5.27 ms | 28.38 ± 7.75 ms |
| Duration | 19.62 ± 5.00 ms | 14 ± 3.03 ms | 176.13 ± 60.37 ms | 135.74 ± 50.19 ms * |
| Amplitude | 322.29 ± 58.16 Hz | 125.00 ± 26.22 Hz * | 15.61 ± 3.29 Hz | 14.4 ± 2.44 Hz |
| Magnitude | 140.20 ± 28.01 Hz | 45.01 ± 9.16 Hz * | 10.21 ± 1.99 Hz | 7.24 ± 1.41 Hz |
| Baseline FR no footshock | 18.27 ± 2.19 Hz | — | 4.37 ± 0.8 Hz | - |
| Baseline FR footshock | 20.79 ± 2.66 Hz | 7.69 ± 3.00 Hz * | 6.06 ± 1.48 Hz | 6.45 ± 1.38 Hz |

| Microinjection of muscimol in the parabrachial nucleus | | | | |
|--|----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | Parabrachial nucleus | | Subthalamic nucleus | |
| | Pre muscimol | Post muscimol | Pre muscimol | Post muscimol |
| Latency | 11.55 ± 1.35 ms | 19.00 ± 2.48 ms * | 24.54 ± 3.13 ms | 18.43 ± 1.73 ms |
| Duration | 26.45.12 ± 3.85 ms | 14 ± 3.49 ms * | 98.00 ± 27.35 ms | 45.75 ± 12.04 ms * |
| Amplitude | 146.97.42 ± 23.66 Hz | 83.26 ± 17.02 Hz * | 26.98 ± 5.72 Hz | 17.18 ± 3.26 Hz * |
| Magnitude | 45.16 ± 7.45 Hz | 23.70 ± 4.57 Hz * | 10.31 ± 2 Hz | 6.65 ± 1.44 Hz * |
| Baseline FR no footshock | 24.25 ± 1.97 Hz | — | 5.89 ± 0.49 Hz | — |
| Baseline FR footshock | 20.55 ± 2.42 Hz | 14.15 ± 2.76 Hz | 5.50 ± 0.71 Hz | 5.39 ± 0.57 Hz |

Mean ± SEM - * statistically different from pre-muscimol measure.

Abbreviations: cp, cerebral peduncle; IS, injection site; IPBN, lateral parabrachial nucleus; mPBN, medial parabrachial nucleus; scp, superior cerebral peduncle; STN, subthalamic nucleus.

Note: the amplitude of the response is the maximum amplitude during the response and the magnitude of the response is the mean number of single multi-unit events between response onset and offset minus the baseline mean.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.008>

Effect of SC or PBN lesions on STN nociceptive responses

Suppression of SC activity by muscimol only had a small influence on STN phasic nociceptive responses unlike PBN inactivation. However, while the technique of micro-injection offers a temporary inactivation with a possibility of recovery, the comparison of its effects on STN nociceptive responses versus the effects following PBN injections could be affected by the fact that muscimol was less effective at reducing SC phasic responses than those in the PBN, and by the difficulty of evaluating the spread of the injection in the SC and PBN. Therefore, we tested the effect of ipsilateral ibotenic acid lesions of the lateral part of the SC or PBN on STN phasic nociceptive responses.

SC lesion

In all cases (n = 5), the lesion included the lateral SC and extended, in some cases, to the adjacent superficial and/or deep layers of this structure (**Figure 6A and B**). A total of 28 STN cells were recorded in lesioned animals before and after noxious footshocks. Of these cells, 27 (94%) still responded to the noxious stimulation. Analysis of the proportions of responding and non-responding cells comparing the control and SC-lesioned rats showed a significant difference between the two groups ($\chi^2 = 2.98$, $df = 1$, $p < 0.05$), with a larger proportion of responding cells in SC-lesioned rats compared to that in control animals (94% vs 81%). This corresponded to a facilitation of the occurrence of STN nociceptive responses after the removal of the lateral SC.

Analysis of the nociceptive-induced phasic responses in STN showed a close to significant reduction of the duration (Mann-Whitney, $U = 85$, $p = 0.06$), which is consistent with the reduction of duration observed previously after the injection of muscimol in SC. A plot of the distribution of STN responses according to their latency and duration in control and SC-lesioned animals shows that this statistical tendency could be due to the loss of the longer-lasting nociceptive responses in SC-lesioned animals (**Figure 6C**, dotted line box). This is supported by the observation of an increased proportion of short-latency/short-duration response types and a decrease in the proportion of long-

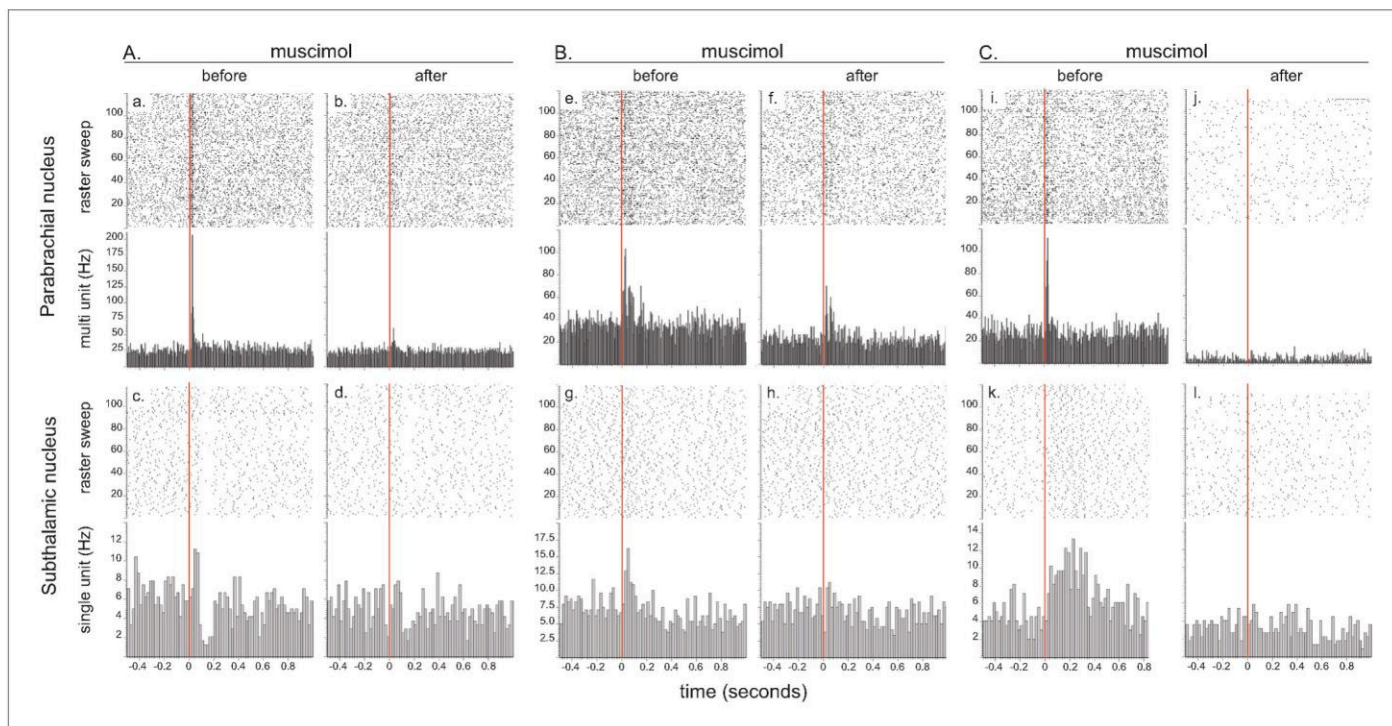


Figure 5. Effect of local injection of muscimol in PBN on STN nociceptive responses. The set of graphs presents the raster displays and peri-stimulus histograms of three single cases (A, B and C) aligned on the presentation of 120 stimuli (electrical footshocks delivered at 0.5 Hz; vertical red line). Prior to the injection of muscimol, both the PBN (a, e, i) and STN (c, g, k) neurons were responsive to the footshock. Following the injection of muscimol into the PBN, local neurons became less responsive (b, f) or unresponsive to the footshock (j) and so did the STN neurons (d, h, l). Note that PBN blockade with muscimol abolished different STN response types such as bipolar +/- (a), monophasic short/short (g) and monophasic short/long (k).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.009>

lasting responses (Figure 6D). The other parameters of the response did not differ significantly and the firing rate was statistically unaffected.

PBN lesion

The injection of ibotenic acid in the PBN induced a near total lesion of this structure in one case, extending over 87% of the PBN. This lesion also affected a small part of the caudal pedunculo-pontine nucleus. In the remaining cases, the lesion was only partial and affected between 30% to 60% of this nucleus (Figure 7A and B).

A total of 30 STN cells were recorded in PBN-lesioned rats before and after noxious footshocks. Although the lesion did not cover the entire PBN, the proportion of responding cells in the STN was significantly reduced, with 15 cells (50%) still responding to the noxious stimulation while the other 15 (50%) did not respond. Analysis of the proportions of responding and non-responding cells comparing the control and PBN lesion rats showed a significant difference between the two groups ($\chi^2 = 11.03$, $df = 1$, $p < 0.001$), with a larger proportion of non-responding cells in PBN-lesioned rats than in control animals (50% vs 19%), representing a significant suppression of STN nociceptive responses after the removal of the PBN. Analysis of the nociceptive-induced phasic responses in the responding STN cells showed a significant reduction of response duration (Mann-Whitney, $U = 378$, $p = 0.05$), which is consistent with the reduction of duration previously observed after the injection of muscimol in PBN. However, contrasting with the responses seen after the pharmacological blockade, the magnitude and maximum amplitude of the responses were not affected. As expected, the latency and the baseline firing rates were not statistically different in the PBN-lesioned and control rats.

A plot of the distribution of STN nociceptive responses according to their latency and duration in control and PBN-lesioned animals shows that most types of response described in control rats

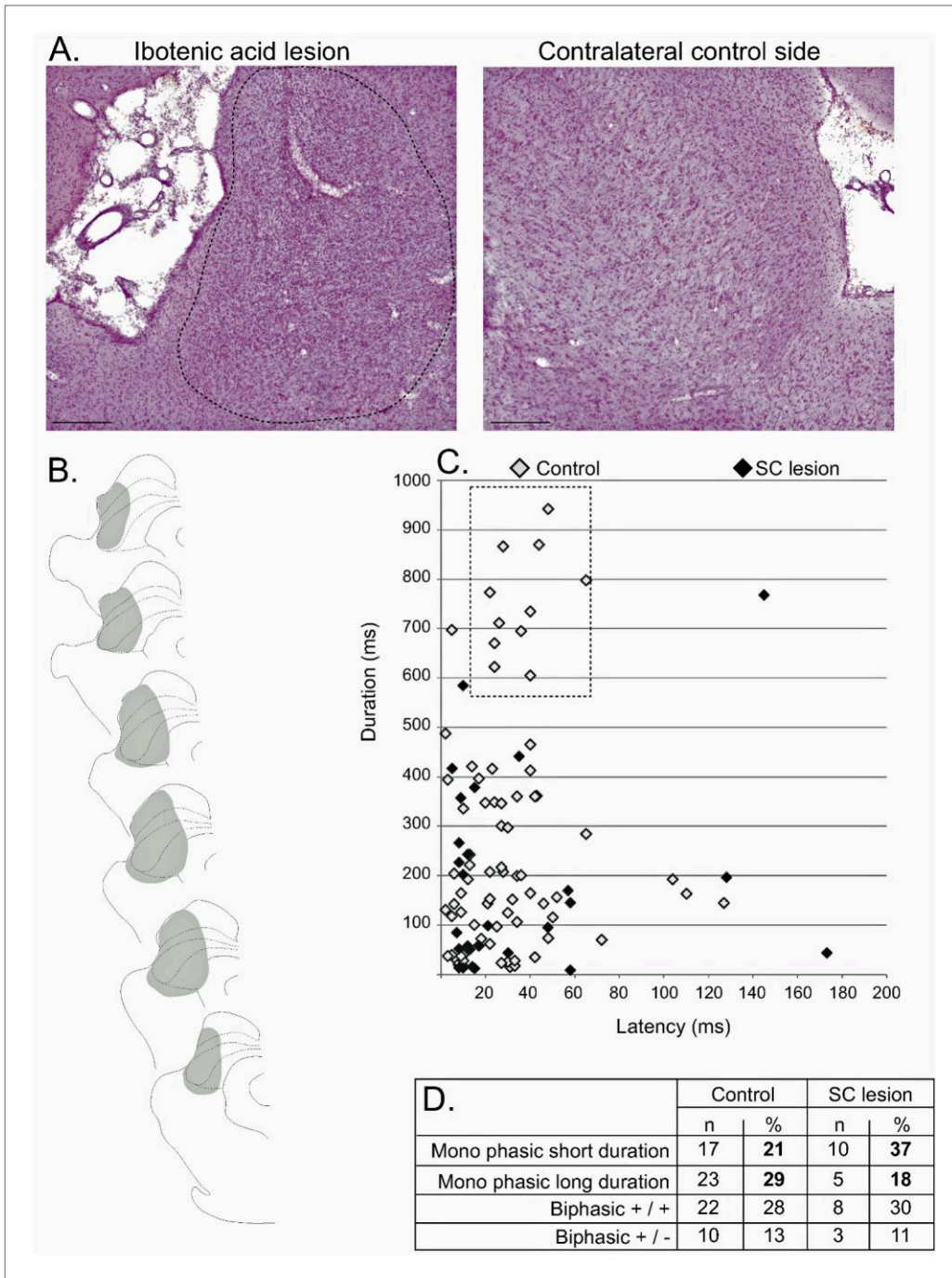


Figure 6. Effect of SC lesion on STN nociceptive responses. (A) Coronal sections (stained with cresyl violet) of the SC following a unilateral injection of ibotenic acid (dotted line, left) and its control contralateral side (right). Scale bars = 500 μ m. (B) Schematic of a typical lesion (in gray) with ibotenic acid in the SC. (C) Plot of STN phasic noxious evoked responses in the STN according to their duration and latency in control (white) and SC lesioned (black) animals. The box outlined with a dotted line highlights the absence of long-duration responses in SC lesioned rats. (D) Table showing the proportions of different STN nociceptive response types in control and SC-lesioned animals. Note that the proportion of STN long-lasting responses decreases in SC-lesioned animals.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.010>

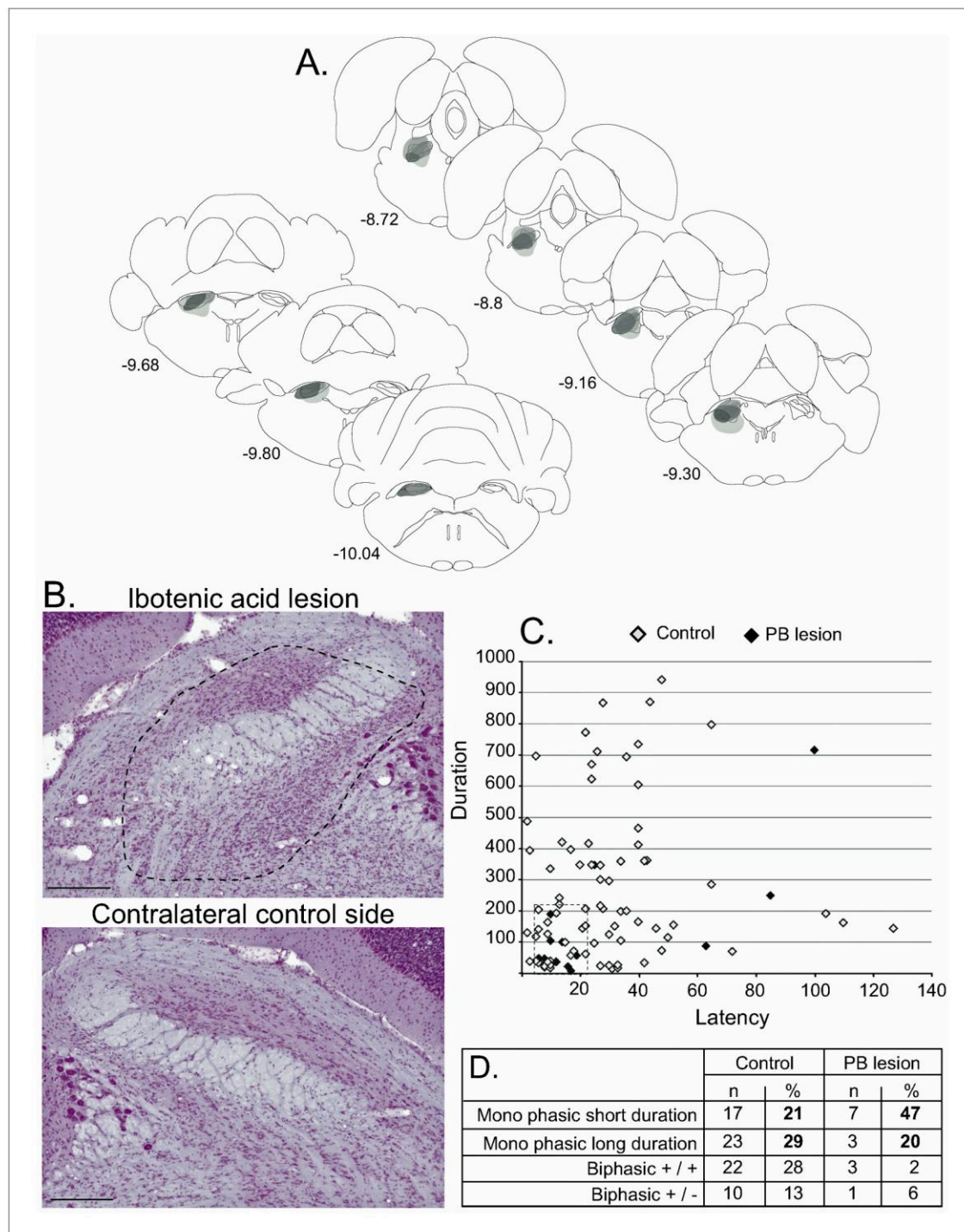


Figure 7. Effect of PBN lesion on STN nociceptive responses. (A) Schematic of the ibotenic acid lesion of the PBN. Each individual lesion is illustrated in a different tone of gray. (B) Coronal sections (stained with cresyl violet) of the parabrachial nucleus following a unilateral injection of ibotenic acid (dotted line, top) and its control contralateral side (bottom). Scale bars = 500 μm. (C) Plot of STN phasic noxious-evoked responses in the STN according to their duration and latency in control (white) and PBN-lesioned (black) animals. Note that PBN lesion abolished all types of STN nociceptive response. (D) Table showing the proportion of STN nociceptive response types in control and PBN-lesioned animals.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.011>

disappeared. A cluster of responding cells with short latencies and durations remained (**Figure 7C and D**).

Anatomical link between the PBN and the STN

Our electrophysiological experiments suggest that the PBN acts as a critical source of nociceptive input into the STN and the SC as a critical modulator of those responses. While the connection between the SC and the STN has been characterized previously (**Coizet et al., 2009; Tokuno et al., 1994**), the functional link between the PBN and the STN was puzzling as a previous neuroanatomical study characterizing afferent connections of the STN reported the absence of labeled terminals and fibers in the STN following the injection of an anterograde tracer in the parabrachial complex (**Canteras et al., 1990**). The characterization of PBN efferent connections has often focused on the amygdala or the hypothalamus, but a close examination of PBN-related fiber pathways, especially to the amygdala, indicates that those fibers are travelling close to (**Saper and Loewy [1980]: Figure 4F**) or even partly within the STN (e.g. **Bernard et al. [1989]: Figure 2J; Sarhan et al. [2005]: Figure 9B3**). Therefore, to better understand the anatomical basis of our electrophysiological data, we re-evaluated the parabrachio-subthalamic pathway using a combination of anterograde and retrograde tract-tracing techniques.

Anterograde tract-tracing

Injections of the anterograde tracers *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin (PHA-I, $n = 4$) or biotinylated dextran amine (BDA, $n = 4$) into the PBN revealed a robust direct projection to the ipsilateral STN and a less substantial projection to the contralateral STN. The ipsilateral ascending fibers leave the PBN in an antero-dorsal direction and pass above and through the dorso-caudal pedunculopontine tegmental nucleus (**Figure 8**). There, they split into three large pathways (**Figure 8A**), a PBN-SC (intermediate and deep layers), a PBN-thalamic and a PBN-nigral ventral projection. PBN-labeled axons traveling to the STN are a rostral extension of the pathway we have described previously (**Coizet et al., 2010**) from the PBN to the dopaminergic neurons in the ventral midbrain, the parabrachio-nigral pathway. A substantial number of fibers continue further forward to the amygdala and the cortex (**Figure 8A**). This parabrachio-subthalamic pathway originates in the lateral and medial PBN (lPBN and mPBN, respectively). Thus, injections of either PHA-I or BDA centered preferentially on the lPBN or the mPBN were both associated with numerous labeled axons and terminals, which were differentially distributed within sub-regions of the STN. PBN fibers and terminals were largely seen in a dorsal sheet that extended across the entire mediolateral axis of the STN (**Figure 8B and C**). Moving rostrally, they further spread across the dorsoventral area of the STN. Many anterogradely labeled boutons were located in the vicinity of labeled fibers (**Figure 8B and C**).

Retrograde tract tracing. To identify the regional distribution and morphology of the parabrachio-subthalamic projection neurons, we injected small quantities of the retrograde tracers Fluoro-gold ($n = 4$) or Cholera toxin subunit B (CTB, $n = 2$) into the STN. The projection to the STN exhibited little topography. Retrogradely labeled neurons were found in all subnuclei of both the ipsilateral and contralateral PBN, and also within the fibers of the superior cerebellar peduncle (cp) (**Figure 9A and B**). The density of the labeled cells was however significantly larger on the ipsilateral side, as confirmed by a three factor (Side: ipsilateral/contralateral; Level: AP 8.8/AP 9.3/AP 9.8; Subdivisions: lateral/medial/cp) repeated-measures ANOVA (Side factor: $F = 9.33$, $df = 1$, $p < 0.05$), and varied within the PBN according to the AP level (interaction between the level and the subdivisions, $F = 4.10$, $df = 4$, $p < 0.05$). The density of the cells increased in the lateral PBN when moving rostrally and the majority of the cells in the mPBN were located in the posterior PBN. PBN neurons that were retrogradely labeled by STN injections were small to medium-sized (mean \pm SEM: $229.25 \pm 8.21 \mu\text{m}^2$, range from 102.1 to $681.10 \mu\text{m}^2$; $n = 184$) with a majority of round (59%) and bipolar (35%) soma and some multipolar cell bodies (6%) (**Figure 9C**).

STN nociceptive responses in a rat model of Parkinson's disease

In a classical rat model of PD induced by an injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA), a neurotoxin that targets dopaminergic neurons (DA), in the SNc, we tested whether STN nociceptive responses were dysfunctional.

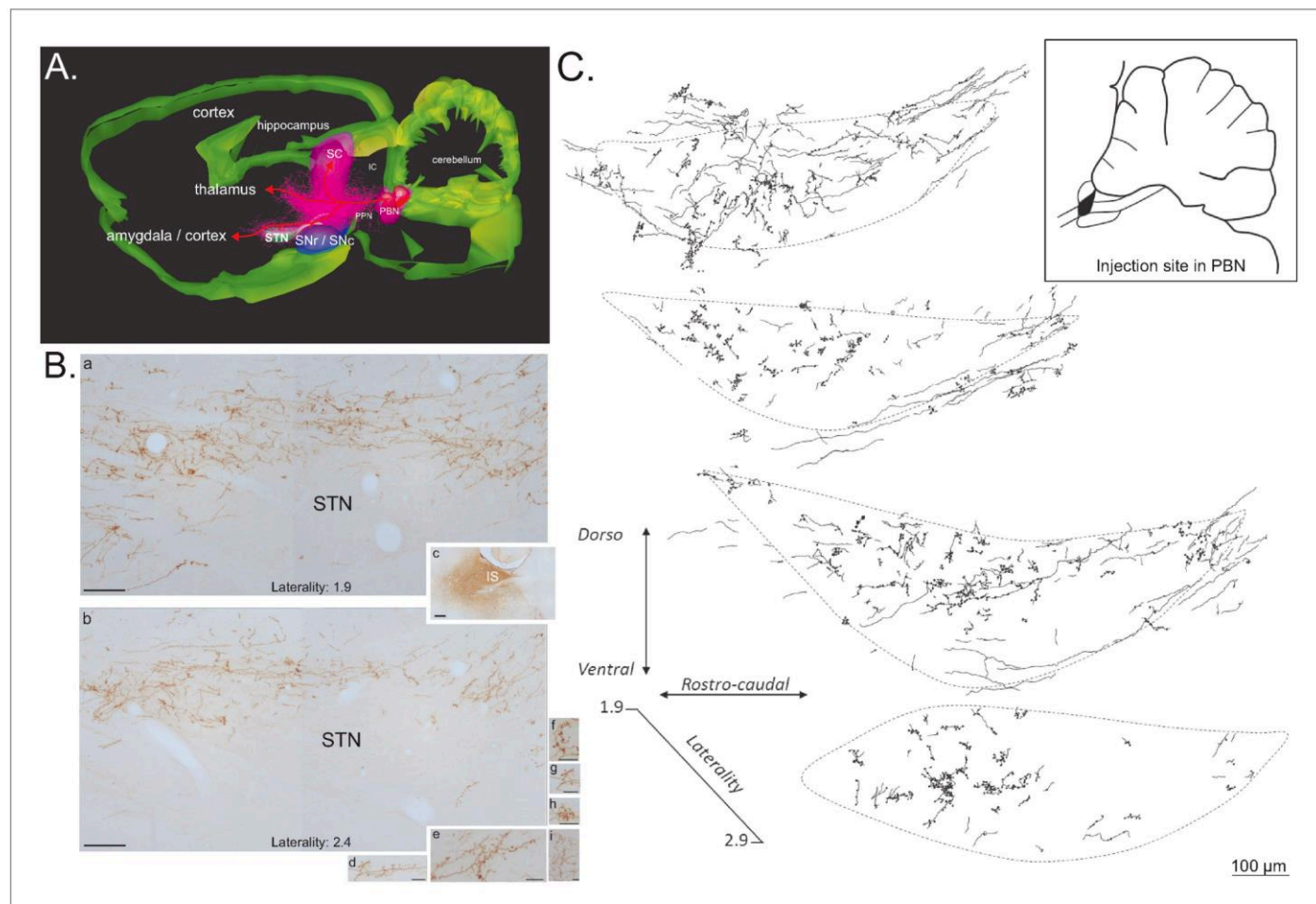


Figure 8. Anterograde tracer in the PBN. (A) 3D renderings of parasagittal brain sections covering the PBN and STN width, illustrating the different bundles leaving the PBN following a local injection of an anterograde tracer (PHAL). (B) Sagittal sections illustrating a PHAL injection site in the lateral PBN (c), associated with labeled terminals in the medial (a) and lateral (b) STN. PBN labeled terminals contain dense synaptic bouton mainly localized in STN dorsal sector (d–i). Scale bars: a–c = 200 μ m, d–i = 20 μ m. (C) Schematic illustrating the location of terminals and synaptic boutons in the STN following the injection of biotinylated dextran amine (BDA) in the lateral portion of the rostral PBN (insert box). Abbreviations: IC, inferior colliculus; IS, injection site; PBN, parabrachial nucleus; PPN, pedunculopontin nucleus; SC, superior colliculus; SNc, substantia nigra pars compacta; SNr, substantia nigra pars reticulata; STN, subthalamic nucleus.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.012>

TH immunohistochemistry was used to assess the extent of the dopamine denervation induced by 6-OHDA in the DA-lesioned rats. TH-labeled neurons on the lesioned side were reduced to an average of $6.13 \pm 0.71\%$ (mean \pm SEM) of those on the unlesioned side, with the remaining neurons located in the medial part of the SNc. The reduced number of dopaminergic cells led to an average decrease of $65.22 \pm 2.08\%$ in the dopaminergic innervation of the striatum.

Totals of 34 and 43 cells were recorded in the control and DA-lesioned rats, respectively. As expected in a model of PD, STN cells had a significantly higher firing rate in DA-lesioned rats compared to controls (mean \pm SEM: control = 8.00 ± 1.04 ms; DA-lesioned = 12.96 ± 2.02 ms; $p < 0.05$, **Figure 3A**). STN responses to nociceptive stimulation were abnormal in the DA-lesioned group. Analysis revealed that STN cells in PD rats exhibited significantly longer responses (mean \pm SEM: control = 84.39 ± 16.75 ms; DA-lesioned = 175.38 ± 39.85 ms, $p < 0.05$) with a greater amplitude (mean \pm SEM: control = 27.81 ± 3.58 ms; DA-lesioned = 40.88 ± 5.91 ms; $p < 0.05$, **Figure 3C**) and magnitude (mean \pm SEM: control = 8.13 ± 1.38 ms; DA-lesioned = 13.11 ± 2.47 ms; $p < 0.05$) compared to the sham control animals. The proportion of cells exhibiting the three levels of STN

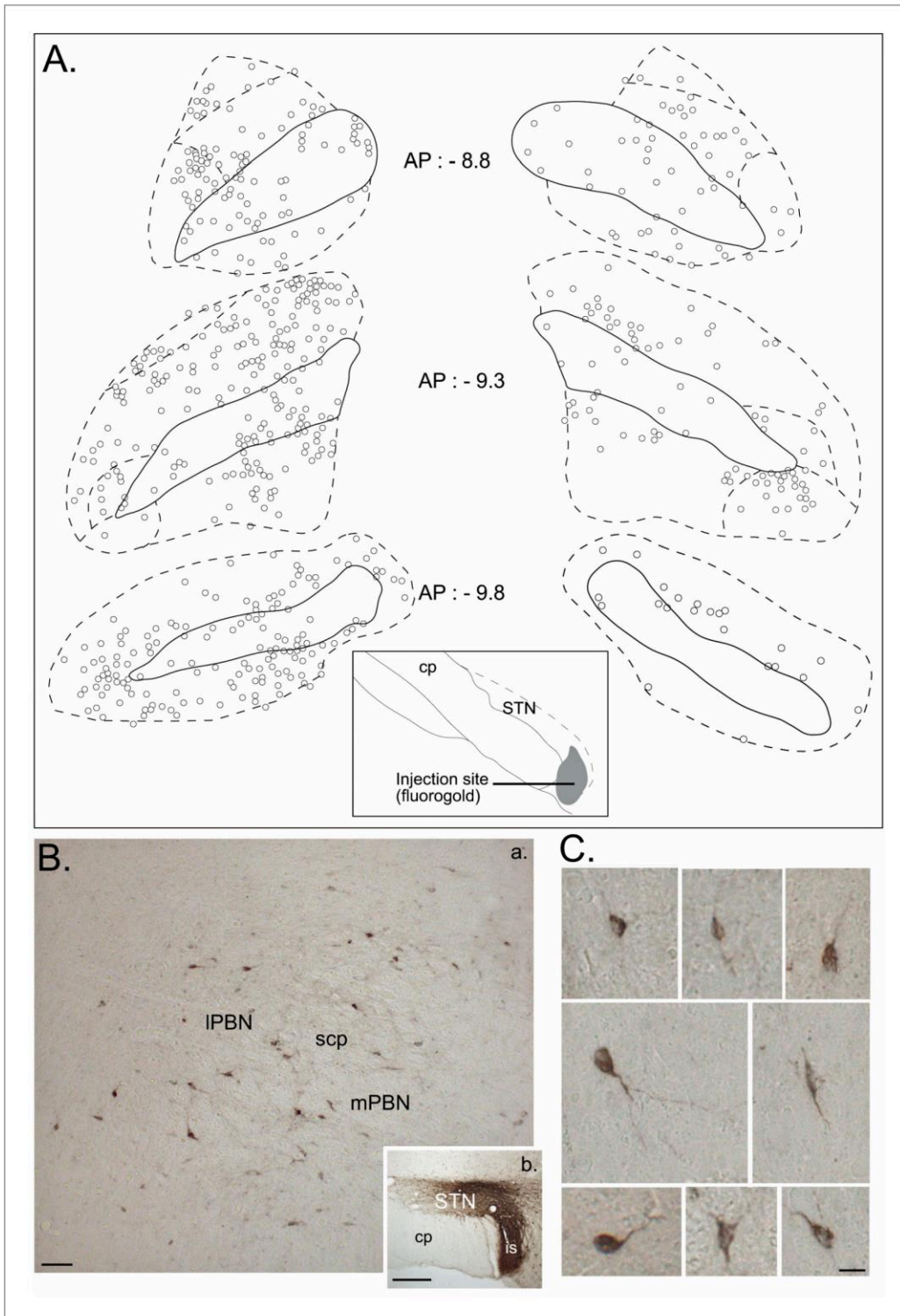


Figure 9. Retrograde tracer in the STN. (A) Drawing of coronal sections centered on the ipsilateral (left) and contralateral (right) PBN illustrating the location of the retrogradely labeled cells following an injection of a retrograde tracer Fluorogold in the STN. (B) Photomicrographs of retrogradely labeled neurons in the PBN (a) following the injection of cholera toxin unit B (CTB) in the STN (b). Scale bars = 200 μ m. (C) Morphology of retrogradely labeled PBN neurons following an injection of CTB into the STN. Scale bars: 20 μ m.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.013>

baseline firing rate upon introduction of the stimulation (up, down or no change) was not altered in the PD rat groups ($\chi^2 = 0.32$; $p=0.85$). Therefore, STN phasic nociceptive responses in PD rats were exacerbated, while the tonic modulation of the firing rate was preserved.

Discussion

The present study demonstrates for the first time that a large majority of STN neurons exhibit various mono- or multi-phasic responses to noxious stimulation, consistent with the hypothesis that one of the functions of the STN is to interrupt behavior when appropriate (*Jahanshahi et al., 2015*); in this case, to select a more appropriate action to try to relieve the noxious sensation. STN nociceptive responses mainly had a short latency (~20–40 ms) and could be recorded all over the structure. We have shown that most of the responsive cells are nociceptive-specific, as only few of them also respond to non-noxious somatosensory stimulation. In addition, we found that we could differentiate three types of STN neurons, which showed an increase, a decrease or no change, respectively, in their baseline firing rate upon introduction of the noxious stimulation. The spontaneous firing rate of STN 'down' cells was significantly higher than that of the two other groups, suggesting the possibility of a separate group of cells. Furthermore, we have shown that STN responses to nociceptive stimuli were abnormal in a rat model of PD, suggesting that the nociceptive responses recorded in STN depend on the integrity of the nigrostriatal DA system.

When determining the afferent source of nociception-related influence on STN activity, we have revealed a crucial role for two brainstem structures, the PBN and the SC, by demonstrating the effects of their inactivation on nociceptive responses in the STN and also by highlighting the existence of an anatomical direct pathway from the PBN to the STN. This parabrachio-subthalamic projection represents a second example of a subcortical hyperdirect pathway to the STN from a sensorimotor structure, in addition to the tecto-subthalamic pathway described previously (*Coizet et al., 2009*; *Tokuno et al., 1994*). Finally, we have shown that these anatomico-electrophysiological findings translate into a functional role for the STN in mediating nociception, in that nociceptive behavioral responses were affected by lesions of the STN. However, a note of caution is required since we used only male rats, and thus care should be taken in extrapolating our results to females.

Using noxious electrical stimulation of the hindpaw allowed us to record precisely the timing of responses in our structures of interest with controlled parameters of stimulation. It is interesting to note that the majority of STN nociceptive responses had short latencies (76/79) and were monophasic (40/79), a pattern of responses that is similar in proportion to the pattern of STN responses following visual stimulation (*Coizet et al., 2009*) but dissimilar to the pattern of STN responses following stimulation of the frontal (*Magill et al., 2004*), sensorimotor (*Fujimoto and Kita, 1993*) or motor cortex (*Kolomiets et al., 2001*). The latter — in the majority of cases — are multi-phasic, with two excitatory phases (equivalent to the present biphasic +/+) often separated by an inhibition (equivalent to the present triphasic +/-/+). It has been hypothesized previously (*Magill et al., 2004*; *Kitai and Deniau, 1981*) that the short latency excitation following cortical stimulation appears to be driven by a hyperdirect pathway to the STN, whereas the later phases of the response arise from polysynaptic interactions, which are manifested more slowly. The inhibition following the first excitation has been hypothesized to involve the reciprocally connected STN–globus pallidus (GP) network (*Fujimoto and Kita, 1993*). STN excitation may activate GP GABAergic neurons, which in return inhibit the STN. Overall, our data suggest that when the rat is subjected to noxious stimulation, the main pathway to the STN that is activated is a fast hyperdirect pathway, originating in part in the PBN. The fact that we only have a few cells showing an inhibitory second phase (10 biphasic and 5 triphasic, 15/79) indicates that STN nociceptive cells are rarely closely connected to the GP and lack GP-STN feedforward control.

Functionally antagonistic STN neuronal subpopulations have been found in the STN. Specific GO and STOP cells have been described in PD patients performing a stop signal paradigm, during motor execution or response inhibition, respectively (*Benis et al., 2016*). Sub-populations of STN cells have also been shown to code exclusively for reward magnitude (4% vs 32% sucrose [*Lardeux et al., 2009*]), error-related activity ('Oops neurons' [*Lardeux et al., 2009*]), reward value (cocaine or sucrose [*Lardeux et al., 2013*]) and for positive and aversive reinforcers (*Breyse et al., 2015*).

A major finding of our work is that we were able to differentiate a subpopulation of STN neurons that had a higher spontaneous firing rate on the basis of the effect of noxious stimuli on general tonic activity. This finding is important as glutamatergic tone from the STN is likely to have a strong impact on the tonic level of activity in the basal ganglia network, especially in the output structures (as we hypothesized that nociceptive-responding STN cells may not be densely connected to GP). The results from previous computational studies (*Gurney et al., 2001*) suggest that tonic control by the STN may adjust the general level of activity of the inhibitory GABAergic neurons of the basal ganglia output structures, which are known to project to the SC and PBN (*Schneider, 1986; Deniau and Chevalier, 1992*). This tonic STN control is hypothesized to be used by the basal ganglia to optimize selection of the most appropriate action. The identification of separate subpopulations of cells in the STN according to their spontaneous firing rate, and the orientation of the change of their firing rate following the occurrence of noxious stimulation, suggests that the tonic excitatory effects of the STN may not be uniform, although further work is required to elucidate the connectivity of the STN subpopulations. This mechanism is important in the context of PD in which STN activity is pathologically increased (*Bergman et al., 1994; Albin et al., 1995*), probably disrupting this control. This possibility is further supported by our results showing enhanced phasic nociceptive responses in a PD rat model, with an increase in the latency to make nocifensive responses in the hotplate test following lesions of the STN. As well as interfering with action selection, disrupted STN control in PD would probably have an impact on the SC and PBN and their role in sensory signal processing.

In addition to demonstrating that STN neurons process nociceptive information, we also assessed whether two subcortical sensori-motor structures from the brain stem transmit nociceptive signals to the STN. Despite SC nociceptive responses having shorter latencies than those of STN neurons to the same stimulus, chemical suppression and lesions of SC had relatively minor effects on the responses of STN to noxious footshock. Lesions of the SC with acid ibotenic reduced the number of cells that do not respond to noxious stimulation, suggesting that the SC gates the pool of responding cells in the STN. Our previous work has demonstrated that the SC is a critical relay for short-latency visual input into DA neurons (*Dommett et al., 2005*) but not for short-latency nociceptive input (*Coizet et al., 2006*) transmitted by the PBN (*Coizet et al., 2010*). The current results suggest the same organization when considering visual and nociceptive input into the STN. The SC is a crucial structure to transmit visual information while the PBN strongly contributes to the relay of nociceptive signals. PBN lesions significantly reduced the number of STN cells responding to noxious stimuli, sparing a group of cells with short latency short duration responses (*Figure 7C*), which are possibly activated by nociceptive information relayed by the thalamus (*Dostrovsky, 2000a*). This nociceptive network linked to the STN is the probable substrate underlying the successful analgesic effects of STN deep-brain stimulation. *Kim et al. (2012)* hypothesized that STN-DBS improves secondary pain symptoms in PD because this stimulation decreases the abnormally increased muscle tone in patients and may alleviate the primary nociception processing in the central nervous system. DBS effects are complex and despite the success of DBS in treating a variety of psychiatric and neurological disorders, the mechanisms underpinning its therapeutic efficacy remain unclear (*McIntyre et al., 2004; Ashkan et al., 2017*). DBS is hypothesized to induce a 'functional lesion' of the STN (*Follett, 2000*), via depolarization blockade and synaptic inhibition (*Beurrier et al., 2001; Dostrovsky et al., 2000b*), which would lead to a suppression of the activity of STN neurons. We hypothesize that these mechanisms would reduce the pathologically increased firing rate in the STN in PD (and thus the pain symptoms), as well as nociceptive responses.

Our current work using anterograde tract-tracing neuroanatomy coupled with 3D reconstruction indicates that a small ascending bundle leaves the PBN and then splits into three massive projections traveling toward the SC, the thalamus and the SNc/STN. Some fibers from this last ascending pathway continue rostrally to terminate in the amygdala and the cortex. Comparison of the size of the bundle leaving the PBN and the size of the bundles traveling to their targets indicate that the number of labelled fibers clearly increase, suggesting that PBN axons have collaterals. This PBN-STN projection is possibly interconnected with other PBN efferents, such as the PBN-amygdala projection, which partly travels through the STN and has cells of origin that are of a similar type to those of the PBN cells projecting to STN (*Sarhan et al., 2005*). With a DBS effect on axons and fibers (*Chiken and Nambu, 2014*), the characterization of this projection and network are important in the context of the effects of STN-DBS on pain symptoms. Overall, STN-DBS would not only impact STN

and PBN nociceptive processing but would also modulate PBN-amygdala fibers and possibly other PBN efferents via the collaterals. The effect of STN-DBS would therefore impact many aspects of pain such as, for example, pain-related emotional reactions when activating the PBN-amygdaloid connection or neuroendocrine homeostatic regulation in response to pain by activating the PBN-hypothalamic pathway (*Gauriau and Bernard, 2002*). Further experiments are now needed to fully characterize the effect of STN-DBS on nociceptive processing in our rat models and how aspects of that network are modulated to achieve a DBS-related analgesic effect.

Pain is a multifaceted experience that can be understood in terms of somatosensory, affective and cognitive dimensions. DBS therapies that are focused on a single facet of pain, originally targeting somatosensory networks or more recently targeting affective regions (*Schneider, 1986*). The STN is a small structure with functional territories such as the limbic, cognitive and sensory, in close proximity to each other. This would allow the potential modulation of different modalities of pain and, in the future, the best placements of DBS electrodes within those territories would have to be tested to maximize the analgesic effect. Finally, numerous non-motor symptoms can worsen or improve depending on the electrical stimulation parameters, as well as the location of the electrode (*Kim et al., 2015*). The best parameters of stimulation for nociception would need to take into account the effect of those parameters on other symptoms of PD.

Finally, non-neuropathic pain, recently recognized as a frequent and disabling symptom in PD, is a complaint affecting many patients who have numerous neurodegenerative disease such as Alzheimer's disease and other dementias, motor neuron disease, Huntington's disease, spinocerebellar ataxia and spinal muscular atrophy (*de Tommaso et al., 2016*). Our findings on the involvement of the STN in nociceptive processing and its link to a nociceptive network open a new direction for research to explore a possible role of this structure in other pain syndromes, especially extra-pyramidal ones like Huntington's disease, which is characterized by a dysfunction of the basal ganglia. It also opens up the possibility of developing therapeutic strategies using DBS. A variety of brain sites have been identified for chronic stimulation procedures to attenuate pain (*Davis et al., 1998*). These targets include the thalamus, the periventricular gray nucleus, the cingulate cortex and the motor cortex (*Gorecki et al., 1989; Davis et al., 1998*). With the involvement of the STN in a nociceptive network as demonstrated in our work, the STN-DBS technique can thus be considered in the future as a new target for the treatment of pain not only in pharmaco-resistant patients suffering from previously described neurodegenerative disease, but also, for example, in those with chronic pain disease or pharmaco-resistant patients with certain forms of migraine that have been shown to activate the STN (*Schwedt et al., 2014*).

Materials and methods

Electrophysiology

Animals

Fifty male Hooded Lister rats (265–450 g) were anaesthetised with an intra-peritoneal injection of urethane (ethyl carbonate; 1.25 g/kg as a 25% aqueous solution) and mounted in a stereotaxic frame with the skull level. Body temperature was maintained at 37°C with a thermostatically controlled heating blanket. Two stainless steel electrodes (E363-1, Plastics One, Roanoke, VA) were inserted into the left hindpaw, one under the skin of the plantar surface of the foot and the other under the skin of the medial aspect of the lower leg/ankle. Craniotomies were then performed to allow access to the STN and SC or PBN. In accordance with the policy of Lyon1 University and the Grenoble Institut des Neurosciences (GIN) and with French legislation, experiments were performed in compliance with the European Community Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC). The research was authorized by the Direction Départementale des Services Vétérinaires de l'Isère – Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, France (Coizet Véronique, PhD, permit number 381003). Every effort was made to minimize the number of animals used and their suffering during the experimental procedure. All procedures were reviewed and validated by the 'Comité éthique du GIN n°004' agreed by the research ministry (permits number 309 and 310).

STN recordings

Extracellular single unit recordings were made from STN neurons located contralaterally to the stimulated hindpaw, using glass microelectrodes pulled via a vertical electrode puller (Narashige Laboratory Instruments Ltd. Tokyo, Japan) and broken back to a tip diameter of approximately 1 μm (impedances 5–20 $\text{M}\Omega$, measured at 135 Hz in 0.9% NaCl). Electrodes were filled with 0.5 M saline and 2% Pontamine Sky Blue (BDH Chemicals Ltd., Poole, UK). The electrode was lowered into the STN (3.6–4.16 mm caudal to bregma, 2.0–3.0 mm lateral to midline, 6.8–8.20 mm ventral to the brain surface according to the atlas [*Paxinos and Watson, 2005*]) with a hydraulic microdrive (Trent Wells Inc.). The STN electrode was lowered until a putative STN neuron was identified on the basis of several criteria as follows. i) the pattern of activity while lowering the electrode, which was as follows: an initial absence of activity corresponding to the medial lemniscus fibre track, followed shortly after by large-amplitude, fast-bursty neurons located in zona incerta, and then a second absence of action potentials. The return of activity corresponded to the STN. ii) STN firing rate between 8.5 and 14.7 Hz (*Hassani et al., 1996; Kreiss et al., 1996*). iii) STN firing pattern described as irregular or bursting (*Hamani et al., 2004*).

SC/PBN recording and muscimol experiments

Extracellular multiunit recordings were made simultaneously from the SC or PBN ipsilateral to the STN recording electrode using a tungsten electrode coupled to a 30-gauge stainless steel injector filled with muscimol (0.25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ in saline, Sigma-Aldrich). An angled approach was used in the PBN, with the electrode tilted caudally by 35°, entering the brain at 11.4 mm caudal to bregma and 1.9–2.0 mm lateral to midline. PBN was encountered 5.2–5.8 mm below the brain surface. In a second group of rats, the electrode/injector assembly was introduced vertically into the SC (AP: 6.2–6.5 mm, bregma; ML: 2.1–2.2 mm, bregma; DV: 4.2–4.5 mm, brain surface). The electrode/injector assembly was lowered into the SC into the lateral part of the deep layers of the SC, known to project to the STN (*Coizet et al., 2009*).

Microinjections were made (0.5 μl at a rate of 0.5 $\mu\text{l}/\text{min}$) via a 10 μl Hamilton syringe mounted on an infusion pump, connected to the injector by a length of plastic tubing. Extracellular voltage excursions were amplified, band-pass filtered (300 Hz–10 kHz), digitized at 10 kHz and recorded directly onto computer disc using a Micro 1401 data acquisition system (Cambridge Electronic Design [CED] Systems, Cambridge, UK) running CED data capture software (Spike 2).

Stimulation procedure

As previously described (*Coizet et al., 2006, 2010*), PBN and SC neurons were identified by their response to noxious footshocks induced by single pulses (0.5 Hz, 2 ms duration) at an intensity of 5.0 mA. The activity of the cells (single unit in STN and multiunit activity in the PBN or SC) was recorded during a control period (120 trials of sham stimulation) and during the application of noxious footshocks (120 trials). For the muscimol experiments, an injection of muscimol was made into the PBN or SC. Typically, a change in local SC/PBN multiunit activity was seen within 60–120 s of the injection. Noxious electrical footshock stimulation was applied throughout this period, until either the effects of the drug wore off in the SC/PBN, or the STN cell was lost. After a complete trial, further STN neurons were tested in the same way. Between 1 and 5 STN cells were tested in a single subject.

Nociceptive nature of the stimulation

The electrical stimulation parameters from 3 to 5 mA have previously been shown to be approximately three times the threshold for activating C-fiber (*Chang and Shyu, 2001; Matthews and Dickenson, 2001; Carpenter et al., 2003*), to produce reliable A δ and C-fiber responses in the anesthetized rat spinal cord (*Urch et al., 2003*) and to produce c-fos expression in the nociceptive superficial lamina of the spinal cord (*Coizet et al., 2006*). They also activate the SC (*Coizet et al., 2006*), the PBN (*Coizet et al., 2010*) and the dopaminergic neurons (*Coizet et al., 2006; 2010*) in a qualitatively similar way as a mechanical noxious pinch with a teethered forceps.

To ascertain the noxious nature of our stimulation, we performed three control tests based on the previous observations. i) We first performed an intensity test on a group of STN cells following footshocks with intensities ranging from 0 to 5 mA. Among the 17 STN neurons responding to the

maximum 5 mA stimulation, a decrease of intensity was followed by a decrease of the number of responding cells following a 4 mA ($n = 12$) and a 3 mA ($n = 7$) stimulation. None of those cells showed a response for intensities under the threshold of 3 mA (**Figure 10A**, supplementary results). Furthermore, analysis performed on the 7 cells responding to 3, 4 and 5 mA showed a significant effect of the intensity of the stimulation when considering the maximum amplitude (ANOVA – repeated measure: $F[2,20] = 11.51$, $p < 0.01$) and the magnitude (ANOVA – repeated measure: $F[2,20] = 17.55$, $p < 0.001$). In both cases, there was a significant increase in the response parameters with the increase in the intensity (Tukey-Kramer post-hoc comparison — maximum amplitude: 3 mA vs 5 mA, $p < 0.01$, 4mA vs 5 mA, $p < 0.05$; magnitude: 3 mA vs 4 mA, $p < 0.05$; 3 mA vs 5 mA, $p < 0.001$). ii) We compared the effects of a mechanical pinch with a teethered forceps and a 5 mA footshock on STN neuron responses. All the cells responding to the manual pinch showed a qualitatively similar excitation to the footshock (**Figure 10B**, supplementary results), while none of the cells that were unresponsive to pinch were activated by footshock. iii) As previously reported (**Coizet et al., 2006, 2010**), noxious footshock of 5mA for an hour induced the expression of c-fos labeling within the medial part of the ipsilateral superficial layers of the lumbar cord, especially layers I and II, although layers III–V also contained some labeling. In control animals, where electrodes were implanted but the stimulation was not delivered, substantially lower levels of c-fos were observed (**Figure 10A**). These results confirm that the footshock used in the present study was activating nociceptive elements in the lumbar spinal cord (**Besson and Chaouch, 1987; Almeida et al., 2004**) consistent with known somatotopic representations of the hindfoot; that is primary afferents from the foot terminate medially (**Swett and Woolf, 1985**).

Histology and analysis

The position of SC and PBN recording sites were marked with a small lesion caused by passing 10 μ A DC current for 2.5 min through the tungsten recording electrode. The final recording site for the STN recording electrode was marked by passing a constant cathodal current of 27.5 μ A (constant current source) through the electrode for a period of 30 min to eject Pontamine Sky Blue. Animals were then killed by an overdose of pentobarbital and perfused with 0.9% saline followed by 4% paraformaldehyde. Brains were removed and postfixed overnight in 4% paraformaldehyde at 4°C, before being transferred into sucrose for 36 hr. Serial coronal (30 μ m) sections were cut, mounted on slides and processed with a Nissl stain (Cresyl Violet). Once sections had been processed, recording sites were reconstructed onto sections taken from the atlas of **Paxinos and Watson (2005)**.

Peri-stimulus time interval histograms (PSTHs) were constructed based on SC/PBN multi-unit (bin width 1 ms) and STN single-unit data (bin width 10 ms). PSTHs were imported into an Excel program (Peter Furness, University of Sheffield; **Coizet et al., 2006, 2009, 2010; Dommert et al., 2005**), which determined the following response characteristics. (i) Baseline activity: the mean number of single multi-unit events during the 500 ms bins prior to the footshock. (ii) Response latency: the latency of a visually evoked response was marked as the point when the value of post-stimulation events exceeded 1.96 S.D. of the baseline mean. (iii) Response duration: response offset was recorded when post-stimulation activity returned to a value 1.96 S.D. of the baseline mean. (iv) Amplitude of the response: the maximum amplitude during the response. (v) Magnitude of the response: the mean number of single multi-unit events between response onset and offset minus the baseline mean.

Lesion procedure in SC and PBN

Fourteen rats received a unilateral ibotenic acid lesion of the SC or the PBN. Each rat was anesthetized with isoflurane (5% for the induction and 1–2% for maintenance) and placed in a stereotaxic instrument. A 30-gauge metal injector needle filled with ibotenic acid (20 μ g/ μ l in phosphate buffered saline) was introduced using the same coordinates as for the electrophysiological procedure. The injections in the PBN were made according to a previously published procedure by **Reilly and Trifunovic (2000, 2001)** with electrophysiological guidance to improve the accuracy of the location of the lesion. The microinjections were made (0.5 μ l/min) in the SC (0.5–0.65 μ l) and the PBN (0.3–0.5 μ l) as for the muscimol injections (see above). The cannula remained in situ for a further 10 min to minimize the spread of neurotoxin back along the track before the cannula was removed and the incision was closed.

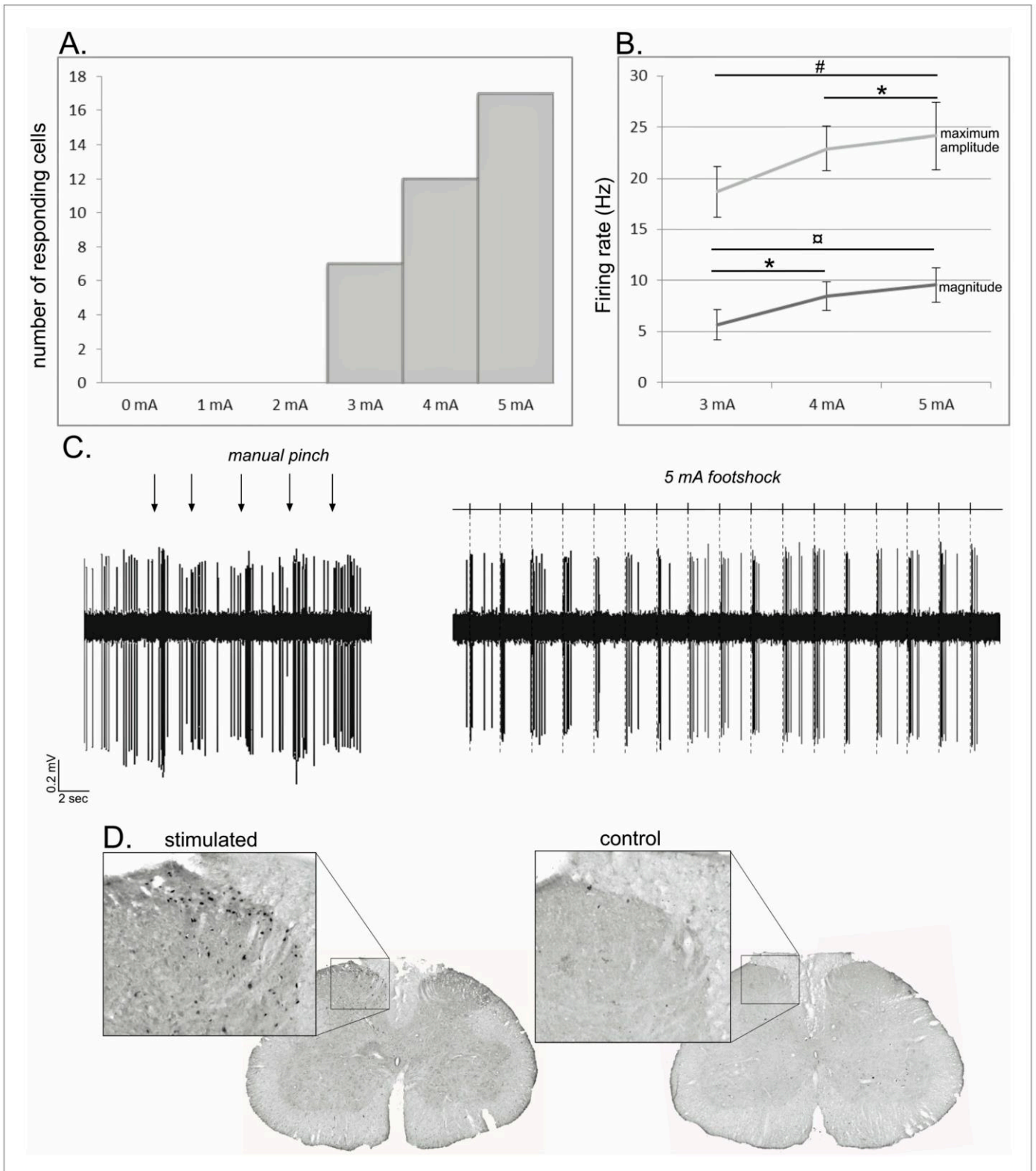


Figure 10. Noxious footshock. (A) Histogram showing the increase in the number of responding cells with the increase of the footshock intensity. (B) Increase of the maximum amplitude and magnitude of phasic nociceptive-evoked responses with the increase of the footshock intensity. (C) Individual example of an STN cell excited both by a mechanical noxious stimulation (pinch – left) and a 5 mA noxious footshock (right). (D) Coronal sections of the

Figure 10 continued on next page

Figure 10 continued

lumbar region of the spinal cord processed for c-fos expression in an animal subjected to 1 hr unilateral noxious electrical stimulation of the hindpaw (left) and in a control animal in which the electrodes were implanted into the hindpaw, but no footshock applied.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.014>

Lesion procedure in STN and hotplate test

Twenty Long Evans rats were anesthetized with ketamine (100 mg/Kg, s.c., Imalgène 1000, Merial, Lyon, France) and medetomidine (0.85 mg/Kg, s.c., Domitor, Orion Pharma, Espoo, Finland). Rats were secured in Kopf stereotaxic apparatus. Then, a unilateral 30-gauge stainless-steel injector needle connected by Tygon tubing (Saint Gobain performance plastics) with a 10 μ L Hamilton microsyringe (Bonaduz, Switzerland) fixed on a micropump (CMA, Kista, Sweden) was positioned into the STN. Coordinates for the aimed site were (with tooth bar set at -3.3 mm): anteroposterior -3.72 mm; lateral ± 2.4 mm from bregma; dorsoventral -8.4 mm from skull (*Paxinos and Watson, 2005*). Rats received a bilateral injection of either ibotenic acid (9.4 μ g/ μ L, AbCam Biochemical, Cambridge, UK; STN-lesioned group, $n = 12$) or vehicle solution (phosphate buffer, 0.1M; Sham control group, $n = 8$). The volume injected was 0.5 μ L per side infused over 3 min. The injectors were left in place for 3 min to allow diffusion. At the end of surgery, medetomidine was reversed by 0.2 mg (4.28 mg/Kg, s.c.) atipamezole (Antisedan, Orion Pharma, Espoo, Finland). Three weeks after the surgery, all the animals were subjected to the hotplate test. Each rat was placed on a heated metal plate (53°) surrounded by a transparent cylinder. The experimenter was constantly watching the rat's behaviour during the test to measure the latency of the first sign of paw licking or jumping and to remove the animals from the apparatus quickly. The maximum time on the hot place was set to 30 s. The rat's behaviour was also video recorded online on the computer for a second finer analysis.

6-OHDA lesions

Rats were anesthetised with an intraperitoneal injection of a mixture of ketamine-xylazine (0.765/1.1 ml; 1 ml/kg, i.p.) and placed in a stereotaxic frame with the skull level. All the microinjections were made via a sharpened 30G injection cannula connected with polyethylene tubing to a 10 μ L Hamilton syringe driven by an infusion pump (0.5 μ L/min). After the injection, the cannula was left in place for a further 5 min to allow diffusion. Animals were divided into two groups: i) those with a total dopaminergic lesion ($n = 9$), in which 3 μ L of 6-OHDA (Sigma-Aldrich, 3 mg/ml in sterile 0.9% NaCl and 0.1% ascorbic acid) was injected into the left SNc using the following stereotaxic coordinates: AP: +3.0 mm; ML:+2.1 mm and DV:+2.4 mm from interaural zero mm; and ii) a control group with no injection of the toxin ($n = 9$).

The extent of the DA denervation following the 6-OHDA injections in the SNc was determined using tyrosine hydroxylase (TH) immunohistochemistry. To reveal TH, the sections were washed and incubated in a blocking solution containing 0.1M PB with 0.3% of triton X-100 (TX), 2.5% of Bovine Serum Albumin (BSA) and 5% normal horse serum (NHS) for 2 hr before being transferred overnight to a 0.1M PB-TX 0.3% with 1% BSA and 2% NHS containing the primary mouse monoclonal TH antibody, diluted 1:3,000 (Chemicon, Hampshire, UK). The following day, sections were washed in 0.1M PB and incubated with the secondary antibody, biotinylated antimouse made in horse (in a dilution of 1:1,000 in 0.1M PB-TX 0.3% with 2% NHS) for 2 hr. Following further washes in 0.1M PB, the sections were exposed to the elite Vectastain ABC reagent (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) diluted 1:100 in PB-TX 0.3%, for 2 hr. Again following washes in 0.1M PB, immunoreactivity was revealed by exposure to VIP (Vector Laboratories) for 2 min, which produced a purple reaction product. Sections were then mounted onto gelled slides, dehydrated through alcohols and cleared in xylene before being coverslipped with DPX. TH-immunolabelling of DA neurons and terminals was evaluated using a light microscope (Nikon, Eclipse 80i, TRIBVN, Chatillon, France) coupled to the ICS Framework computerized image analysis system (TRIBVN, 2.9.2 version, Chatillon, France). For quantification, TH-labeled coronal sections of SNc (AP -5.3 mm to -5.8 mm from Bregma) and striatum (AP 0.20 mm to -0.30 mm from bregma) were digitized using a Pike F-421C camera (ALLIED Vision Technologies Stradtroda, Germany). Optical densities (OD) were measured for the denervated and non-denervated territories of the lesioned animals for each section and were compared to those in the homologous regions of the sham-operated animals.

Statistics

The statistical reliability of differences between response latencies for the SC/PBN and STN, and comparisons of response duration, amplitude and magnitude before and after SC/PBN injections of muscimol was made using parametric (ANOVA, t-test) or non-parametric (Wilcoxon, Mann-Whitney) statistical tests according to the normality of the data. STN baseline firing rate change before and after the noxious stimulation was assessed during the 500 ms before the sham and noxious stimulations. The data were imported in MATLAB, binned and compared using a Wilcoxon test. STN firing pattern was also assessed using MATLAB according to the methodology developed by *Piallat et al. (2011)*. Neurons were classified as irregular, regular or bursting according to the interspike distributions and autocorrelograms. Burst activity showed a wide or bimodal interval interspike distribution and a significant single peak on the autocorrelation function. Irregular activity was characterised by a wide interval interspike distribution and a flat autocorrelogram. Regular activity was characterised by a narrow interval interspike distribution and an autocorrelogram with multiple regular peaks.

Anatomy

Animals

We used 14 male Long Evans rats (350–460 g, Janvier, France). Animals were anaesthetised with an intraperitoneal injection of a mixture of Ketaset (0.765 ml/kg) and Rompun (1.1 ml/kg).

Anterograde experiment

Single injections of the anterograde tracers biotinylated dextran amine (BDA: Sigma-Aldrich) or *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin (PHA-L: Vector Laboratories, Peterborough, UK) were made into the PBN. An angled approach was used as previously described (*Coizet et al., 2010*). BDA (10% in phosphate buffer; PB) was pressure ejected in volumes of 30–90 nl via a glass micropipette (20 µm diameter tip) using a compressed air injection system, while PHA-L was ejected iontophoretically (5µA anodal current applied to a 2.5% solution in PB, 7 s on/off for 15–20 min).

Retrograde experiment

Small (10–20 nl) pressure injections of the retrograde tracers Cholera toxin subunit B (CTB, 1% solution in phosphate buffer) or the fluorescent tracer Fluorogold (FG, 4% in distilled water) were made into the STN. After allowing 7 days for the transport of tracers, animals were re-anesthetised with pentobarbitane and perfused transcardially. The brains were placed immediately in 4% PFA overnight before being cryoprotected by immersion in sucrose solution (20% in 0.1 M PB) for at least 36 hr. Three series of coronal or sagittal sections (30 µm) were cut on a freezing microtome and collected in 0.1 M PB for further immunohistochemistry processing, except for tissue containing FG where one series was collected directly onto slides, allowed to dry in a light protected box and coverslipped with DPX mountant.

Histology

To reveal the tracers (BDA, PHA-L, CTB), free-floating sections were washed with 0.1 M PB followed by 0.1 M PB containing 0.3% Triton X-100 (PB-TX) for 30 min. For animals injected with PHA-L or CTB, the sections were incubated overnight in primary antibody solution (goat anti-PHA-L, 1:1,000 dilution, Vector, or goat anti-CTB, 1:4,000 dilution, Quabratech). The next day, sections were washed with PB-TX and incubated for 2 hr in biotinylated rabbit anti-goat IgG (1:100, Vector, in PB-TX containing 2% normal rabbit serum). After 30 min washing, all the sections were incubated in Elite Vectastain ABC reagent (Vector, 1:100 in PB-TX) for 2 hr. The peroxidase associated with the tracers was revealed by reacting tissue with H₂O₂ for approximately 1 min using nickel-enhanced diaminobenzidine (DAB) as the chromogen for BDA and CTB (black reaction product) and using nickel-free DAB for PHA-L (brown reaction product). Finally, sections were washed in PB, mounted on gelatine-coated slides, dehydrated in graded dilutions of alcohol, cleared in xylene and coverslipped in DPX.

Analysis

Following injections of anterograde tracers into the PBN, three coronal sections through the STN separated by ~0.5 mm (equivalent to –3.6, –3.8 and –4.1 mm caudal to bregma in the atlas of

Paxinos and Watson (2005) or three sagittal sections (equivalent to 1.9, 2.4 and 2.9 lateral to bregma) were selected for analysis. Sections of interest were digitized using a light microscope (Nikon, Eclipse 80i, TRIBVN, 2.9.2 version, Chatillon, France) coupled to the ICS Framework computerized image analysis system (TRIBVN, 2.9.2 version, Chatillon, France) and a Pike F-421C camera (ALLIED Vision Technologies Stradtroda, Germany).

The location of retrogradely labelled cells was plotted on four coronal sections through the PBN separated by -0.5 mm (equivalent to -8.8 , -9.3 , -9.8 caudal to bregma). A series of digital images (magnification 10 X) were taken and imported into a graphics program (Macromedia Freehand) where they were montaged. The borders and layers of the PBN were drawn over the montage. The location of anterogradely labelled axons and terminals was plotted on sagittal sections from 1.9 to 2.9 lateral from bregma. Fibres and terminals associated with the injections were traced with the aid of a pen tablet (intuos) with a microscope equipped with a camera lucida and a graphics program (Microsoft PowerPoint). By focusing on different depths in the brain sections, it was possible to produce a drawing that contained all labelled elements in the section.

For the 3D reconstruction, the most representative example was selected and series of sagittal sections containing PBN and STN were digitized using a light microscope (Nikon, Eclipse 80i, TRIBVN, 2.9.2 version, Chatillon, France) coupled to the ICS Framework computerized image analysis system (TRIBVN, 2.9.2 version, Chatillon, France) and a Pike F-421C camera (ALLIED Vision Technologies Stradtroda, Germany). Digitized images were converted into a .tiff format and individually exported into Adobe Photoshop to create individual .tiff files with the same dimensions. A stack of 2D sagittal sections was then created using Cygwin (Cygwin TM sources) and IMOD package software (Boulder laboratory for 3D Electron Microscopy of Cells, University of Colorado, Boulder, CO) (**Kremer et al., 1996**). As previously described (**Coizet et al., 2017; Maily et al., 2010**), sections were aligned with the Midas program from IMOD using manual rigid body transformations. The stack was opened in IMOD, where the structures of interest were delineated including the PBN, SNr/SNc, STN, and SC. The injection site and individual ascending labelled axons were drawn in IMOD directly on the digitized images. This process also created a 3D reconstruction of ascending fibers.

Acknowledgements

The Photonic Imaging Center of Grenoble Institute Neuroscience (Université Grenoble Alpes – Inserm U1216) is part of the ISdV core facility and certified by the IBiSA label. Région Rhône-Alpes.

Additional information

Funding

| Funder | Author |
|---|------------------|
| Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale | Veronique Coizet |
| ADR Région Rhône Alpes | Veronique Coizet |
| UGA AGIR-POLE | Veronique Coizet |

The funders had no role in study design, data collection and interpretation, or the decision to submit the work for publication.

Author contributions

Arnaud Pautrat, Marta Rolland, Margaux Barthelemy, Formal analysis, Investigation; Christelle Banez, Investigation, Methodology, Writing—review and editing; Valérie Sinniger, Investigation, Methodology; Brigitte Piallat, Software, Formal analysis, Methodology; Marc Savasta, Funding acquisition, Writing—review and editing; Paul G Overton, Conceptualization, Project administration, Writing—review and editing; Olivier David, Formal analysis, Funding acquisition, Methodology, Writing—review and editing; Veronique Coizet, Conceptualization, Formal analysis, Supervision, Funding acquisition, Validation, Methodology, Writing—original draft, Project administration, Writing—review and editing

Author ORCIDsChristelle Baunez  <https://orcid.org/0000-0002-4368-652X>Veronique Coizet  <http://orcid.org/0000-0001-5192-6610>**Ethics**

Animal experimentation: In accordance with the policy of Lyon1 University, the Grenoble Institut des Neurosciences (GIN) and the French legislation, experiments were done in compliance with the European Community Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC). The research was authorized by the Direction Départementale des Services Vétérinaires de l'Isère - Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, France (Coizet Véronique, PhD, permit number 381003). Every effort was made to minimize the number of animals used and their suffering during the experimental procedure. All procedures were reviewed and validated by the "Comité éthique du GIN no 004" agreed by the research ministry (permits number 309 and 310).

Decision letter and Author responseDecision letter <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.017>Author response <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.018>

Additional files**Supplementary files**

- Transparent reporting form

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.36607.015>**Data availability**

All data generated or analysed during this study are included in the manuscript and supporting files. Matlab scripts used to analyse the data are freely available on the ImaGIN platform website (<https://f-tract.eu/software/imagin/> ; copy of the source code archived at https://github.com/elifesciences-publications/ImaGIN2_source_code).

References

- Albin RL, Young AB, Penney JB. 1995. The functional anatomy of disorders of the basal ganglia. *Trends in Neurosciences* **18**:63–64. DOI: [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(95\)80020-3](https://doi.org/10.1016/0166-2236(95)80020-3)
- Alexander GE, DeLong MR, Strick PL. 1986. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annual Review of Neuroscience* **9**:357–381. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.09.030186.002041>, PMID: 3085570
- Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S. 2004. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Research* **1000**:40–56. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.10.073>, PMID: 15053950
- Ashkan K, Rogers P, Bergman H, Ughratdar I. 2017. Insights into the mechanisms of deep brain stimulation. *Nature Reviews Neurology* **13**:548–554. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2017.105>, PMID: 28752857
- Baunez C, Yelnik J, Mallet L. 2011. Six questions on the subthalamic nucleus: lessons from animal models and from stimulated patients. *Neuroscience* **198**:193–204. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.09.059>, PMID: 22001680
- Belasen A, Youn Y, Gee L, Prusik J, Lai B, Ramirez-Zamora A, Rizvi K, Yeung P, Shin DS, Argoff C, Pilitsis JG. 2016. The effects of mechanical and thermal stimuli on local field potentials and single unit activity in Parkinson's Disease Patients. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface* **19**:698–707. DOI: <https://doi.org/10.1111/ner.12453>
- Benis D, David O, Piallat B, Kibleur A, Goetz L, Bhattacharjee M, Fraix V, Seigneuret E, Krack P, Chabardès S, Bastin J. 2016. Response inhibition rapidly increases single-neuron responses in the subthalamic nucleus of patients with Parkinson's disease. *Cortex* **84**:111–123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2016.09.006>, PMID: 27745848
- Berardelli A, Conte A, Fabbrini G, Bologna M, Latorre A, Rocchi L, Suppa A. 2012. Pathophysiology of pain and fatigue in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders* **18 Suppl 1**:S226–S228. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(11\)70069-4](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(11)70069-4), PMID: 22166442

- Bergman H, Wichmann B, Karmon B, DeLong R. 1994. The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal Activity in the MPTP Model of parkinsonism. *Journal of Neurophysiology* **72**:507–520. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.1994.72.2.507>
- Bernard JF, Peschanski M, Besson JM. 1989. A possible Spino (trigemino)-ponto-amygdaloid pathway for pain. *Neuroscience Letters* **100**:83–88. DOI: [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(89\)90664-2](https://doi.org/10.1016/0304-3940(89)90664-2), PMID: 2474780
- Besson JM, Chaouch A. 1987. Peripheral and spinal mechanisms of nociception. *Physiological Reviews* **67**:67–186. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.1987.67.1.67>, PMID: 3543978
- Beurrier C, Bioulac B, Audin J, Hammond C. 2001. High-frequency stimulation produces a transient blockade of voltage-gated currents in subthalamic neurons. *Journal of Neurophysiology* **85**:1351–1356. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.2001.85.4.1351>, PMID: 11287459
- Brefel-Courbon C, Ory-Magne F, Thalamas C, Payoux P, Rascol O. 2013. Nociceptive brain activation in patients with neuropathic pain related to Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders* **19**:548–552. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2013.02.003>, PMID: 23462484
- Breyse E, Pelloux Y, Baunez C. 2015. The good and bad differentially encoded within the subthalamic nucleus in rats. *eNeuro* **2**. DOI: <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0014-15.2015>
- Canteras NS, Shammah-Lagnado SJ, Silva BA, Ricardo JA. 1990. Afferent connections of the subthalamic nucleus: a combined retrograde and anterograde horseradish peroxidase study in the rat. *Brain Research* **513**:43–59. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)91087-W](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)91087-W), PMID: 2350684
- Carpenter KJ, Sen S, Matthews EA, Flatters SL, Wozniak KM, Slusher BS, Dickenson AH. 2003. Effects of GCP-II inhibition on responses of dorsal horn neurones after inflammation and neuropathy: an electrophysiological study in the rat. *Neuropeptides* **37**:298–306. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.npep.2003.08.001>, PMID: 14607107
- Chang C, Shyu B-C. 2001. A fMRI study of brain activations during non-noxious and noxious electrical stimulation of the sciatic nerve of rats. *Brain Research* **897**:71–81. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)02094-7](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)02094-7)
- Chiken S, Nambu A. 2014. Disrupting neuronal transmission: mechanism of DBS? *Frontiers in Systems Neuroscience* **8**:33. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00033>, PMID: 24672437
- Chudler EH, Dong WK. 1995. The role of the basal ganglia in nociception and pain. *Pain* **60**:3–38. DOI: [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)00172-B](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)00172-B), PMID: 7715939
- Coizet V, Dommett E, Overton PG, Redgrave P. 2006. Nociceptive responses of dopaminergic neurones modulated by experimental manipulations of the superior colliculus in rat. *Neuroscience* **139**:1479–1493. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.01.030>
- Coizet V, Dommett EJ, Klop EM, Redgrave P, Overton PG. 2010. The parabrachial nucleus is a critical link in the transmission of short latency nociceptive information to midbrain dopaminergic neurons. *Neuroscience* **168**:263–272. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.03.049>, PMID: 20363297
- Coizet V, Graham JH, Moss J, Bolam JP, Savasta M, McHaffie JG, Redgrave P, Overton PG. 2009. Short-latency visual input to the subthalamic nucleus is provided by the midbrain superior colliculus. *Journal of Neuroscience* **29**:5701–5709. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0247-09.2009>, PMID: 19403836
- Coizet V, Heilbronner S, Carcenac C, Maily P, Lehman J, Savasta M, David O, Deniau JM, Groenewegen HJ, Haber SN. 2017. The rat prefronto-striatal and prefronto-thalamic bundles analysed in 3D: evidence for a topographical organization. *Journal of Neuroscience* **37**:2539–2554. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3304-16.2017>
- Conte A, Khan N, Defazio G, Rothwell JC, Berardelli A. 2013. Pathophysiology of somatosensory abnormalities in parkinson disease. *Nature Reviews Neurology* **9**:687–697. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2013.224>, PMID: 24217516
- Craig AD. 1995. Distribution of brainstem projections from spinal Lamina I neurons in the cat and the monkey. *The Journal of Comparative Neurology* **361**:225–248. DOI: <https://doi.org/10.1002/cne.903610204>, PMID: 8543660
- Cury RG, Galhardoni R, Fonoff ET, Dos Santos Ghilardi MG, Fonoff F, Arnaut D, Myczkowski ML, Marcolin MA, Bor-Seng-Shu E, Barbosa ER, Teixeira MJ, Ciampi de Andrade D. 2014. Effects of deep brain stimulation on pain and other nonmotor symptoms in parkinson disease. *Neurology* **83**:1403–1409. DOI: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000887>, PMID: 25217059
- Davis KD, Lozano AM, Tasker RR, Dostrovsky JO. 1998. Brain targets for pain control. *Stereotactic and Functional Neurosurgery* **71**:173–179. DOI: <https://doi.org/10.1159/000029661>, PMID: 10461103
- de Tommaso M, Arendt-Nielsen L, Defrin R, Kunz M, Pickering G, Valeriani M. 2016. Pain in Neurodegenerative Disease: Current Knowledge and Future Perspectives. *Behavioural Neurology* **2016**:1–14. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/7576292>, PMID: 27313396
- Dellapina E, Gerdelat-Mas A, Ory-Magne F, Pourcel L, Galitzky M, Calvas F, Simonetta-Moreau M, Thalamas C, Payoux P, Brefel-Courbon C. 2011. Apomorphine effect on pain threshold in Parkinson's disease: a clinical and positron emission tomography study. *Movement Disorders* **26**:153–157. DOI: <https://doi.org/10.1002/mds.23406>, PMID: 20960436
- Deniau JM, Chevalier G. 1992. The lamellar organization of the rat substantia nigra pars reticulata: distribution of projection neurons. *Neuroscience* **46**:361–377. DOI: [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90058-A](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90058-A), PMID: 1542412
- Djaldetti R, Shifrin A, Rogowski Z, Sprecher E, Melamed E, Yarnitsky D. 2004. Quantitative measurement of pain sensation in patients with parkinson disease. *Neurology* **62**:2171–2175. DOI: <https://doi.org/10.1212/01.WNL.000130455.38550.9D>, PMID: 15210877

- Dommett E**, Coizet V, Blaha CD, Martindale J, Lefebvre V, Walton N, Mayhew JE, Overton PG, Redgrave P. 2005. How visual stimuli activate dopaminergic neurons at short latency. *Science* **307**:1476–1479. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1107026>, PMID: 15746431
- Dostrovsky JO**, Levy R, Wu JP, Hutchison WD, Tasker RR, Lozano AM. 2000. Microstimulation-induced inhibition of neuronal firing in human globus pallidus. *Journal of Neurophysiology* **84**:570–574. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.1.570>, PMID: 10899228
- Dostrovsky JO**. 2000a. Role of thalamus in pain. *Progress in Brain Research* **129**:245–257. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(00\)29018-3](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(00)29018-3), PMID: 11098694
- Follett KA**. 2000. The surgical treatment of Parkinson's disease. *Annual Review of Medicine* **51**:135–147. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.med.51.1.135>, PMID: 10774457
- Fujimoto K**, Kita H. 1993. Response characteristics of subthalamic neurons to the stimulation of the sensorimotor cortex in the rat. *Brain Research* **609**:185–192. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90872-K](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90872-K), PMID: 8508302
- Gauriau C**, Bernard JF. 2002. Pain pathways and parabrachial circuits in the rat. *Experimental Physiology* **87**:251–258. DOI: <https://doi.org/10.1113/eph8702357>, PMID: 11856971
- Gorecki J**, Hirayama T, Dostrovsky JO, Tasker RR, Lenz FA. 1989. Thalamic stimulation and recording in patients with deafferentation and central pain. *Stereotactic and Functional Neurosurgery* **52**:219–226. DOI: <https://doi.org/10.1159/000099504>, PMID: 2657945
- Gurney K**, Prescott TJ, Redgrave P. 2001. A computational model of action selection in the basal ganglia. I. A new functional anatomy. *Biological Cybernetics* **84**:401–410. DOI: <https://doi.org/10.1007/PL00007984>, PMID: 11417052
- Ha AD**, Jankovic J. 2012. Pain in Parkinson's disease. *Movement Disorders : Official Journal of the Movement Disorder Society* **27**:485–491. DOI: <https://doi.org/10.1002/mds.23959>, PMID: 21953990
- Hamani C**, Saint-Cyr JA, Fraser J, Kaplitt M, Lozano AM. 2004. The subthalamic nucleus in the context of movement disorders. *Brain* **127**:4–20. DOI: <https://doi.org/10.1093/brain/awh029>, PMID: 14607789
- Hammond C**, Deniau JM, Rouzair-Dubois B, Feger J. 1978. Pepiphal input to the rat subthalamic nucleus, an electrophysiological study. *Neuroscience Letters* **9**:171–176. DOI: [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(78\)90067-8](https://doi.org/10.1016/0304-3940(78)90067-8), PMID: 19605213
- Hanagasi HA**, Akat S, Gurvit H, Yazici J, Emre M. 2011. Pain is common in Parkinson's disease. *Clinical Neurology and Neurosurgery* **113**:11–13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2010.07.024>, PMID: 20800342
- Hassani OK**, Mouroux M, Féger J. 1996. Increased subthalamic neuronal activity after nigral dopaminergic lesion independent of disinhibition via the globus pallidus. *Neuroscience* **72**:105–115. DOI: [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)00535-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00535-8), PMID: 8730710
- Heise CE**, Reyes S, Mitrofanis J. 2008. Sensory (nociceptive) stimulation evokes Fos expression in the subthalamus of hemiparkinsonian rats. *Neurological Research* **30**:277–284. DOI: <https://doi.org/10.1179/016164107X235455>, PMID: 17848208
- Hylden JL**, Anton F, Nahin RL. 1989. Spinal lamina I projection neurons in the rat: collateral innervation of parabrachial area and thalamus. *Neuroscience* **28**:27–37. DOI: [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90229-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90229-7), PMID: 2548118
- Jahanshahi M**, Obeso I, Rothwell JC, Obeso JA. 2015. A fronto-striato-subthalamic-pallidal network for goal-directed and habitual inhibition. *Nature Reviews Neuroscience* **16**:719–732. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn4038>, PMID: 26530468
- Kim H-J**, Jeon BS, Paek SH. 2015. Nonmotor symptoms and subthalamic deep brain stimulation in Parkinson's Disease. *Journal of Movement Disorders* **8**:83–91. DOI: <https://doi.org/10.14802/jmd.15010>
- Kim HJ**, Jeon BS, Lee JY, Paek SH, Kim DG. 2012. The benefit of subthalamic deep brain stimulation for pain in Parkinson disease: a 2-year follow-up study. *Neurosurgery* **70**:18–24. DOI: <https://doi.org/10.1227/NEU.0b013e3182266664>, PMID: 21637137
- Kim HJ**, Paek SH, Kim JY, Lee JY, Lim YH, Kim MR, Kim DG, Jeon BS. 2008. Chronic subthalamic deep brain stimulation improves pain in Parkinson disease. *Journal of Neurology* **255**:1889–1894. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00415-009-0908-0>, PMID: 19159059
- Kitai ST**, Deniau JM. 1981. Cortical inputs to the subthalamus: intracellular analysis. *Brain Research* **214**:411–415. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)91204-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)91204-X), PMID: 7237177
- Klingelhofer L**, Samuel M, Chaudhuri KR, Ashkan K. 2014. An update of the impact of deep brain stimulation on non motor symptoms in Parkinson's disease. *Journal of Parkinson's disease* **4**:289–300. DOI: <https://doi.org/10.3233/JPD-130273>, PMID: 24613865
- Klop EM**, Mouton LJ, Hulsebosch R, Boers J, Holstege G. 2005. In cat four times as many lamina I neurons project to the parabrachial nuclei and twice as many to the periaqueductal gray as to the thalamus. *Neuroscience* **134**:189–197. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.03.035>, PMID: 15953685
- Kolomiets BP**, Deniau JM, Mailly P, Ménétrey A, Glowinski J, Thierry AM. 2001. Segregation and convergence of information flow through the cortico-subthalamic pathways. *The Journal of Neuroscience* **21**:5764–5772. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-15-05764.2001>, PMID: 11466448
- Krack P**, Batir A, Van Blercom N, Chabardes S, Fraix V, Ardouin C, Koudsie A, Limousin PD, Benazzouz A, LeBas JF, Benabid AL, Pollak P. 2003. Five-year follow-up of bilateral stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *New England Journal of Medicine* **349**:1925–1934. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa035275>, PMID: 14614167

- Kreiss DS, Anderson LA, Walters JR. 1996. Apomorphine and dopamine D(1) receptor agonists increase the firing rates of subthalamic nucleus neurons. *Neuroscience* **72**:863–876. DOI: [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)00583-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00583-8), PMID: 9157332
- Kremer JR, Mastrorade DN, McIntosh JR. 1996. Computer visualization of three-dimensional image data using IMOD. *Journal of Structural Biology* **116**:71–76. DOI: <https://doi.org/10.1006/jsbi.1996.0013>, PMID: 8742726
- Lardeux S, Paleressompouille D, Pernaud R, Cador M, Baunez C. 2013. Different populations of subthalamic neurons encode cocaine vs. sucrose reward and predict future error. *Journal of Neurophysiology* **110**:1497–1510. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.00160.2013>, PMID: 23864369
- Lardeux S, Pernaud R, Paleressompouille D, Baunez C. 2009. Beyond the reward pathway: coding reward magnitude and error in the rat subthalamic nucleus. *Journal of Neurophysiology* **102**:2526–2537. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.91009.2008>, PMID: 19710371
- Limousin P, Krack P, Pollak P, Benazzouz A, Ardouin C, Hoffmann D, Benabid AL. 1998. Electrical stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *New England Journal of Medicine* **339**:1105–1111. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJM199810153391603>, PMID: 9770557
- Magill PJ, Sharott A, Bevan MD, Brown P, Bolam JP. 2004. Synchronous unit activity and local field potentials evoked in the subthalamic nucleus by cortical stimulation. *Journal of Neurophysiology* **92**:700–714. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.00134.2004>, PMID: 15044518
- Mailly P, Haber SN, Groenewegen HJ, Deniau JM. 2010. A 3D multi-modal and multi-dimensional digital brain model as a framework for data sharing. *Journal of Neuroscience Methods* **194**:56–63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2009.12.014>, PMID: 20043949
- Matsumura M, Kojima J, Gardiner TW, Hikosaka O. 1992. Visual and oculomotor functions of monkey subthalamic nucleus. *Journal of Neurophysiology* **67**:1615–1632. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.1992.67.6.1615>, PMID: 1629767
- Matthews EA, Dickenson AH. 2001. Effects of spinally delivered N- and P-type voltage-dependent calcium channel antagonists on dorsal horn neuronal responses in a rat model of neuropathy. *Pain* **92**:235–246. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(01\)00255-X](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(01)00255-X), PMID: 11323145
- McHaffie JG, Kao CQ, Stein BE. 1989. Nociceptive neurons in rat superior colliculus: response properties, topography, and functional implications. *Journal of Neurophysiology* **62**:510–525. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.1989.62.2.510>, PMID: 2769344
- McIntyre CC, Savasta M, Kerkerian-Le Goff L, Vitek JL. 2004. Uncovering the mechanism(s) of action of deep brain stimulation: activation, inhibition, or both. *Clinical Neurophysiology* **115**:1239–1248. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2003.12.024>, PMID: 15134690
- Paxinos G, Watson C. 2005. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Sydney: Academic Press.
- Piallat B, Polosan M, Fraix V, Goetz L, David O, Fenoy A, Torres N, Quesada JL, Seigneuret E, Pollak P, Krack P, Bougerol T, Benabid AL, Chabardès S. 2011. Subthalamic neuronal firing in obsessive-compulsive disorder and Parkinson disease. *Annals of Neurology* **69**:793–802. DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.22222>, PMID: 21520240
- Reilly S, Trifunovic R. 2000. Lateral parabrachial nucleus lesions in the rat: aversive and appetitive gustatory conditioning. *Brain Research Bulletin* **52**:269–278. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(00\)00263-X](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(00)00263-X), PMID: 10856824
- Reilly S, Trifunovic R. 2001. Lateral parabrachial nucleus lesions in the rat: neophobia and conditioned taste aversion. *Brain Research Bulletin* **55**:359–366. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00517-2](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00517-2), PMID: 11489343
- Saper CB, Loewy AD. 1980. Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Research* **197**:291–317. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(80\)91117-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(80)91117-8), PMID: 7407557
- Sarhan M, Freund-Mercier MJ, Veinante P. 2005. Branching patterns of parabrachial neurons projecting to the central extended amygdala: single axonal reconstructions. *The Journal of Comparative Neurology* **491**:418–442. DOI: <https://doi.org/10.1002/cne.20697>, PMID: 16175547
- Schestatsky P, Kumru H, Valls-Solé J, Valldeoriola F, Martí MJ, Tolosa E, Chaves ML. 2007. Neurophysiologic study of central pain in patients with Parkinson disease. *Neurology* **69**:2162–2169. DOI: <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000295669.12443.d3>, PMID: 18056580
- Schneider JS. 1986. Interactions between the basal ganglia, the pontine parabrachial region, and the trigeminal system in cat. *Neuroscience* **19**:411–425. DOI: [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(86\)90271-X](https://doi.org/10.1016/0306-4522(86)90271-X), PMID: 3774149
- Schwedt TJ, Chong CD, Chiang CC, Baxter L, Schlaggar BL, Dodick DW. 2014. Enhanced pain-induced activity of pain-processing regions in a case-control study of episodic migraine. *Cephalalgia* **34**:947–958. DOI: <https://doi.org/10.1177/0333102414526069>, PMID: 24627432
- Swett JE, Woolf CJ. 1985. The somatotopic organization of primary afferent terminals in the superficial laminae of the dorsal horn of the rat spinal cord. *The Journal of Comparative Neurology* **231**:66–77. DOI: <https://doi.org/10.1002/cne.902310106>
- Sürücü O, Baumann-Vogel H, Uhl M, Imbach LL, Baumann CR. 2013. Subthalamic deep brain stimulation versus best medical therapy for L-dopa responsive pain in Parkinson's disease. *Pain* **154**:1477–1479. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.03.008>, PMID: 23632230
- Tinazzi M, Del Vesco C, Defazio G, Fincati E, Smania N, Moretto G, Fiaschi A, Le Pera D, Valeriani M. 2008. Abnormal processing of the nociceptive input in Parkinson's disease: a study with CO₂ laser evoked potentials. *Pain* **136**:117–124. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2007.06.022>, PMID: 17765400
- Tokuno H, Takada M, Ikai Y, Mizuno N. 1994. Direct projections from the deep layers of the superior colliculus to the subthalamic nucleus in the rat. *Brain Research* **639**:156–160. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91776-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91776-0), PMID: 8180831

Urch CE, Donovan-Rodriguez T, Dickenson AH. 2003. Alterations in dorsal horn neurones in a rat model of cancer-induced bone pain. *Pain* **106**:347–356. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2003.08.002>, PMID: 14659517

7 – Résultats

Etude 2 : Traitement sous-cortical de l'information nociceptive dans deux modèles rongeurs de la maladie de Parkinson

Les résultats de l'étude 2 sont présentés sous la forme d'un manuscrit qui sera prochainement soumis pour publication, intitulé: '*Abnormal Subcortical Nociceptive Processing in Rodent Models of Parkinson's Disease.*' et dont je suis premier auteur. Ces résultats s'inscrivent dans la continuité directe de l'étude 1, et proposent d'étudier l'impact d'une dégénérescence dopaminergique de la SNc sur le fonctionnement du réseau nociceptif décrit précédemment. En effet, la MP qui se caractérise par la perte des neurones dopaminergiques de la voie nigro-striée, est également associée à une forte prévalence de la douleur chronique chez les patients. Ce constat suggère que la dopamine possède un rôle important dans la nociception. Il est important de rappeler ici, qu'une des hypothèses physiopathologiques de la MP suggère que les neurones GABAergiques de la SNr deviennent hyperactifs, sur-inhibant alors leurs cibles de projection. Parmi ces cibles de projection, on retrouve le PBN, dont nous avons montré lors de l'étude 1 qu'il transmettait l'information nociceptive au NST. Il paraît donc probable que l'encodage nociceptif par les neurones du PBN soit altéré dans le contexte Parkinsonien. Il est également envisageable que cette information nociceptive erronée se propage à l'ensemble du réseau des GB. Dans ce travail, nous proposons donc d'évaluer l'état fonctionnel de ce réseau sous-cortical reliant PBN-NST-SNr consécutivement à une dénervation dopaminergique, par électrophysiologie *in-vivo*. Dans ce but, nous avons opté pour deux modèles rongeur de la MP, présentant des degrés croissants de déplétion dopaminergique, afin d'évaluer plus précisément l'impact de la dénervation dopaminergique sur la nociception. Nous rapportons ici que les deux modèles utilisés diffèrent quant aux réponses nociceptives enregistrées. Ainsi :

1) les neurones du NST et de la SNr présentent une hyperactivité et une hypersensibilité aux stimuli nociceptifs chez les animaux ayant subi une lésion totale de la SNc. Seules les réponses nociceptives phasiques des neurones de la SNr sont exacerbées chez les animaux ayant subi une lésion partielle de la SNc.

2) les neurones du PBN présentent des réponses nociceptives anormales (latences augmentées, amplitudes diminuées) uniquement chez les animaux ayant subi une lésion totale de la SNc.

Ces résultats suggèrent la présence de mécanismes de neuroplasticité compensatoire efficaces au sein des neurones du PBN des animaux présentant une lésion partielle de la SNc. Ceci est confirmé au travers du test de la *hotplate* lors duquel seuls les rats avec une lésion totale de la SNc présentaient une nociception anormale. Par la suite nous démontrons la présence de ces phénomènes neuroplastiques en électrophysiologie. La stratégie consistait à diminuer pharmacologiquement l'influence exacerbée de la SNr et d'enregistrer simultanément

les réponses nociceptives au sein de neurones du PBN. Si des phénomènes neuroplastiques étaient apparus au sein des neurones du PBN, alors la réduction soudaine du tonus inhibiteur en provenance de la SNr devrait les révéler sous la forme d'un rebond de leur activité, qui serait absent chez les rats contrôles. Nous avons ainsi révélé qu'une plasticité se mettait en place dès le stade de lésion partielle et qu'elle était toujours présente au stade de lésion totale mais probablement plus suffisante pour maintenir un fonctionnement normal des neurones du PBN. Ces mécanismes neuroplastiques ont ensuite été étudiés plus en détail, et nous avons mis en avant des changements dans la morphologie des épines dendritiques des neurones du PBN laissant supposer un fort recrutement de synapses excitatrices chez nos animaux Parkinsoniens. Ces résultats suggèrent donc que le rebond d'activité révélé dans les neurones PBN après la réduction du contrôle inhibiteur du SNr est la conséquence :

1) de l'augmentation du contrôle inhibiteur des neurones de la SNr dans le contexte Parkinsonien ;

2) du remodelage des épines dendritiques des neurones du PBN dans le but de maintenir l'homéostasie dans les rats modèles de la MP.

Cette étude confirme donc l'existence de profonds dysfonctionnements liés à la nociception au sein du réseau des GB au cours de la maladie de Parkinson. Elle démontre également que le dysfonctionnement du réseau des GB n'est pas sans conséquence sur les structures placées sous leur contrôle, comme le PBN. Du point de vue fondamental elle vient préciser que les connexions que forment les GB avec des structures sous-corticales sont bien plus complexes qu'initialement envisagé. Elle vient également révéler la présence de phénomènes neuroplastiques se produisant dans les neurones du PBN afin de tenter de maintenir l'homéostasie. Cette plasticité, qui se produit dans une structure clé de la voie nociceptive ascendante, fournit un nouveau substrat neuronal pour les symptômes de douleurs Parkinsoniennes.

Abnormal Subcortical Nociceptive Processing in Rodent Models of Parkinson's Disease.

Arnaud Pautrat^{1,2}, Racha Al Tannir^{1,2}, Estelle Vendramini^{1,2}, Karin Perney-Galley,^{1,2} Valérie Sinniger³, Olivier David^{1,2} and Véronique Coizet^{1,2}

¹Inserm, U1216, F-38000 Grenoble, France

²Univ. Grenoble Alpes, GIN, F-38000 Grenoble, France

³Service d'Hépatogastroentérologie, CHU Grenoble, F-38043, France

Abstract

Parkinson's disease (PD) is associated with pain symptoms that are presumed to be linked with the dopaminergic denervation of the substantia nigra compacta (SNc). A classic hypothesis in PD suggests that GABAergic neurons in the substantia nigra reticulata (SNr) are hyperactive, increasing their inhibitory influence on their projection targets. The parabrachial nucleus (PBN), a key structure of the nociceptive pathway, is one of SNr projection target. We recently described a connection between the PBN and the subthalamic nucleus (STN), providing nociceptive information to the basal ganglia (BG). However, the functional state of this nociceptive network is unknown in the context PD. In the present work, using *in vivo* electrophysiology in PD rat models, we report that STN and SNr neurons exhibit hyperactivity and hypersensitivity to nociceptive stimuli. We also show that nociceptive information coding is altered in the PBN following heavy dopaminergic lesion of the SNc but normal following its partial lesioning, suggesting the presence of compensatory neuroplasticity mechanisms in PBN neurons. We further characterized these compensatory mechanisms with electrophysiology, by inhibiting SNr pathological influence and recording simultaneously the activity of PBN. After SNr inhibition, PBN neurons recorded in PD rats only presented a rebound activity and larger nociceptive responses. Those compensatory mechanisms are involving new synapses formation, as demonstrated with Golgi-cox staining showing increased spine density and branched spine morphology. Taken together these results report that nociception is impaired in the BG and that plasticity is occurring in PBN neurons in an attempt to maintain homeostasis. This plasticity, occurring in a key structure of the ascending nociceptive pathway, provides a new neural substrate for PD pain symptoms.

Introduction

Pain is a common non-motor symptom in Parkinson's disease (PD) with a prevalence ranging from 40% to 85% (Gandolfi et al., 2017; Nègres-Pagès et al., 2008). Pain in PD has a strong impact on the patient's quality of life (Politis et al., 2010) and often worsens with time (Defazio et al., 2008; Nègres-Pagès et al., 2008). Patients describe bizarre burning, stabbing, aching itching or tingling sensations which are predominant on the more affected side of the body (Snider et al., 1976; Schestatsky et al., 2007). Those primary pain symptoms are assumed to originate from a dysfunction of the central nervous system, notably the basal ganglia (BG) network (Jarcho et al., 2012; Zambito-Marsala et al., 2017). It has been well documented that PD is associated with a dysfunction of BG (Wichmann, 2019; Bergman et al., 2008). Interestingly, the BG are also involved in the processing of nociceptive information (Chudler, 1993; Chudler and Dong, 1995; Coizet et al., 2010), including the STN (Pautrat et al., 2018). We recently described a new anatomical and functional link between the parabrachial nucleus (PBN), a key pontine structure in nociception (Gauriau and Bernard, 2010; Bester et al., 1995), and the STN (Pautrat et al., 2018). We revealed that this connection is providing the STN with nociceptive information at short latencies. We also presented evidences of complex processing of these information in STN neurons, and demonstrated that the integrity of this structure is crucial for the rat nociceptive perception. This may explain why STN deep brain stimulation is an efficient therapeutic technique in alleviating pain symptoms in PD (Cury et al., 2014; Dellapina et al., 2012; Jung et al., 2015). STN neurons project heavily to the output structures of the BG such as the substantia nigra pars reticulata (SNr) (Alexander et al., 1986; Van der Kooy and Hattori, 1980) which, in turns, project back to the PBN (Schneider, 1986), creating an anatomical circuit linking the PBN-STN-SNr. On a fundamental point of view, such nociceptive subcortical network would provide the brain a fast way to react, and adjust ongoing behavior with negative outcomes. This is consistent with the hypothesis that places the STN as a key structure for the brain interrupt circuitry (Wessel et al., 2016; Jahanshahi et al., 2015). This network would also be important in the context of PD and pain symptoms. The pathological elevated activity of the STN found in Parkinsonism (Albin et al., 1995; Bergman et al., 1994; DeLong, 1990), and the abnormal STN pain processing shown in PD patients (Belasen et al., 2016) and PD rat models (Heise et al., 2008; Pautrat et al., 2018), could therefore disrupt the ability of this network to process nociceptive inputs. This may underlie some of the unexplained painful sensations described by PD patients.

A previous work from our group, studying subcortical sensory information processing in PD rat models, reported exacerbated visual responses in the superior colliculus (SC), a multi-sensory structure from the brainstem. In this study, we also showed that this amplified visual information was transmitted to the STN, and suggested that SC exacerbated light responses in PD rats

were the cause of neuroplasticity (Rolland et al., 2013). Because the SC and the PBN have similar connections with the basal ganglia input (Coizet et al., 2009; Tokuno et al., 1994; Pautrat et al., 2018) and output structures (Deniau and Chevalier, 1992; Schneider, 1986), it is thus likely that the processing of noxious information by PBN neurons may also be impaired in PD.

In this context, the main objective of the present work was to evaluate nociceptive processing in PBN, STN and SNr of hemiparkinsonian rats lesioned with either a partial or total dopaminergic denervation in the SNc. We first evaluated their nociceptive perception behaviorally. We then measured STN, SNr and PBN nociceptive responses, using *in vivo* extracellular electrophysiology. We further completed this analysis by measuring markers of anatomical neuroplasticity in PBN neurons that may explain some of the physiological results we have obtained.

Material and methods:**Material & Methods:****Animals:**

Long Evans male rats (N = 61) were used for these experiments. They were kept in the same standard environmental conditions (12 h light/dark cycle) at a constant temperature 22 °C, with food and water provided ad libitum. The experiments were carried out in accordance with the policy of Lyon 1 University, the Grenoble Institute des Neurosciences (GIN) and the French legislation, experiments were done in compliance with the European Community Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC). The research was authorized by the Direction Départementale des Services Vétérinaires de l'Isère - Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, France (Coizet, Véronique, PhD, permit number 381003). Every effort was made to minimize the number of animals used and their suffering during the experimental procedure. All procedures were reviewed and validated by the "Comité éthique du GIN n°004" agreed by the research ministry.

Hot-Plate test:

Nociceptive thermal threshold assessments were performed using the hot-plate test (HPT) on lesioned and control animals (Sham = 23; Partial DA lesion = 20; Total DA lesion = 18). The HPT consists of placing the rat on a metal pan warmed at 53°C. The latency of hind-paw licking, vocalization or foot stomping was measured. Additionally, the rat's behavior was assessed during this test and exploratory behavior checked in order to evaluate eventual motor deficits. Parameters such as rearing, full turn and change of direction when turning were counted.

6-OHDA lesions:

Male Long Evans rats (n = 61) were anaesthetized with isoflurane and placed in a stereotaxic frame. Their head was shaved, cleaned and disinfected with Vétédine® and a midline incision was performed on the scalp to allow access to the skull. A burr-hole was then drilled above the substantia nigra pars compacta of the right hemisphere, and 6-hydroxydopamine Hydrobromide (Sigma-Aldrich) injections were made with a 30G canula connected with polyethylene tubing to a 10µL Hamilton syringe and driven by an infusion pump at 0,5µL/min. At the end of the injection, the cannula was left in place for 5min to allow infusion of the toxin. Animals were divided in three groups according to the injection protocol: **i)** A group with a partial dopaminergic lesion (Partial DA lesion, n = 20) that receives 1,0µL of 6-OHDA at the following coordinates: Antero-posteriority (AP): +3,0 mm; Mediolaterality (ML): +2,4 mm and Dorso-ventral (DV): +2,4 mm from interaural zero; **ii)** A group with a total dopaminergic lesion

(Total DA lesion, n = 18) that receives 3,0 μ L of 6-OHDA at the following coordinates: Antero-posteriority (AP): +3,0 mm; Mediolaterality (ML): +2,1 mm and Dorso-ventral (DV): +2,5 mm from interaural zero; **iii**) A group control group that receives the excipient (sterile 0,9% NaCl) instead of the with 6-OHDA (Sham, n = 23) the following coordinates: Antero-posteriority (AP): +3,0 mm; Mediolaterality (ML): +2,4 mm and Dorso-ventral (DV): +2,4 mm from interaural zero according to the rat brain atlas (Paxinos and Watson, 2005).

Electrophysiology:

A delay of three weeks minimum was respected to allow the 6-OHDA-induced lesion to stabilize. Rats (N = 45; Sham = 23; Partial DA lesion = 20; Total DA lesion = 18) were then anaesthetized with an intra-peritoneal injection of ethyl carbamate (urethane, 1,25g/kg, Sigma-Aldrich) and placed in a stereotaxic frame. The body temperature was maintained at 37°C with a thermostatic heating blanked throughout the recording sessions. Two stainless steel electrodes (E363-1, Plastics One, Roanoke, VA) were inserted into the left hindpaw to perform nociceptive stimulations. One was placed under the skin of the plantar surface of the foot, the other was placed under the skin of medial aspect of the lower leg. Three craniotomies were then performed to allow simultaneous access to the STN, SNr and PBN. Extracellular voltage excursions were amplified, band-pass filtered (300 Hz–10 kHz), digitized at 10 kHz and recorded directly onto computer disc using a Micro 1401 data acquisition system (Cambridge Electronic Design [CED] Systems, Cambridge, UK) running CED data capture software (Spike 2).

STN single unit-recordings:

Extracellular single-unit recordings were obtained from STN neurons simultaneously to the SNr and PBN, on the right hemisphere (contralateral side of the stimulated hindpaw), using glass micropipette pulled via a vertical electrode puller (Narashige Laboratory Instruments Ltd. Tokyo, Japan) with a tip diameter <1,0 μ m and impedances ranging 5-20M Ω (measured at 135Hz in 0,9% NaCl). Electrodes were filled with 0,5M saline and 2% pontamine sky blue (BDH Chemicals Ltd., Poole, UK). The electrode was lowered into the brain at the following coordinates (AP): 3,6-4,16 mmcaudal to Bregma; (ML): 2,0-3,0 mm lateral to midline and (DV): 6,8-8,2 mm ventral to the brain surface according to the rat brain atlas (Paxinos and Watson, 2005). The STN electrode was lowered until a putative STN neuron was identified on the basis of several criteria as follows previously described (Pautrat et al., 2018).

SNr single multi-recordings:

Extracellular multi-unit recordings were obtained from SNr simultaneously to the STN and PBN, on the right hemisphere (contralateral side of the stimulated hindpaw), using tungsten-

parylene electrode (Phymep, Paris, France) coupled to a 30G stainless canula filled with the GABA_A agonist muscimol (0,25µg/µL). An angle trajectory was used, the electrode was tilted medially by 28°, entering the brain on the left hemisphere to end in the right SNr at the following coordinates : (AP): 5,4 mm caudal to Bregma; (ML): 1,8 mm lateral to midline. SNr was encountered at 8,4 mm ventral to the brain surface according to the rat brain atlas (Paxinos and Watson, 2005). Muscimol microinjections of 0,5µL were made via a 10µl Hamilton syringe and driven by an infusion pump at 0,5µL/min.

PBN single unit-recordings:

Extracellular single-unit recordings were obtained from PBN simultaneously to the STN and PBN, on the right hemisphere (contralateral side of the stimulated hindpaw), using glass micropipette pulled via a vertical electrode puller (Narashige Laboratory Instruments Ltd. Tokyo, Japan) with a tip diameter <1,0µm and impedances ranging 5-20MΩ (measured at 135Hz in 0,9% NaCl). Electrodes were filled with 0,5M saline and 2% pontamine sky blue (BDH Chemicals Ltd., Poole, UK). The electrode was lowered into the brain using an angle approach with the electrode tilted at 30° towards the rostral aspect of the brain. The electrode entered the brain at the following coordinates (AP): 11,2-12,0 mm caudal to Bregma; (ML): 2,5-3,0 mm lateral to midline. PBN neurons were encountered 5.0-5.6mm below the brain surface according to the rat brain atlas (Paxinos and Watson, 2005).

Nociceptive stimulations:

Electrical stimulations were performed in the left hindpaw (contralateral to the 6-OHDA-induced lesion and recording sites). Electrical stimulations consisted of 5mA stimulations presented 120 times at 0,5Hz. The nociceptive nature of this protocol was ascertained in previous studies (Coizet et al., 2006, 2010; Pautrat et al., 2018). The activity of the cells (single-unit in STN/PBN and multi-unit activity in the SNr) was recorded during a control period (120 trials of sham stimulation) and then during the application of noxious footshocks (120 trials). For the muscimol experiments, an injection of muscimol was made in the SNr. Typically, a change in local SNr multiunit activity was seen within 2 minutes after the injection. Noxious electrical footshocks were applied throughout this period, until either the effects of the drug wore off, or the PBN cell was lost. After a complete trial, further PBN neurons were tested in the same way.

Recordings analysis:

Following the recording sessions, peri-stimulus time interval histograms (PSTHs) were constructed based on SNr multi-unit (bin width 1 ms) and STN/PBN single-unit data (bin width 10 ms). PSTHs were imported into an Excel program (Peter Furness, University of Sheffield; Coizet et al., 2006, 2009, 2010; Dommert et al., 2005; Pautrat et al., 2018), which allowed to

analyze the following response characteristics: **i)** Baseline firing rate: the mean number of single/multi-unit events during the 500 ms bins prior to the footshock; **ii)** Response latency: the latency of a nociceptive evoked response was marked as the point when the value of post-stimulation events exceeded 1,96 S.D. (single-unit) or 3,00 S.D. (multi-unit) of the baseline firing rate; **iii)** Response duration: response offset was recorded when post-stimulation activity returned to a value 1.96/3,0 S.D. of the baseline firing rate; **iv)** Peak amplitude of the response: the maximum amplitude during the response; **v)** Response mean: the mean number of single/multi-unit events between response onset and offset. In other words, the area under the curve during the response.

Histology:

The final recording site of the STN and PBN electrodes (glass micropipettes) was identified with Pontamine Sky Blue injection performed by passing a constant cathodal current of 27,5 μ A through the electrode during 20min. The position of the tungsten electrode was marked with a small lesion performed by applying a 10 μ A DC current for 1min through the electrode. Animals were then euthanized by overdose of pentobarbital (60 mg/kg, i.p.) and perfused with 250mL of 0,9% saline followed by 250mL of 4% formaldehyde. Brains were dissected and postfixed in the same fixative overnight at 4°C before being cryo-protected in 20% sucrose solution for 36hrs. Brains were then snap-frozen in -50°C isopentane and stored at -20°C. Two series of coronal sections of 30 μ m in thickness were obtained, one was directly mounted on gelatin-coated slides and stained with cresyl-violet. The other was placed in anti-freeze solution and stored at -20°C for immunohistochemistry. Recording sites were then checked under the microscope and recordings trajectories were reconstructed onto sections of the atlas of Paxinos and Watson (2005).

6-OHDA lesions:

The extent of the DA denervation induced by 6-OHDA injections in the SNc was determined using tyrosine hydroxylase (TH) immunohistochemistry. To reveal TH, the sections were washed and incubated in a blocking solution containing 0,1M PB with 0,3% of triton X-100 (TX), 2,5% of Bovine Serum Albumin (BSA) and 5% normal horse serum (NHS) for 2 hrs before being transferred overnight to a 0,1M PB-TX 0,3% with 1% BSA and 2% NHS containing the primary mouse monoclonal TH anti-body, diluted 1:3,000 (Chemicon, Hampshire, UK). The following day, sections were washed in 0,1M PB and incubated with the secondary antibody, biotinylated antimouse made in horse (in a dilution of 1:1,000 in 0,1M PB-TX 0,3% with 2% NHS) for 2 hrs. Following further washes in 0,1M PB, the sections were exposed to the elite Vectastain ABC reagent (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) diluted 1:100 in PB-TX 0,3%, for 2 hrs. Again following washes in 0,1M PB, immunoreactivity was revealed by

exposure to nickel enhanced 3,3'-Diaminobenzidine (DAB, Sigma-Aldrich) for 2 min, which produced a black reaction product. Sections were then mounted onto gelatin-coated slides, dehydrated through alcohols and cleared in xylene before being coverslipped with DPX. TH-immunolabelling of DA neurons and terminals was evaluated using a light microscope (Nikon, Eclipse 80i, TRIBVN, Chatillon, France) coupled to the ICS Framework computerized image analysis system (TRIBVN, 2.9.2 version, Chatillon, France). For quantification, TH-labeled coronal sections of SNc (AP -5.3 mm to -5.8 mm from Bregma) and striatum (AP 0.20 mm to -0.30 mm from Bregma) were digitized using a Pike F-421C camera (ALLIED Vision Technologies Stradtroda, Germany). Optical densities (OD) were then measured for denervated hemisphere (right) and non-denervated hemisphere (left) of operated animals. OD of the lesioned hemisphere was then compared to the non-lesioned hemisphere in each animal.

Golgi staining:

Rats (Sham = 5; Partial DA lesion = 4; Total DA lesion = 3) were euthanized with pentobarbital (60 mg/kg, i.p.) injection and perfused as previously described. The brains were then collected and placed in 4% formaldehyde overnight for post-fixation. Brains were placed in Golgi-cox solution (1% potassium dichromate, 1% potassium chromate, 1% mercuric chloride) for two days. The solution was then replaced by a fresh one and brains were immersed for 12 more days in the Golgi-cox solution. The incubation (total of 14 days) was done in the dark at room temperature. Brains were then washed in 1% potassium dichromate for 24 hours, placed in 20% sucrose for 24 hours for cryo-protection and then snap-frozen in -50°C isopentane. Two sections of brain slices were cut, the first one consisted of 30µm thick slices centered on the striatum and SNc (AP: +0,2/-0,3 mm ; AP: -5,2/-5,8 mm after Bregma, respectively) and was collected in anti-freeze solution and stored and -20°C for anti-TH immunohistochemistry. The second one consisted in 80 µm thick slices centered on the PBN (AP: -8.8mm to -10.0mm after Bregma) transferred directly onto gelatin-coated slides. This thickness allowed optimal preservation of the tissue and observation of spines on the secondary and tertiary dendritic segments. Microscope slides were then developed with Kodak rapid-fix diluted at 1:6 in distilled water, dehydrated in alcohols and coverslipped in DPX. Sections were allowed to dry at room temperature for 72 hours, slides were cleaned and scanned.

Golgi reconstruct software:

Slides stained with the Golgi-cox techniques were scanned using Axio Z. Scan at 400x magnification. 10 Z-stacks with a 2.0µm step were taken, centered on the PBN region. Images were then used on the reconstruct software that utilizes the distinct geometric characteristics

of spines as the basis for their categorization (see Risher et al., 2014 for details). Dendritic sections of neurons clearly located in the PBN were analyzed. Parameters such as spines length, width and number were collected. The software then classifies the spine morphology automatically based on these measurements, displaying information such as dendrite length/width, total spines count, percentage of mushroom/ stubby/ filopodia/ branched spines, and spine density. A minimum of 5 dendrites located on different neurons were measured for each animal. In total, the length of analyzed dendrite sections was ~600 μm /animal.

Electron microscopy:

Three rat per group were used for this experiment (N = 9). Slices centered on the PBN were embedded in an epoxy resin. For this purpose, samples were washed, post-fixed with 1% osmium tetroxide in phosphate buffer, 0.1M pH 7.2 during 25 minutes, stained in 1% uranyl acetate 70% Ethanol pH 4 during 40 minutes in the dark and dehydrated through graded ethanol series before being embedded in epoxy resin (Flukka) between two sheets of Aclar film. Samples were let to polymerize during 3 days at 60°C. Ultrathin sections of the sample (50 nm) were cut with an ultra-microtome (Leica ultracut). Sections were then stained in uranyl acetate and lead citrate before being viewed under a transmission electron microscope at 80kV (JEOL 1200EX). Images of the synapse were taken at 12 000 and 50 000 magnifications with a digital camera (Veleta, Olympus) (n = 50 / animal) and morphometric measurements were done with ITEM software (Soft Imaging System). Experiments were performed in collaboration with the Electron Microscopy facility of the Grenoble Institute of Neurosciences (MEC).

Statistics:

All statistic tests were performed using GraphPad Prism v6.01 software. The statistical reliability of differences between the three groups for all data was assessed using ANOVA analysis followed by Tukey *post-hoc* multiple comparison test. Comparisons of response durations, response latencies, peak amplitudes and response means before and after injections of muscimol in SNr were tested using Two-way-ANOVA on repeated measures followed by Bonferroni's *post-hoc* multiple comparison test. STN/PBN baseline firing rate change before and after the noxious stimulation was assessed during the 500 ms before the sham and noxious stimulations. The data were imported in MATLAB, binned and compared using a Wilcoxon test. STN/PBN firing patterns were also assessed using MATLAB according to the methodology developed by Piallat et al. (2011). Neurons were classified as irregular, regular or bursting according to the interspike distributions and autocorrelograms. Burst activity showed a wide or bimodal interval interspike distribution and a significant single peak on the autocorrelation function. Irregular activity was characterized by a wide interval interspike

distribution and a flat autocorrelogram. Regular activity was characterized by a narrow interval interspike distribution and an autocorrelogram with multiple regular peaks. Results in the text are represented as: mean \pm SEM. Significance threshold was set at $p < 0,05$.

Results

Histology - 6-OHDA lesion

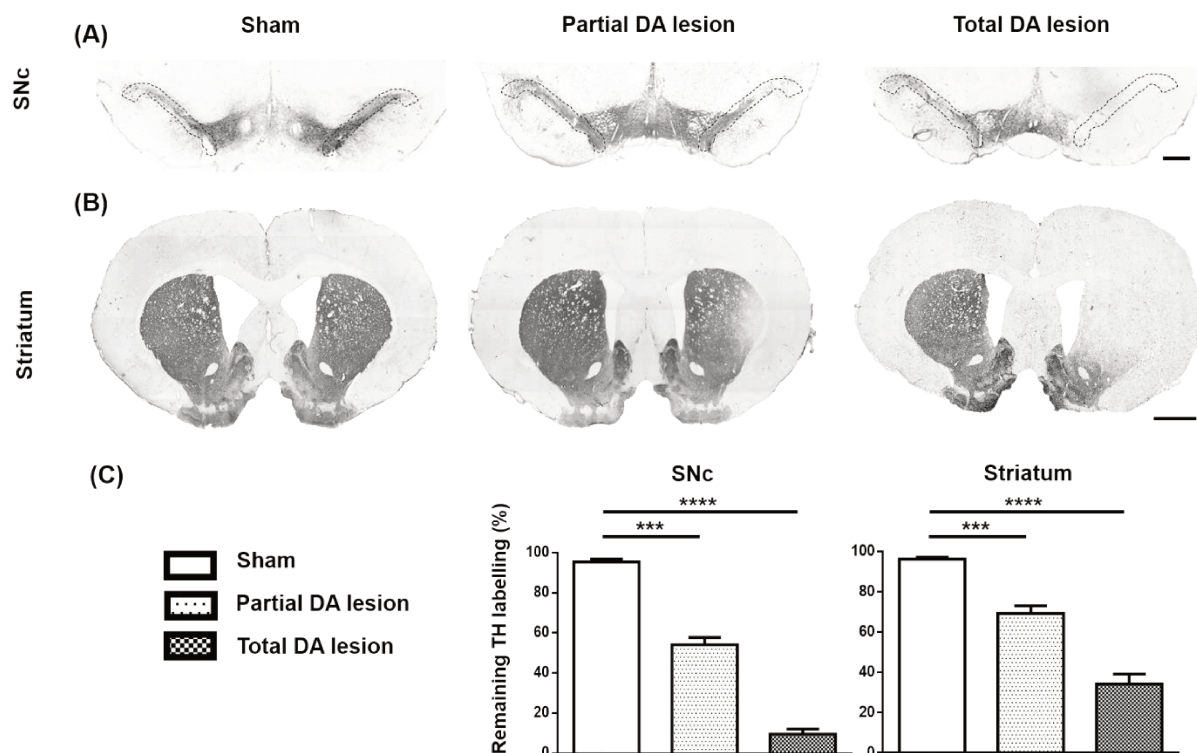


Figure 1: Parkinson's disease rat models. Top panels: Individual examples of rat brain coronal sections immunostained against tyrosine hydroxylase illustrating the dopaminergic lesion in the SNc (A) and the striatum (B). The three different groups used are: sham (left, n=23), partial DA lesion (middle, n=20) and total DA lesion (right, n=18). The dotted lines in the SNc highlight the dopaminergic denervation, scale bars: 1mm. (C) Histograms of mean percentage (\pm SEM) of the remaining TH labelling in the SNc (left) and striatum (right) for sham, partial and total DA lesion groups. ANOVA followed by Tukey's post-hoc test. *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Abbreviations: DA: dopamine; SNc, substantia nigra pars compacta.

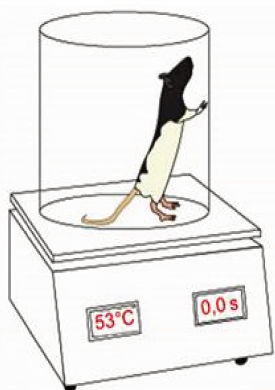
The extent of the dopamine lesion induced by 6-OHDA was assessed by immunohistochemistry against tyrosine hydroxylase (TH) at both striatal and SNc levels. As illustrated in figure 1, we differentiated three different experimental groups. The first group was composed of sham rats in which sterile saline solution was injected in the right SNc instead of the toxin (sham, N = 23). The second group had a partial unilateral dopaminergic denervation of the SNc (partial DA lesion, N = 20). In these rats, TH-labeling was reduced to an average of $54.12 \pm 3.71\%$ in the SNc and $69.25 \pm 3.89\%$ in the striatum. The remaining dopamine neurons were located in the medial part of the SNc innervating the more ventral part of the striatum (Figure 1A). The third group received a total unilateral dopaminergic denervation of the SNc (total DA lesion, N = 18). In these animals, only $9.47 \pm 2.48\%$ of TH-labeled neurons remained in the SNc on the lesioned side, leading to a striatal innervation of $34.32 \pm 4.93\%$. The difference between these three groups in terms of percentage of remaining TH-labelling at

both striatal and SNc levels was statistically significant. (Striatum: $F[2,58]= 45.58, p<0.0001$; SNc: $F[2,56]= 51.29, p<0.0001$) (Figure 1C).

Effect of dopamine depletion on nociception in behaving animals

To evaluate the involvement of SNc dopamine lesion in nociceptive responses, we tested the sham, partial and total DA lesion rats behaviorally using the hot-plate test (Figure 2A). The total DA lesion affected the nociceptive responses of rats. This group of rats had significant higher latencies to produce the first sign of discomfort (paw-withdrawal) when compared to the sham or the partial DA lesion rats (sham= $11,79 \pm 1,03$ sec; partial DA lesion= $11,73 \pm 0,75$ sec; total lesion= $19,07 \pm 1,87$ sec; $F[2,35]= 11,00, p<0,001$) (Figure 2B). We measured the rat exploratory behavior in the hot plate test by counting the number of rearing, full turn and change of direction when turning within the round plastic wall. We divided this number by the time spend by the rat in the test to obtain an exploratory value per second and compare the three experimental groups of rats. We could not find a significant difference of this value between the sham, partial and total DA lesion rats ($F(2.36) = 0.8353; p = 0.442$).

(A) Hot Plate Test



(B)

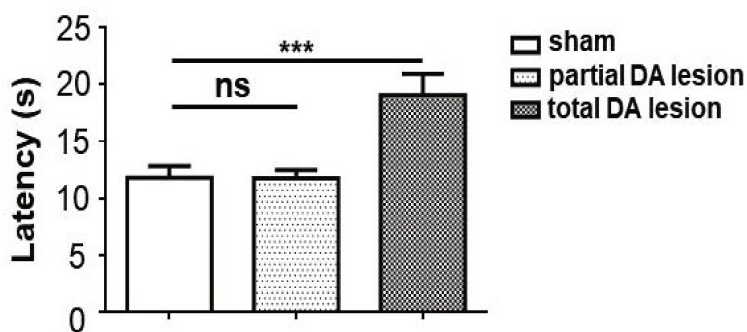


Figure 2: Effect of Dopamine depletion on the rat’s nociceptive responses. (A) Illustration of the hot plate test used to assess nociceptive responses in behaving animals. The latency to paw withdrawal was measured with a temperature of 53°C. (B) Histograms of the mean latency (\pm SEM, in seconds) to paw withdrawal in sham (n=14), partial lesion (n=13) and total lesion rats (n=12). ANOVA followed by Tukey’s post-hoc test. *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$

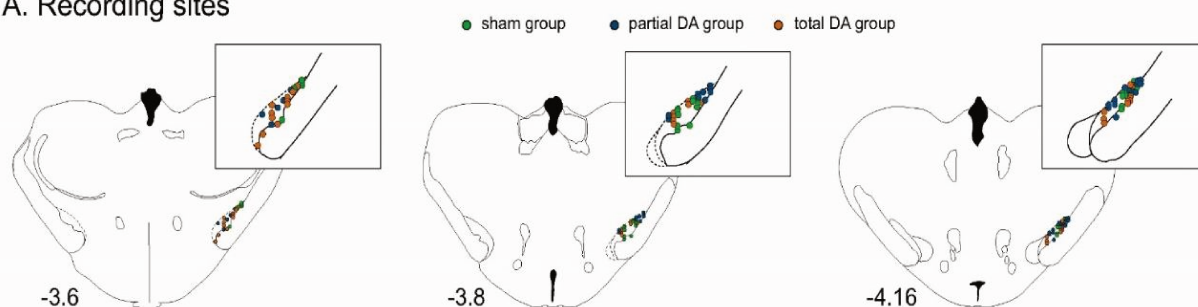
Electrophysiology

Subthalamic nucleus

Recording sites and neurons. A total of 33, 33 and 41 cells were recorded across the STN in the sham, partial and total DA lesion rats (Figure 3A). In the sham group, the cells recorded in this experiment had in majority an irregular pattern (58 %, 19/33) and a bursting pattern (30 %, 10/33) similar with what has been described in the literature (Hamani et al., 2004)(Figure 3B). The remaining cells exhibited a regular pattern (3 %, 1/33) and a mixture of these features (9 %, 3/33). The proportion of irregular pattern was higher in the partial DA lesion rats (71 %, 24/34). The bursting pattern was exhibited by a small minority of STN cells in this group (18 %, 6/34), similarly to the regular pattern (6 %, 2/34) and the mixture (6 %, 2/34) which proportions were similar to the sham animals. The cell pattern of the total DA lesion group is characterized by a reduced number of irregular pattern (37 %, 15/41) and increased number of bursting pattern (49 %, 20/41). The proportion of regular pattern (10 %, 4/41) and mixture (5 %, 2/41) was comparable to the two other groups (Figure 3B).

Baseline firing rate. As illustrated in figure 4A, STN neurons recorded in the total DA lesion group had a significantly higher spontaneous activity when compared to sham or partial DA lesion rats (sham = $7,82 \pm 0,98$ Hz; partial DA lesion= $8,10 \pm 1,25$ Hz; total DA lesion= $11,52$

A. Recording sites



B. Firing Pattern

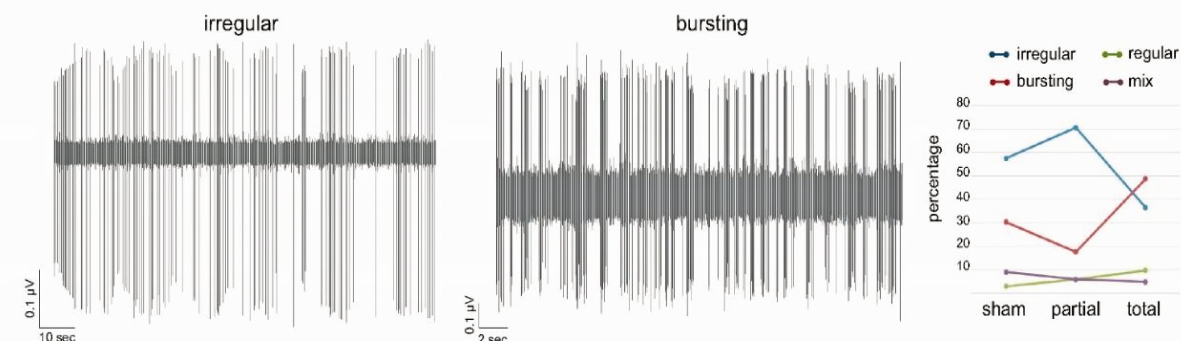


Figure 3: Histological and electrophysiological markers of recorded STN neurons. (A) Location of recordings sites within the STN for the sham (green dots), partial DA lesion (blue dots) and total DA lesion (orange dot) groups. (B) Left: Individual recordings illustrating STN irregular and bursting patterns. Right: Curves of the proportion of irregular (blue), bursting (red), regular (green) and mix (purple) patterns recorded in the sham, partial and total DA lesion rats. Note that the total DA lesion group is characterized by a higher number of bursting cells and lower number of irregular cells.

$\pm 1,35$ Hz; $F[2,105]= 3.17$, $p=0.05$) (Figure 4A). The presentation of the noxious stimulations did not change the baseline firing rate of STN neurons in the three experimental groups (sham: before: $8,27 \pm 1,45$ vs after $8,03 \pm 1,08$; partial DA lesion: before: $7,85 \pm 1,13$ vs after $7,77 \pm 0,99$; total DA lesion: before: $8,09 \pm 1,38$ vs after $8,32 \pm 1,29$), ANOVA repeated measures, $F[1,105] = 1,98$; $p = 0,16$). However, we previously demonstrated that three different baseline firing rate changes occurred in the STN with cells increasing, decreasing or not changing their firing rate with the introduction of the nociceptive foot-shock (Pautrat et al., 2018). Individual analysis of the baseline firing rate changes on each cells (Wilcoxon test) confirmed the presence of those three different groups. With the cells sampled in the sham group, we identified 12 (36 %) and 4 (12 %) cells showing a significant increase ('up' group) and decrease ('down' group), respectively in their baseline firing rate with the stimulation, and no significant change for the remaining 17 cells (52 %, 'no change' group). The number of 'up', 'down' and 'no change' cells was respectively of 16 (47%), 7 (21 %) and 11 (32 %) in the partial DA lesion group and 15 (36 %), 4 (10 %) and 22 (54 %) in the total DA lesion group. The details of the mean (\pm SEM) can be found in the table 1.

Phasic nociceptive responses. As previously described (Pautrat et al., 2018), STN neurons showed complex phasic responses to noxious stimulations delivered in the contralateral hindpaw (120 occurrences at 0,5Hz). Those response types could be found in the three experimental groups. Their pattern of responses was in majority a monophasic short-latency, long duration excitation ($n = 36$), a monophasic short-latency, short-duration response ($n = 24$), a tri-phasic +/-+ response characterized by an initial short-latency, short duration excitation, then an inhibition or a marked reduction in firing rate followed by a third late-latency and long lasting excitation ($n = 20$), a short latency biphasic ++ response composed of two successive excitations ($n = 18$) and a late long lasting monophasic excitation ($n = 9$).

ANOVA analysis revealed a significant increase of the mean nociceptive responses in the total DA lesion group compared to the sham or partial DA lesion group (sham = $14,96 \pm 1,70$ Hz; partial DA lesion= $18,73 \pm 2,20$ Hz; total DA lesion= $21,63 \pm 1,94$ Hz; $F[2,105]= 2.95$, $p=0,056$) (Figure 4B and C). Dopamine depletion did not altered the other parameters of the phasic response such as the peak amplitude (sham = $29,10 \pm 3,89$; partial DA lesion= $40,56 \pm 6,75$ Hz; total DA lesion= $38,92 \pm 5,02$ Hz; $F[2,105]= 1.29$, $p=0,28$), the latency (sham = $40,42 \pm 8,24$ ms; partial DA lesion= $34,30 \pm 7,23$ ms; total DA lesion= $42,17 \pm 7,28$ ms; $F[2,105]= 0,35$, $p=0,71$), or the duration (sham = $127,10 \pm 16,47$ ms ; partial DA lesion= $151,80 \pm 27,68$ ms; total DA lesion= $136,20 \pm 17,40$ ms; $F[2,105]= 0,32$, $p=0,72$) when compared to sham rats. The details of nociceptive response parameters and baseline firing rate can be found in Table 1.

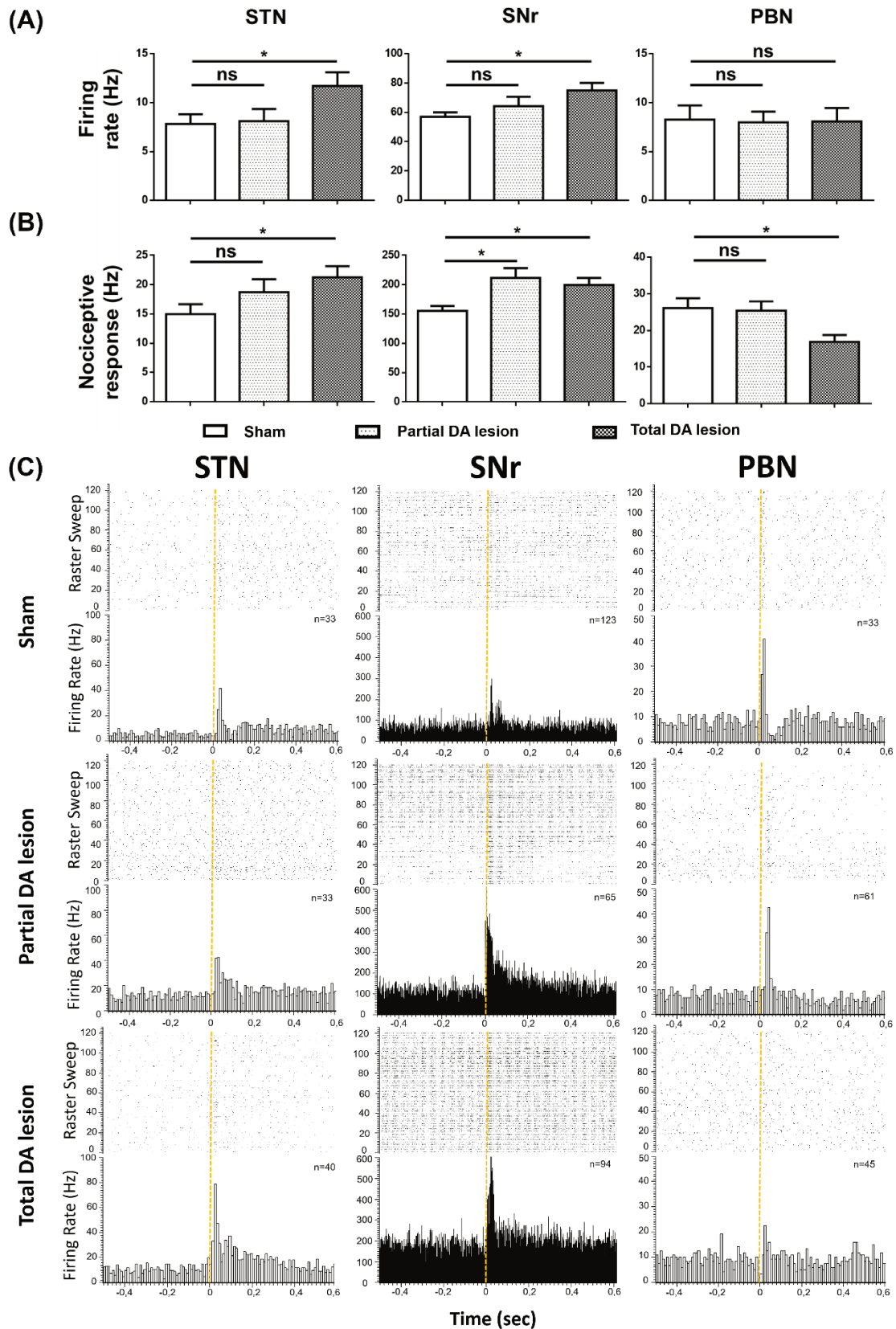


Figure 4: Effect of dopamine denervation on nociceptive responses in the subthalamic nucleus, substantia nigra pars reticulata and parabrachial nucleus. Histograms of the mean baseline firing rate (\pm SEM) (A) and the mean nociceptive responses (\pm SEM) (B) measured in the sham, partial and total DA lesion groups. (C) Peri-stimulus histograms and raster sweeps illustrating examples of nociceptive responses recorded in the subthalamic nucleus (STN, left), substantia nigra pars reticulata (SNr, middle) and parabrachial nucleus (PBN, right). Those recordings were made in sham rats (top), rats with a partial DA lesion (middle) and rats with a total DA lesion (bottom) of the substantia nigra pars compacta. The dotted yellow line represent the onset of the nociceptive stimulation delivered in the contralateral hindpaw. *Abbreviations:* DA: dopamine ; STN: Subthalamic nucleus; SNr: substantia nigra pars reticulata; PBN: parabrachial nucleus.

Substantia nigra pars reticulata

Recording sites. A total of 123, 65 and 94 sites were recorded within the SNr in the sham, partial DA lesion and total DA lesion animals respectively. The recording sites were mainly centered in the middle of SNr in antero-posteriority (Figure 5).

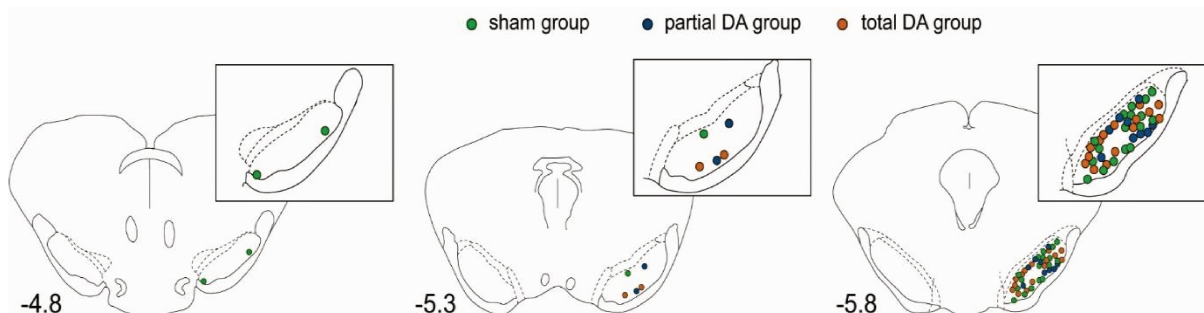


Figure 5: Histological reconstruction of recorded sites in substantia nigra pars reticulata. Location of recordings sites within the substantia nigra pars reticulata for the sham (green dots), partial DA lesion (blue dots) and total DA lesion (orange dot) groups.

Baseline firing rate. The SNr multi-unit activity was increased in the total DA lesion group (Figure 4A) when compared to the sham and partial DA lesion groups (sham = $56,92 \pm 3,06$ Hz; partial DA lesion = $64,19 \pm 6,36$ Hz; total DA lesion = $74,93 \pm 5,17$ Hz, $F[2,279] = 4.45$, $p < 0.05$). Those firing rates are consistent with those found in the literature in anaesthetized rats (Deniau et al. 2007). The introduction of the noxious stimulation significantly increased the baseline firing rate of SNr neurons in the three experimental groups (ANOVA repeated measures, $F[1, 279] = 31,82$; $p < 0,0001$). The details of the mean (\pm SEM) can be found in the table 1.

Phasic nociceptive responses. The noxious stimulation induced a phasic response with several patterns of response. Their pattern of responses was in majority a monophasic short-latency, short-duration excitation ($n = 157$), a monophasic short-latency, long-duration response ($n = 35$), a short-latency biphasic $+/+$ response composed of two successive excitations ($n = 67$), a short-latency biphasic $+/-$ response composed of an initial short-latency, short-duration excitation followed by a short inhibition ($n = 6$), and a tri-phasic $+/-/+$ response characterized by an initial short-latency, short-duration excitation, then an inhibition or a marked reduction in firing rate followed by a third late-latency and long lasting excitation ($n = 12$).

The ANOVA analysis revealed a significant increase of the mean nociceptive responses (sham = $155,3 \pm 8,32$ Hz; partial DA lesion = $211,6 \pm 16,60$ Hz; total DA lesion = $199,7 \pm 11,85$ Hz; $F[2,279] = 7,21$, $p < 0,001$) and greater peak amplitude (sham = $286,90 \pm 13,18$ Hz; partial DA lesion = $404,00 \pm 28,58$ Hz; total DA lesion = $357,00 \pm 21,75$ Hz; $F[2,279] = 8,78$, $p < 0,001$) in

both lesion groups compared to the sham group (Figure 4B and C). The dopamine depletion did not change SNr nociceptive responses latency when compared to the sham group, however, animals with a total DA lesion had significant longer latencies compared to the partial DA lesion rats (sham = $12,98 \pm 0,42$ ms; partial DA lesion = $12,09 \pm 0,63$ ms; total DA lesion = $14,28 \pm 0,49$ ms, $F[2,279] = 4.21$, $p = 0.016$). The duration (sham = $40,97 \pm 3,67$ ms; partial DA lesion = $39,92 \pm 8,94$ ms; total DA lesion = $33,52 \pm 3,86$ ms $F[2,279] = 0,67$, $p = 0,51$). The details of the mean (\pm SEM) can be found in the table 1.

Parabrachial nucleus

Recording sites and neurons. A total of 33, 61 and 45 neurons were recorded across the medial and lateral part of the PBN in control, partial and total DA lesion animals, respectively (Figure 6A). The PBN neurons were characterized by a triphasic action potential in majority ($n = 126$; mean duration = $1,98 \pm 0,039$ ms), the remaining cells having a biphasic action potential ($n = 24$, mean duration = $1,81 \pm 0,09$ ms). PBN neurons in sham rats exhibited various spontaneous patterns of activity such as an irregular pattern ($n = 21/36$, 58 %), a bursting pattern ($n = 6/36$, 17 %) (Figure 6B). Similarly to the STN, the DA lesion changed those proportions with a progressive decrease and increase of the number of cells with an irregular and bursting pattern respectively (Figure 6B). Indeed, the proportion of cells with an irregular pattern was 48 % in the partial DA lesion group and 40 % in the total DA lesion group. On the reverse, the proportion of cells with a bursting pattern increased to 25 % and 38 % in the partial and total DA lesion group, respectively. The regular pattern in the partial DA lesion rat was comparable to the sham animals with a proportion of 17 % in both groups (sham: $6/36$, partial DA lesion: $n = 12/69$) but was lower in the total DA lesion rats ($n = 2/45$, 4 %). The disruption of PBN spontaneous pattern was further indicated by a slow increase of the mixture pattern from 8 % in the sham rats ($n = 8/36$) to 10 % ($n = 7/69$) and 18 % ($n = 8/45$) in the partial and total DA lesion rats respectively.

Baseline firing rate in PBN. The PBN baseline firing rate was not altered in DA depleted animals when compared with shams (sham = $8,27 \pm 1,45$ Hz; partial DA lesion = $7,85 \pm 1,13$ Hz; total DA lesion = $8,09 \pm 1,38$ Hz, $F[2,136] = 0,027$, $p = 0,97$) (Figure 4A). In addition, the presentation of the noxious stimulations did not change the firing rate of PBN neurons in the three experimental groups (sham: before: $8,27 \pm 1,45$ vs after $8,03 \pm 1,08$; partial DA lesion: before: $7,85 \pm 1,13$ vs after $7,77 \pm 0,99$; total DA lesion: before: $8,09 \pm 1,38$ vs after $8,32 \pm 1,29$; ANOVA repeated measures $F[1, 138] = 4,241e-005$; $p = 0,99$). However, individual analysis of PBN firing rate change with the introduction of the footshock showed that 61 %, 65 % and 58 % of the cells significantly increased their firing rate in the sham, partial and total DA lesion

rats, respectively and no significant change for the remaining cells. The details of the mean (\pm SEM) can be found in the table 1.

Phasic nociceptive responses in PBN. Following the noxious stimulations, PBN neurons recorded in this experiment showed a short latency phasic excitatory response which is coherent with what is described in the literature (Bernard et al., 1994). ANOVA analysis revealed significantly longer nociceptive response latency (sham = $12,73 \pm 1,35$ ms; partial DA lesion = $14,84 \pm 1,06$ ms; total DA lesion = $20,64 \pm 2,84$ ms, $F[2,136] = 4,33$, $p < 0,05$), lower mean nociceptive response (sham = $26,13 \pm 2,68$ Hz; partial DA lesion = $25,95 \pm 2,59$ Hz; total DA lesion = $16,88 \pm 1,91$ Hz; $F[2,136] = 4,40$, $p < 0,05$) and peak amplitude (sham = $51,52 \pm 6,87$ Hz; partial DA lesion = $45,73 \pm 4,86$ Hz; total DA lesion = $27,07 \pm 2,78$ Hz; $F[2,136] = 6,17$, $p < 0,01$) in the total DA lesion group when compared to sham group (Figure 4B and C), but no significant effect on the duration (sham = $34,03 \pm 3,35$ ms; partial DA lesion = $46,08 \pm 4,53$ ms; total DA lesion = $41,18 \pm 4,13$ ms, $F[2,136] = 1,76$, $p = 0,18$). The nociceptive response parameters of the partial DA lesion rats were not significantly different to those of the sham animals. The details of the mean (\pm SEM) can be found in the table 1.

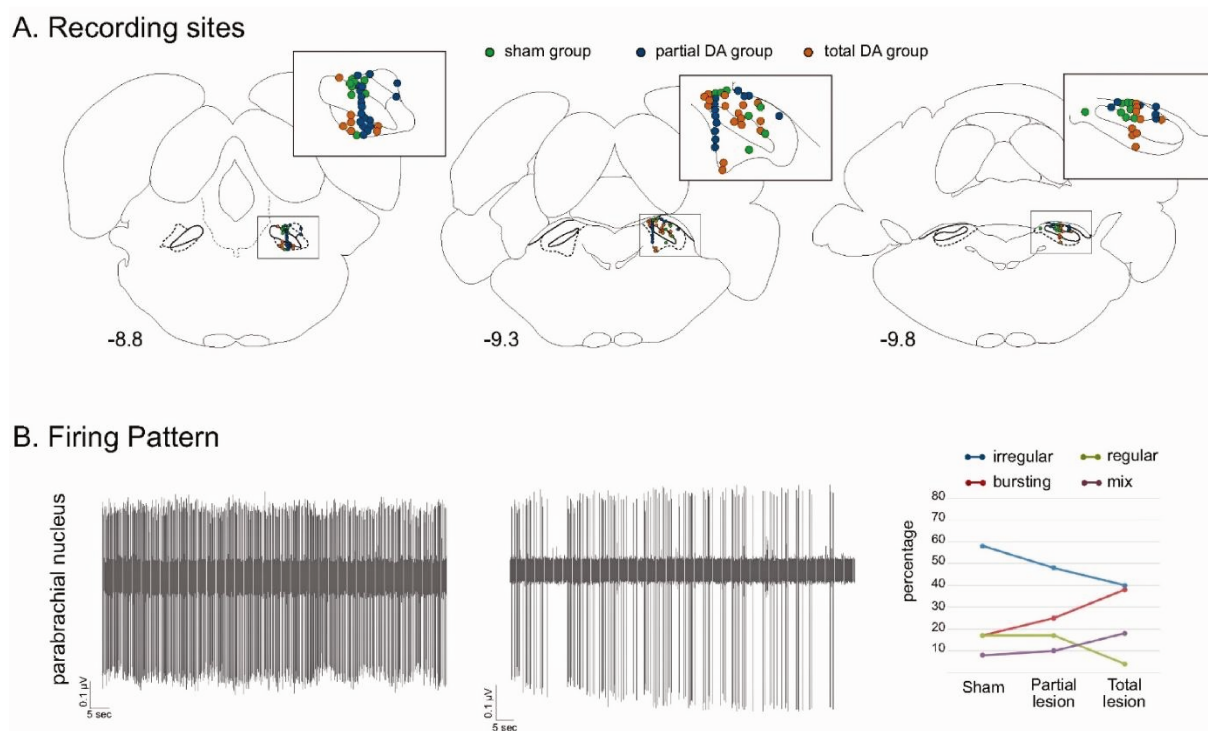


Figure 6: Histological and electrophysiological markers of recorded in PBN neurons. Location of recordings sites within the parabrachial nucleus for the sham (green dots), partial DA lesion (blue dots) and total DA lesion (orange dot) groups.

| | Group | Baseline FR (Hz) | Baseline FR footshock (Hz) | Latency (ms) | Duration (ms) | Peak amplitude (Hz) | Nociceptive response (Hz) |
|-----|----------------|------------------|----------------------------|---------------|----------------|---------------------|---------------------------|
| STN | Sham | 7,82 ± 0,98 | 8,64 ± 1,10 | 40,42 ± 8,24 | 127,10 ± 16,47 | 29,10 ± 3,89 | 14,96 ± 1,70 |
| | Partial lesion | 8,10 ± 1,25 | 8,71 ± 1,55 | 34,30 ± 7,23 | 151,80 ± 27,68 | 40,56 ± 6,75 | 18,73 ± 2,20 |
| | Total lesion | 11,52 ± 1,35* | 11,74 ± 1,29 | 42,17 ± 7,28 | 136,20 ± 17,40 | 39,42 ± 5,22 | 21,63 ± 1,94* |
| SNr | Sham | 56,92 ± 3,06 | 66,62 ± 4,01 | 12,98 ± 0,42 | 40,97 ± 3,67 | 286,90 ± 13,18 | 155,3 ± 8,32 |
| | Partial lesion | 64,19 ± 6,36 | 77,65 ± 7,92 | 12,09 ± 0,63 | 39,92 ± 8,94 | 404,00 ± 28,58* | 211,6 ± 16,60* |
| | Total lesion | 74,93 ± 5,17* | 87,62 ± 5,65 | 14,28 ± 0,49 | 33,52 ± 3,86 | 357,00 ± 21,75* | 199,7 ± 11,85* |
| PBN | Sham | 8,27 ± 1,45 | 8,03 ± 1,08 | 12,73 ± 1,35 | 34,03 ± 3,35 | 51,52 ± 6,87 | 26,13 ± 2,68 |
| | Partial lesion | 7,85 ± 1,13 | 7,77 ± 0,99 | 14,84 ± 1,06 | 46,08 ± 4,53 | 45,73 ± 4,86 | 25,95 ± 2,59 |
| | Total lesion | 8,09 ± 1,38 | 8,32 ± 1,29 | 20,64 ± 2,84* | 41,18 ± 4,13 | 27,07 ± 2,78* | 16,88 ± 1,91* |

Table 1: Characteristics of nociceptive responses recorded in subthalamic nucleus, substantia nigra pars reticulata and parabrachial nucleus of sham rats, rats with partial lesion and total DA lesion. Data are represented as mean ± SEM. The peak amplitude corresponds to the maximum amplitude of the nociceptive response; the nociceptive response corresponds to the mean activity during the nociceptive response. *Abbreviations:* STN: Subthalamic nucleus; SNr: substantia nigra pars reticulata; PBN: parabrachial nucleus. * indicates statically significant data, ANOVA followed by Tukey post-hoc test.

Parabrachial nucleus, Subthalamic nucleus and Substantia nigra pars reticulata network

We recorded nociceptive responses of those three structures to understand how the nociceptive signal is transmitted within this network. Our hypothesis was that the nociceptive information coming from the spinal cord would first be processed by the PBN, then transmitted to the STN and finally to the SNr. However, analysis of the response latencies did not validate this organization. In the sham rats, the PBN and SNr nociceptive response latencies were both significantly shorter than those of the STN (SNr: 13 ± 0,42 ms; PBN: 12,73 ± 1,35 ms; STN: 40,42 ± 8,24 ms; $F[2,187]= 25,25$, $p<0,0001$). The latencies between the SNr and PBN were not significantly different involving they both receive the nociceptive signal simultaneously at a short latency. This results is also found for the partial and total DA lesion groups (partial DA lesion: SNr: 12.1 ± 0,63 ms; PBN: 14,84 ± 1,06 ms; STN: 34,3 ± 7,23 ms; $F[2,156]= 14,89$, $p<0,0001$) (total DA lesion: SNr: 14,28 ± 0,49 ms; PBN: 20,64 ± 2,83 ms; STN: 42,17 ± 7,28 ms; $F[2,178]= 18,51$, $p<0,0001$).

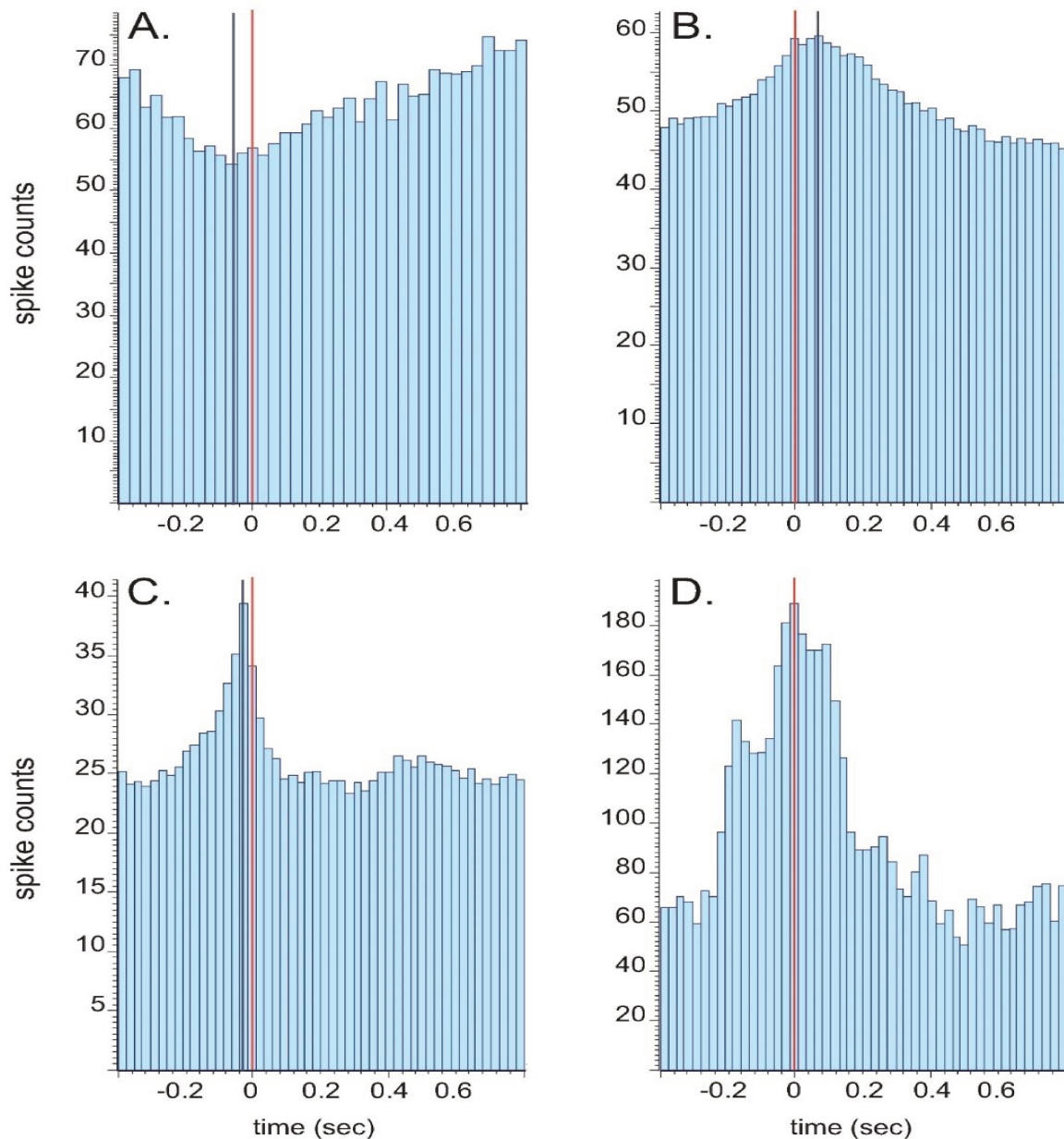


Figure 7: Cross-correlation between the neuronal activity of PBN and SNr. Individual examples of cross-correlation histograms illustrating an inhibitory peak occurring before PBN spikes (**A**), an excitatory peak occurring after PBN spikes (**B**), an excitatory peak occurring before PBN spikes and an excitatory peak occurring simultaneously with PBN spikes. The red line on zero indicate the PBN spike used as a trigger to create the histogram and the blue line indicate the maximum peak of SNr neuronal activity.

Having implanted an electrode in each structure on the same rat increased our chances to record simultaneously at least two structures to perform cross-correlation analysis. We constructed cross-correlograms for 137 pairs of spike trains during the baseline or stimulated periods of the three experimental groups. The occurrence of PBN single unit spikes was used to trigger the plotting of multiunit events recorded in the SNr. The presence of peak in the baseline and stimulated period cross-correlation histograms was identified by visual inspection. As illustrated in figure 7, this analysis revealed that the correlated activity between both structures was complex.

During the baseline period, cross-correlated activity was identified in 4/31 (13 %) of cases in the sham group, 16/45 (35 %) in the partial DA lesion rat and 15/23 (65 %). Therefore, the degree of DA lesion increased auto-correlated activity between the SNr and PBN. Those correlated activities were categorized as follows:

| Baseline period | Sham | Partial DA lesion | Total DA lesion |
|--|------|-------------------|-----------------|
| Inhibitory peak before | 1 | - | - |
| Inhibitory peak simultaneously | 2 | 3 | - |
| Inhibitory peak after | - | 2 | - |
| Excitatory peak before | - | 9 | - |
| <i>followed by excitatory peak after</i> | - | 5 | - |
| Excitatory peak simultaneously | 1 | 1 | 14 |
| Excitatory peak after | - | 1 | - |

During the nociceptive stimulation period, cross-correlated activity generally increased compared to the baseline period, and was found in 24/31 (77 %) of cases in the sham group, 41/45 (91 %) in the partial DA lesion group and 22/23 (96 %) in the total DA lesion group. Those correlated activities were categorized as follows:

| Stimulation period | Sham | Partial DA lesion | Total DA lesion |
|--|------|-------------------|-----------------|
| Inhibitory peak before | 6 | 3 | - |
| <i>followed by excitatory peak after</i> | 2 | 3 | - |
| Inhibitory peak simultaneously | 1 | - | - |
| Inhibitory peak after | - | 1 | - |
| Excitatory peak before | 5 | 21 | 1 |
| <i>followed by excitatory peak after</i> | 1 | 4 | - |
| <i>followed by inhibitory peak after</i> | | 1 | 1 |
| Excitatory peak simultaneously | 6 | 15 | 2 |
| Excitatory peak after | 6 | 1 | 19 |

STN-SNr cross-correlogram: We constructed cross-correlograms for 79 pairs of spike trains during the baseline or stimulated periods of the three experimental groups. The occurrence of STN single unit spikes was used to trigger the plotting of multiunit events recorded in the SNr. The correlated activity between both structures was less complex than between PBN and SNr.

During the baseline period, cross-correlated activity was identified in 7/32 (22 %) of cases in the sham group, 7/15 (47 %) in the partial DA lesion rat and 3/32 (9 %). Therefore, the neuronal correlated activity increased and decreased in the partial and total DA lesion rats, respectively. In the sham rats, the SNr neuronal peak was located after the occurrence of STN spike in majority of cases (6/7), the remaining pair of spikes peaking simultaneously. In the partial DA lesion rats, STN and SNr pairs present a simultaneous peak in majority (4/7), and a peak in SNr preceding (2/7) or following (1/7) STN spike occurrence. Simultaneous peaks were found in the total DA lesion group (3/3).

| Baseline period | Sham | Partial DA lesion | Total DA lesion |
|--------------------------------|------|-------------------|-----------------|
| Excitatory peak after | 6 | 1 | - |
| Excitatory peak simultaneously | 1 | 4 | 3 |
| Excitatory peak before | - | 2 | - |

During the stimulated period, cross-correlated activity was identified in 8/32 (25 %) of cases in the sham group, 7/15 (47 %) in the partial DA lesion rat and 16/32 (50 %). Therefore, the stimulation did not change cross correlated activity between STN and SNr in sham and partial DA lesion rats, and increased it in the total DA lesion group. In the sham rats, the SNr and STN pair of spike occurred simultaneously in majority (5/8), in the remaining pair of spikes, the SNr neuronal peak was located after the occurrence of STN spike. In the partial DA lesion rats, STN and SNr pairs present a simultaneous peak in majority (4/7), and a peak in SNr preceding (2/7) or following (1/7) STN spike occurrence. Finally, SNr peak was preceding STN spike occurrence in 9/16 cells, and 6 pairs of spike occurred simultaneously (6/16). The remaining case presented an inhibitory peak after the occurrence of STN spike.

| Stimulation period | Sham | Partial DA lesion | Total DA lesion |
|--------------------------------|------|-------------------|-----------------|
| Excitatory peak after | 3 | 2 | 9 |
| Excitatory peak simultaneously | 5 | 4 | 6 |
| Excitatory peak before | - | 1 | - |
| Inhibitory peak after | | | 1 |

Do we have a neuroplasticity in PBN in PD rat models?

The previous electrophysiological results revealed that the DA depletion increased the baseline firing rate in the total DA lesion group, and phasic nociceptive responses to noxious stimulations in SNr in both PD rat models. PBN neurons presented decreased phasic nociceptive responses in the total lesion group, which is consistent with SNr general hyperactivity. The rats with a partial DA lesion had normal PBN nociceptive responses despite

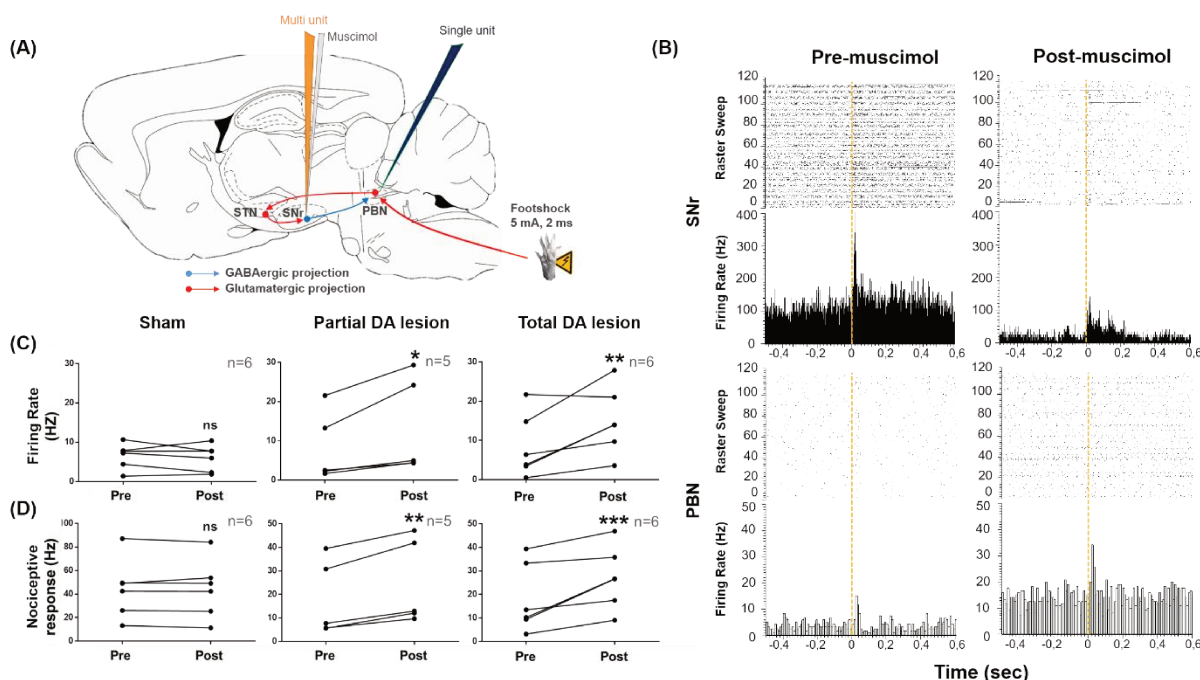


Figure 8: Effect of muscimol injection in SNr on PBN nociceptive responses. (A) Experimental design: Simultaneous recordings of SNr and PBN activity in sham (n=6), partial (n=5) or total DA lesion rats (n=6). In this experiment, SNr electrode was coupled to a cannula filled with muscimol (GABA_A agonist) to allow local inhibition of SNr activity. (B) Peri-stimulus histograms and raster sweeps showing individual examples of nociceptive responses recorded in a total DA lesion rat simultaneously in the substantia nigra pars reticulata (top) and parabrachial nucleus (bottom), before (left) and after (right) muscimol injection in SNr. The dotted yellow line represent the onset of the nociceptive stimulation delivered in the hindpaw contralateral to the recordings. This experiment was reproduced in sham and partial DA lesion rat. (C) Curves of the PBN mean baseline firing rate (\pm SEM, Hz) (pre) and after (post) muscimol injection in SNr. (D) Curves of the PBN mean phasic nociceptive response (\pm SEM, Hz) elicited by the noxious stimulation before (pre) and after (post) muscimol injection in SNr. Abbreviations: DA: dopamine; PBN: parabrachial nucleus; SNr: substantia nigra reticulata. Two-way ANOVA on repeated measures followed by Bonferroni's post hoc test, * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001

SNr increased nociceptive activity. This lack of effect could be explained by an insufficient abnormal inhibitory tone coming from the SNr in partial DA lesion rats. However, we have shown previously that another sensory-motor subcortical structure from the brainstem, the superior colliculus, with similar anatomical connections to the BG presented a neuroplasticity in PD rat models underlying abnormal short latency visual responses (Rolland et al., 2013). Therefore, a similar neuro-adaptation may have also occurred in this structure, allowing the PBN to function normally in the partial DA lesion rats. We thus tested if a neuroadaptation has taken place within the PBN.

Electrophysiology. We tested nociceptive sensory rebound due to a neuroadaptation (Rolland et al., 2013). The activity of the SNr was reduced with a local injection of muscimol, a GABA_a agonist. If neuroplasticity had occurred in PBN, the sudden reduction of SNr hyperactivity should induce a sensory rebound.

Simultaneous recordings were made from the SNr and PBN of sham, partial and total DA lesion rats (figure 8A). The ANOVA analysis comparing SNr baseline firing before and after the muscimol injection in the three experimental groups revealed an effect of the muscimol ($F[1,14]= 9.086, p<0,01$), but not of the lesion or the interaction between the lesion and the muscimol factors. This involves that the effect of the muscimol injection was similar within all groups. This injection also reduced SNr nociceptive mean response. The ANOVA analysis showed a significant effect of the muscimol factor ($F[1,14]= 19.20, p<0,001$), the lesion factor ($F[2,14]= 6.81, p<0,01$) and a close to significant effect of the interaction between both factors ($F[2,14]= 3.61, p = 0,054$). Those effect are due to a higher nociceptive mean response in the total DA lesion group compared to the sham or the partial DA lesion groups whether before or

| Muscimol | | Baseline FR (Hz) | | Baseline FR footshock (Hz) | | Latency (ms) | | Duration (ms) | | Peak amplitude (Hz) | | Nociceptive Response (Hz) | |
|----------|----------------|------------------|------|----------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------------|----------------|---------------------------|---------------|
| | | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post |
| SNr | Sham | 50,21 ± 6,07 | - | 48,83 ± 5,94 | 41,28 ± 6,91 | 11,00 ± 1,23 | 10,83 ± 1,80 | 46,50 ± 18,85 | 46,67 ± 18,83 | 254,17 ± 19,28 | 159,72 ± 20,92 | 130,02 ± 13,22 | 86,03 ± 14,78 |
| | Partial lesion | 38,00 ± 1,76 | - | 38,35 ± 2,98 | 29,04 ± 5,92 | 11,00 ± 0,00 | 11,00 ± 0,00 | 24,00 ± 2,15 | 24,00 ± 2,147 | 161,67 ± 1,79 | 103,33 ± 19,68 | 71,84 ± 2,12 | 42,45 ± 5,11 |
| | Total lesion | 50,05 ± 11,61 | - | 55,21 ± 11,15 | 15,21 ± 2,71 | 14,00 ± 1,77 | 10,68 ± 0,91 | 18,33 ± 2,63 | 21,00 ± 1,91 | 349,92 ± 24,97 | 154,31 ± 21,51 | 179,00 ± 24,91 | 67,36 ± 6,23 |
| PBN | Sham | 4,40 ± 0,70 | - | 6,57 ± 0,99 | 6,03 ± 1,07 | 6,33 ± 0,73 | 6,83 ± 0,75 | 34,5 ± 7,89 | 30,67 ± 8,26 | 87,22 ± 15,31 | 79,44 ± 14,29 | 44,65 ± 7,08 | 44,41 ± 7,35 |
| | Partial lesion | 9,44 ± 3,53 | - | 8,27 ± 3,27 | 13,47 ± 4,76 | 12,00 ± 1,43 | 16,2 ± 6,046 | 28,00 ± 4,65 | 23,8 ± 4,72 | 27,16 ± 8,77 | 28,67 ± 8,38 | 17,92 ± 6,19 | 24,76 ± 7,08 |
| | Total lesion | 7,30 ± 2,21 | - | 8,46 ± 2,67 | 15,03 ± 2,57 | 9,00 ± 0,41 | 7,17 ± 0,89 | 41,00 ± 5,31 | 43,83 ± 7,55 | 27,36 ± 7,41 | 38,48 ± 5,16 | 18,18 ± 4,95 | 27,09 ± 3,88 |

Table 2: Characteristics of nociceptive responses recorded in subthalamic nucleus, substantia nigra pars reticulata and parabrachial nucleus of sham rats, rats with partial lesion and total DA lesion. Data are represented as mean ± SEM. The peak amplitude corresponds to the maximum amplitude of the nociceptive response; the nociceptive response corresponds to the mean activity during the nociceptive response. *Abbreviations:* STN: Subthalamic nucleus; SNr: substantia nigra pars reticulata; PBN: parabrachial nucleus.

after the injection and a bigger muscimol-induced decrease of the nociceptive response in this group. The muscimol injection did not change the other parameters of SNr phasic nociceptive response such as the latency (Muscimol factor: (F[1,14]= 2.397, p = 0.1439; Lesion factor: F[2,14]= 0.4030, p = 0.6759; Interaction: (F[2,14]= 2.134, p = 0.1553) or the duration (Muscimol factor: (F[1,14]= 2.446, p = 0.1402; Lesion factor: F[2,14]= 0.7382, p = 0.4957; Interaction: (F[2,14]= 2.099, p = 0.1595).

The depression of SNr neuronal activity by muscimol had different effect on PBN according to the experimental group. Repeated measures ANOVA showed a significant effect of the muscimol and of the interaction between the lesion and the muscimol when analyzing PBN baseline firing rate (muscimol factor: F [1, 14]= 14.51; p < 0,01; Interaction: F[2,14]= 5.161, p < 0.05) and PBN mean nociceptive responses (muscimol factor: F [1, 14]= 23.53; p < 0,001; Interaction: F[2,14]= 7.135, p < 0.01). Those effect are due to a significant increase of PBN baseline firing rate and mean nociceptive responses in both the partial and total DA lesion group (baseline firing rate: partial lesion: before= 8,27 ± 3,27 Hz vs after= 13,47 ± 4,76 Hz, p < 0.05; total lesion: before= 8,46 ± 2,67 Hz vs after= 15,03 ± 2,57 Hz, p < 0.01) (mean nociceptive response: partial lesion: before= 17,92 ± 6,19 Hz vs after= 24,76 ± 7,08 Hz, p < 0.05; total lesion: before= 18,18 ± 4,95 Hz vs after= 27,09 ± 3,88 Hz, p < 0.001), but not in the sham group (Figure 8B, C and D). The details of the mean (± SEM) can be found in the table 2.

Golgi-Cox staining. We counted, measured and categorized spines according to their morphology based on their length/width ratio as described by Risher and collaborators (2014). An average of ~600µm of dendrite from sham (n=5), partial DA lesion (n=4) and total DA lesion (n=3) rats were analyzed. ANOVA analysis revealed a significant effect of the lesion on spine density (spines/µm: control= 0,32 ± 0,027; partial lesion = 0,51 ± 0,046; total lesion= 0,64 ± 0,092; F[2, 49]= 10,39; p < 0,001), branched spine density (branched spine/µm: control= 0,014± 0,0054; partial lesion = 0,098 ± 0,018; total lesion = 0,17 ± 0,042; F[2,49] = 12,90; p < 0,0001) and filopodia spine density (filopodia spines/µm: control= 0,32 ± 0,027; partial lesion = 0,068 ± 0,011; total lesion = 0,10 ± 0,017; F[2,49] = 38,82; p < 0,0001). Multiple comparisons post-hoc tests revealed a significant increased spine density in partial (p<0,05) and total (p< 0,001) DA lesion rats, increased branched spine density in partial (p<0,05) and total (p<0.0001) DA lesion rats and decreased filopodia spine density in both DA lesioned groups (p<0.0001) when compared with sham rats (Figure 9).

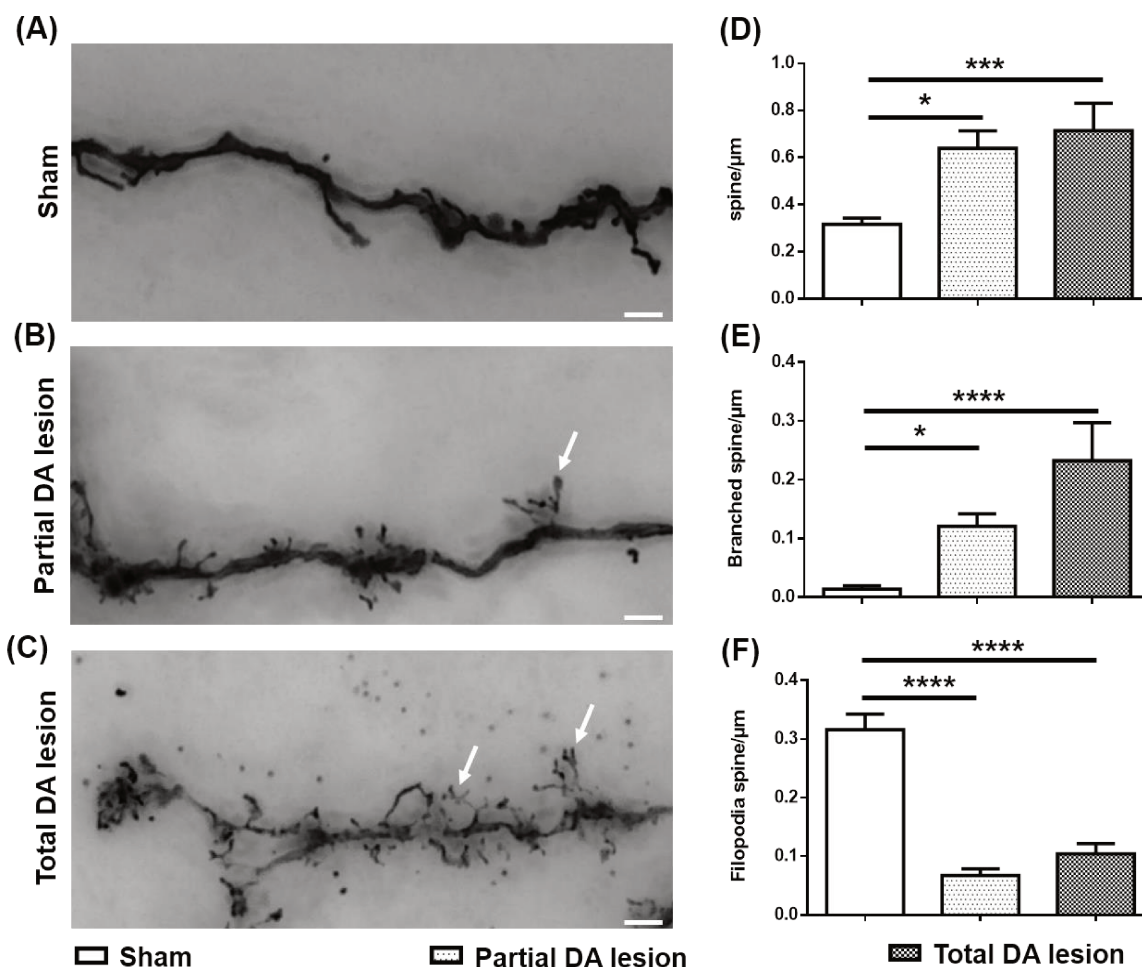


Figure 9: Dopamine denervation affects spine density and branched spine morphology in parabrachial nucleus neurons. (A-C) Microphotographs of dendritic spines labelled with Golgi-cox staining. (D-F) Histograms of the mean spine density (D), branched spines density (E) and filopodia spine density (F) measured on neurons of the lateral PBN in the sham group (n=5), partial DA lesion group (n=4) and total DA lesion group (n=3). Note the presence of numerous branched spines in both DA lesion groups (white arrows). Scale bar = 10μm; magnification 400x. Data are represented as mean ± SEM, ANOVA followed by Tukey post-hoc test : * p < 0,05; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001.

Electronic microscopy.

In each experimental group, we measured 50 post synaptic density (PSD) length and width per animal (three animals per group).

ANOVA analysis comparing control rats and DA lesioned rats showed a main effect of the lesion for the PSD's length (control= 427,30 ± 17,75 nm; partial lesion= 372,20 ± 14,52 nm; total lesion= 396,10 ± 15,84 nm; F[2,357]= 3,056; p< 0.05) and thickness (control= 43,84± 1,49 nm; partial lesion= 34,53 ± 1,13 nm; total lesion= 37,49 ± 1,25 nm; F[2,357]= 13.84; p<0,001). Multiple comparisons post-hoc test revealed a significant reduced PSD's length in partial lesion (p<0,05) animal but not in total lesion animal (p= 0,37). In addition, PSD's thickness were significantly smaller in partial DA lesion (p<0,0001) and total DA lesion groups (p<0,01) when compared with controls.

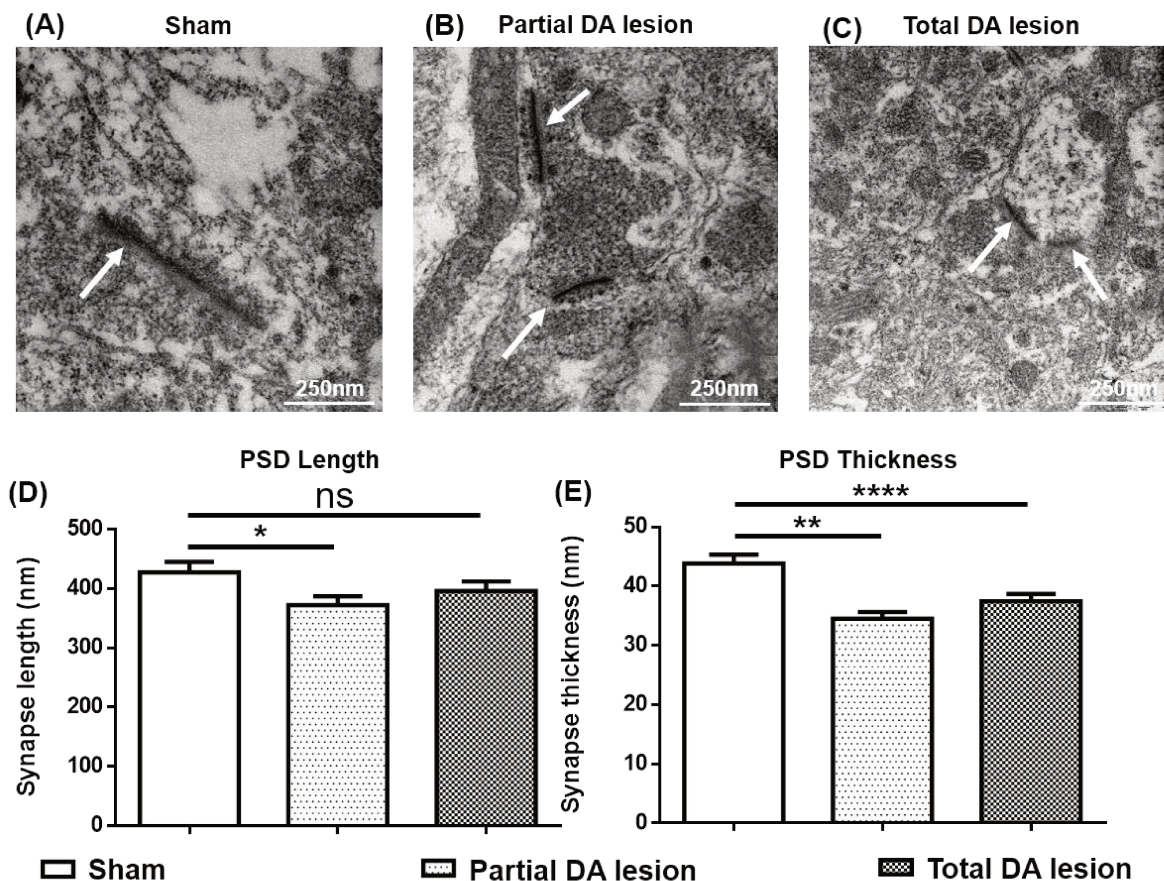


Figure 10: PBN neurons synapse morphology. Representative microphotographs of PBN neurons post-synaptic density in sham rats (A), partial DA lesion rats (B) and total DA lesion rats (C). Histograms of the mean post-synaptic density length (D) and thickness (E). Scale bar = 250nm; magnification 50.000x. White arrows indicate post-synaptic densities. Note the reduction in length and thickness for the DA lesioned groups. ANOVA followed by Tukey post-hoc test: * p < 0,05; ** p < 0,01; **** p < 0,0001.

These results also confirm that morphological modifications are happening at a synaptic level in the PBN of both PD rat models.

Discussion

In a previous study, we reported that STN neurons present complex nociceptive processing and identified the PBN as the main structure relaying this information via a direct PBN-STN projection (Pautrat et al., 2018). With the characterization of this new projection and previous data from the literature (Alexander et al., 1986; Schneider, 1986; Van der Kooy & Hattori, 1980), we suggested the existence of a subcortical nociceptive loop linking the PBN, the STN and the SNr. The present work goes further and demonstrates, for the first time, that dopamine lesion of the SNc alters the nociceptive processing of this circuit, with considerable importance in the context of Parkinson's disease.

We have shown, using the hot plate test, that rats with a total DA lesion of the nigrostriatal pathway are presenting abnormal nociception with increased latencies indicating hypoalgesia. These behavioral data are consistent with our electrophysiological results showing that a total DA lesion of the nigrostriatal pathway lead to abnormal tonic activity in STN and SNr, and abnormal phasic noxious responses in STN, SNr and PBN. We found that STN and SNr neurons were tonically hyperactive which is consistent with the results from the literature (Bergmann et al., 1994; Wang et al., 2010), however PBN neurons tonic activity was not changed. Electrophysiological recordings also revealed exacerbated phasic noxious responses in STN and SNr neurons and decreased phasic noxious responses in PBN neurons in the total DA lesion group. This effect on PBN phasic nociceptive responses is coherent with the hypothesis that SNr inhibitory influence over PBN neurons is increased in these animals. The lack of tonic effect on PBN activity despite SNr hyperactivity reveals that the control of SNr on its projection targets is more complex than a simple inhibition / disinhibition. This conclusion is further supported by the lack of effect of SNr inhibition on PBN activity in sham animals with no significant changes whether evaluating the baseline firing rate or nociceptive responses. The hot plate test and PBN electrophysiological recordings show that the partial DA lesion group performed similarly to the sham groups despite SNr increased nociceptive responses. We may thus conclude that a smaller DA denervation has no effect on PBN and nociceptive processing. However, when testing neuroplasticity markers, we found that the partial DA lesion group had also sustained a neuro-adaptation in PBN. Our electrophysiological data show that both the partial and total DA lesion groups presented a tonic and phasic sensory rebound following the sudden reduction of SNr activity. Anatomical plasticity was also found in both groups with an increase of the dendritic spine density and branched spine type, and a decrease of the PSD, when compared to sham animals. Those results suggest that the normal nociception score found in the hot plate test and the normal phasic nociceptive responses found in electrophysiological recordings of the partial lesion group, could be due to efficient compensatory mechanisms happening, at least in part, within the PBN of these animals.

Further experiments are now required to understand how this neuroplasticity differs between both DA lesion groups to induce a normal function in the partial DA lesion rats and a deficit in the total DA lesion rats. With similar anatomical markers between both groups, the difference may occur at a molecular level with for example a change in GABA/AMPA receptor expression.

Neuroplasticity is well known in PD. Motor symptoms only occur when a critical threshold of 60-80% of striatal dopamine loss is reached (Bernheimer et al., 1973; Bezard et al., 2003). Therefore, numerous efficient compensatory mechanisms are taking place in the Parkinsonian brain. Remodeling of synapses is one example, and has been extensively examined in striatal medium spiny neurons (Suarez et al., 2014). It has also been found in other BG nucleus such as the SNr (Aono et al., 2017). This plasticity has been less studied in structures not located in the BG but anatomically connected to this network. Here we report that PBN neurons are reorganizing their dendritic spines, with increased branched spines and decreased filopodia spines morphology. This is coherent with the observation that high frequency stimulation is leading to the maturation of filopodia-like spines, and so to the diminution of their density, in favor to a more mature morphology (Rajan and Cline, 1998). The density of mushroom spines in PBN neurons in PD models are similar to the sham rats however, we found a strong increase in density of spines with multiple heads morphology, so called 'branched spines'. Branched-spines are thought to be the most mature spine morphology (Risher et al., 2014). Additional evidences of synaptic readjustments are provided with electron microscopy analysis indicating reduced PSD thickness and length in our PD models, which is coherent with a synaptic sprouting and a higher proportion of branched spines with smaller heads. Overall, those results suggest that the rebound revealed in PBN neurons after the reduction of SNr inhibitory control is the consequence of: 1) the increase inhibitory control arising from SNr neurons in PD rat models; 2) the reshaping of PBN neurons spines in an attempt to maintain homeostasis in PD models.

Parkinsonism is classically associated with sensory disturbances which have been assessed both clinically and in animal models. Studies on PD patients have reported a diminished ability in the two-point discrimination task (Schneider et al., 1986), abnormal joint position sense (Zia et al., 2002), altered mechanical stimulation thresholds (Prätorius et al., 2003; Zia et al., 2003) and nociceptive thresholds (Djaldetti et al., 2004 ; Nolano et al., 2008). However, when evaluating nociception in PD patients, the clinical literature is conflictual. Some studies report decreased pain thresholds therefore increased pain sensitivity (Djaldetti et al., 2004; Perrotta et al., 2011, Zambito-Marsala et al., 2011), and others increased pain thresholds thus a decreased pain sensitivity (Nolano et al., 2008).

Animal studies give less variable results as experimental Parkinsonism is often associated with hyperalgesia (Lin, 1981; Saadé et al., 1997; Takeda et al., 2005; Chudler & Liu 2008; Zengin-Toktas et al., 2013; Dieb et al., 2014; Gee et al., 2015; Cao et al., 2016; Wang et al., 2017; Kaszuba et al., 2017; Charles et al., 2018; Domenici et al., 2019). However, Tassorelli and collaborators (2007) found hypoalgesia to thermal pain (tested with the tail-flick test) in 6-OHDA lesioned rats, and Carey (1986) found hypoalgesia on the contralateral side in 6-OHDA lesioned rats (tested with noxious electric footshock). The different 6-OHDA models used in these two sets of studies can explain, at least partially, this discrepancy. In most studies finding a hyperalgesia, it appears that the 6-OHDA-induced DA lesion was extending beyond the SNc, to the adjacent ventral tegmental area (VTA) with an injection of the toxin within the medial forebrain bundle or in the VTA itself (Deumens et al., 2002). It is interesting to note that studies that couldn't find an altered pain threshold or hypoalgesia used intra-striatal lesion protocol (Tassorelli et al., 2007) or lesion protocol restricted to the SNc, (Carey, 1986; Morgan & Franklin, 1990) similarly to the lesion performed in the present work. Indeed, we injected either 2.6 μ g (partial lesion) or 7.81 μ g (total lesion) of 6-OHDA in the lateral portion of the SNc. As illustrated in figure 1A, the VTA was preserved in both our models and the projection to the nucleus accumbens was spared. This observation is clinically crucial and need further experimental investigation. It is well known that the dopaminergic degeneration in PD is progressive, starting from the lateral part of SNc and then extend over the entire structure to finally reach the VTA in later stages (Goto et al., 1989 ; German et al., 1989). While it is often suggested that the pain symptoms in PD may provide an early marker of the disease (Hawkes et al., 2010), they may also be an additional marker of the disease evolution, with a hypoalgesia at an early stage and a hyperalgesia at a later stage when the mesolimbic pathway is affected.

Network analysis

The STN is known to be the only glutamatergic structure of the BG (Smith & Parent, 1988). It is also recognized to project heavily on SNr neurons, positioning it in a key position to drive their activity (Van der Kooy & Hattori, 1980). It is now agreed that STN control upon SNr neurons is used by the BG network to optimize action selection (Mink, 1996; Redgrave et al., 2001). This is of considerable importance in the context of Parkinsonism, in which STN activity is altered and thus action selection by the BG disrupted (Galvan et al., 2015; Israel & Bergman, 2008). Here we provide additional evidences of such alteration with increased STN tonic activity and increased STN nociceptive responses. This result is coherent with those from the literature (Magill et al., 2001; Deffains et al., 2014; Heise et al., 2008). SNr also present elevated tonic activity and enhanced phasic noxious responses in both partial and total DA lesion group. Our results thus show that a smaller DA denervation had an impact on SNr baseline firing rate but not in STN. The difference between the electrophysiological recordings

performed in both structures (multi-unit in SNr vs single-unit in STN) may explain this results. However, our results raise the possibility of a dysfunction in SNr which may not be caused by STN change of drive. The decreased phasic noxious mean responses and increased latencies found in PBN neurons following total DA depletion could be a direct consequence of SNr neurons increased inhibitory control. It also supports the idea that alteration of the BG activity disrupts nociceptive information processing in a key nociceptive structure projecting to higher brain structures involve in pain and nociception such as the amygdala, the hypothalamus or insular and anterior cingulate cortex (Fulwiler and Saper, 1984). PBN abnormal noxious information processing in PD rats would then probably cause a disruption of the activity of a larger nociceptive network.

As mentioned earlier, our results show that SNr control over its targets is complex. The lack of effect on PBN baseline firing rate despite SNr general hyperactivity was unexpected. The same observation can be made when considering the lack of effect of SNr decreased firing rate and nociceptive mean responses with muscimol on PBN in sham animals. However, our results indicate that SNr control upon PBN increases with the DA denervation. Indeed, we have found that during the spontaneous firing of both the SNr and PBN, correlated activity are rare in sham animals (13 %) while this correlated activity increased to 35 % in the partial DA lesion rats and 65 % in the total DA lesion rats. In DA depleted rats, SNr peak of activity precedes the occurrence of PBN spike. This analysis also revealed that SNr activity often peaks simultaneously to the occurrence of PBN neurons, especially during the period where the stimulation is delivered. It is interesting to note that when analyzing the nociceptive response latencies of the three recorded structures, we expected that the nociceptive information coming from the spinal cord would first be processed by the PBN, then transmitted to the STN and finally to the SNr. The latency analysis does not confirm this organization. If the PBN presents significantly shorter latencies than the STN ($\approx 13\text{ms}$ vs $\approx 40\text{ms}$, respectively), the SNr present similar latencies ($\approx 13\text{ms}$) as the PBN. This result would suggest that SNr is directly connected to the nociceptive layers of the spinal cord. Further tract tracing experiments are now required to investigate this possibility.

Activity patterns:

Increased activity in STN/SNr neurons is often considered a hallmark of the physiopathology of PD. However, subtler changes also happen in the BG nuclei in this pathology. Of particular interest is the modification of the firing patterns, and more specifically the increased proportion of neurons discharging in bursts (Bergmann et al., 1994; Levy et al., 2000). Our electrophysiological recordings show an increase proportion of STN neurons discharging in bursts in the total lesion group compared with controls (49% vs 30%, respectively) as

previously shown. Another important finding of this study is the augmentation of the burst pattern proportion in PBN neurons as well (17% in sham vs 38% in the total lesion group). This alterations of the firing pattern would probably interfere with nociceptive processing in PBN neurons. Indeed, bursting activity has been linked to increased synchronous oscillatory activities in the BG, thalamus and cortex in dopamine depleted states (Magill et al., 2001) and oscillatory activities correlate with PD patient's symptoms (Sharott et al., 2014) and is alleviated by L-DOPA therapy and STN stimulation (Brown, 2007).

Clinical relevance

We describe, in the present work, evidences that SNr inhibitory control on its projection targets, such as the PBN, is much more complex than originally thought. SNr control has been postulated to be 'leaky' in PD, oscillating between active and release phases during the day (Terao et al., 2013). If this hypothesis is correct, we predict that this transient release of the SNr inhibitory control on the PBN would be comparable to the SNr pharmacological blockade performed in our preparation with an injection of muscimol. This would then generate a similar sensory rebound within the PBN neurons of patients. The abnormal painful sensations described in PD could then result from the presence of neuroplasticity phenomena similar to those observed in our Parkinsonian rats associated with transient relaxation of SNr inhibitory activity. This hypothesis is supported by a study reporting an increased activity and an increased sensitivity of PBN neurons to mechanical stimulation in chronic pain conditions (Matsumoto et al., 1996). Besides, Burning Mouth Syndrome (BMS) is a painful and complex condition often described as a burning or tingling feeling in the mouth. Interestingly, BMS is thought to be linked to the central dopaminergic system and is more common in PD patients. It has been reported that BMS worsened after the introduction of L-Dopa therapy (Coon and Laughlin, 2012) which has been reported to reduce SNr pathological activity (Guilmour et al., 2011). BMS could therefore arise from a similar mechanism than describe in the present work with decreased SNr inhibitory control associated to neuroplastic mechanisms in nociceptive structures.

Pain is a complex, multifaceted experience that involves somatosensory, affective and cognitive modalities. The PBN is a recognized and important structure of the medial pain pathway, strongly involved in the affective dimension of pain (Gauriau & Bernard, 2010). This nociceptive network is known to be linked with the amygdala (Jhamandas et al., 1996), and is implicated in numerous chronic pain conditions (Neugebauer et al. 2004; Ikeda et al., 2007, Nakao et al., 2012) which could also be the case in PD. Our findings on the involvement of STN, SNr and PBN nociceptive processing and its alteration in dopamine depleted brains is providing an insightful update on the role of the BG network in nociception. It also opens the

possibility to refine therapeutic strategies using DBS to target specifically sensory sub-territories of the BG network in patients suffering from chronic pain conditions.

References:

- Albin, R. L., Young, A. B., & Penney, J. B. (1995). The functional anatomy of disorders of the basal ganglia. *Trends in Neurosciences*, *18*(2), 63–64. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(95\)80020-3](https://doi.org/10.1016/0166-2236(95)80020-3)
- Alexander, G. E., DeLong, M. R., & Strick, P. L. (1986). Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annual Review of Neuroscience*, *9*, 357–381. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.9.1.357>
- Alexander, G. E., DeLong, M. R., & Strick, P. L. (1986). Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annual Review of Neuroscience*, *9*, 357–381. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.9.1.357>
- Aono, H., Choudhury, M. E., Higaki, H., Miyanishi, K., Kigami, Y., Fujita, K., ... Tanaka, J. (2017). Microglia may compensate for dopaminergic neuron loss in experimental Parkinsonism through selective elimination of glutamatergic synapses from the subthalamic nucleus. *Glia*, *65*(11), 1833–1847. <https://doi.org/10.1002/glia.23199>
- Belasen, A., Youn, Y., Gee, L., Prusik, J., Lai, B., Ramirez-Zamora, A., ... Pilitsis, J. G. (2016). The Effects of Mechanical and Thermal Stimuli on Local Field Potentials and Single Unit Activity in Parkinson's Disease Patients. *Neuromodulation*, *19*(7), 698–707. <https://doi.org/10.1111/ner.12453>
- Bergman, H., Wichmann, T., Karmon, B., & DeLong, M. R. (1994). The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of Parkinsonism. *Journal of Neurophysiology*, *72*(2), 507–520. <https://doi.org/10.1152/jn.1994.72.2.507>
- Bernard, J. F., Huang, G. F., & Besson, J. M. (1994). The parabrachial area: electrophysiological evidence for an involvement in visceral nociceptive processes. *Journal of Neurophysiology*, *71*(5), 1646–1660. <https://doi.org/10.1152/jn.1994.71.5.1646>
- Bernheimer, H., Birkmayer, W., Hornykiewicz, O., Jellinger, K., & Seitelberger, F. (1973). Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington Clinical, morphological and neurochemical correlations. *Journal of the Neurological Sciences*, *20*(4), 415–455. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(73\)90175-5](https://doi.org/10.1016/0022-510X(73)90175-5)
- Bester, H., Menendez, L., Besson, J. M., & Bernard, J. F. (1995). *Spino (trigemino) parabrachiohypothalamic pathway: Electrophysiological evidence for an involvement in pain processes*. *Journal of Neurophysiology* (Vol. 73). <https://doi.org/10.1152/jn.1995.73.2.568>
- Bezard, E., Gross, C. E., & Brotchie, J. M. (2003). Presymptomatic compensation in Parkinson's disease is not dopamine-mediated. *Trends in Neurosciences*, *26*(4), 215–221. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(03\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(03)00038-9)
- Brischoux, F., Chakraborty, S., Brierley, D. I., & Ungless, M. A. (2009). Phasic excitation of dopamine neurons in ventral VTA by noxious stimuli. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(12), 4894–4899. <https://doi.org/10.1073/pnas.0811507106>
- Brown, P. (2007). Abnormal oscillatory synchronisation in the motor system leads to impaired movement. *Current Opinion in Neurobiology*, *17*(6), 656–664. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2007.12.001>

- Cao, L. F., Peng, X. Y., Huang, Y., Wang, B., Zhou, F. M., Cheng, R. X., ... Liu, T. (2016). Restoring Spinal Noradrenergic Inhibitory Tone Attenuates Pain Hypersensitivity in a Rat Model of Parkinson's Disease. *Neural Plasticity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/6383240>
- Carey, R. J. (1986). Acute ipsilateral hyperalgesia and chronic contralateral hypoalgesia after unilateral 6-hydroxydopamine lesions of the substantia nigra. *Experimental Neurology*, 91(2), 277–284. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(86\)90068-3](https://doi.org/10.1016/0014-4886(86)90068-3)
- Charles, K.-A., Naudet, F., Bouali-Benazzouz, R., Landry, M., De Deurwaerdère, P., Fossat, P., & Benazzouz, A. (2018). Alteration of nociceptive integration in the spinal cord of a rat model of Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 00(00), 1–6. <https://doi.org/10.1002/mds.27377>
- Chudler, E. H., & Dong, W. K. (1995). The role of the basal ganglia in nociception and pain. *Pain*, 60(1), 3–38. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)00172-B](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)00172-B)
- Chudler, E. H., & Lu, Y. (2008). Nociceptive behavioral responses to chemical, thermal and mechanical stimulation after unilateral, intrastriatal administration of 6-hydroxydopamine. *Brain Research*, 1213, 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.03.053>
- Chudler, E. H., Sugiyama, K., & Dong, W. K. (1993). Nociceptive responses in the neostriatum and globus pallidus of the anesthetized rat. *Journal of Neurophysiology*, 69(6), 1890–1903. <https://doi.org/10.1152/jn.1993.69.6.1890>
- Coizet, V., Dommett, E. J., Klop, E. M., Redgrave, P., & Overton, P. G. (2010). The parabrachial nucleus is a critical link in the transmission of short latency nociceptive information to midbrain dopaminergic neurons. *Neuroscience*, 168(1), 263–272. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.03.049>
- Coizet, V., Dommett, E. J., Redgrave, P., & Overton, P. G. (2006). Nociceptive responses of midbrain dopaminergic neurones are modulated by the superior colliculus in the rat. *Neuroscience*, 139(4), 1479–1493. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.01.030>
- Coizet, V., Graham, J. H., Moss, J., Bolam, J. P., Savasta, M., McHaffie, J. G., ... Overton, P. G. (2009). Short-Latency Visual Input to the Subthalamic Nucleus Is Provided by the Midbrain Superior Colliculus. *Journal of Neuroscience*. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0247-09.2009>
- Coon, E. A., & Laughlin, R. S. (2012). Burning mouth syndrome in Parkinson's disease: Dopamine as cure or cause? *Journal of Headache and Pain*, 13(3), 255–257. <https://doi.org/10.1007/s10194-012-0421-1>
- Cury, R. G., Galhardoni, R., Fonoff, E. T., Dos Santos Ghilardi, M. G., Fonoff, F., Arnaut, D., ... De Andrade, D. C. (2014). Effects of deep brain stimulation on pain and other nonmotor symptoms in Parkinson disease. *Neurology*, 83(16), 1403–1409. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000887>
- Defazio, G., Berardelli, A., Fabbrini, G., Martino, D., Fincati, E., Fiaschi, A., ... Tinazzi, M. (2008). Pain as a Nonmotor Symptom of Parkinson Disease. *Archives of Neurology*, 65(9), 1191–1194. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2008.2>
- Deffains, M., Holland, P., Moshel, S., Ramirez de Noriega, F., Bergman, H., & Israel, Z. (2014). Higher neuronal discharge rate in the motor area of the subthalamic nucleus of parkinsonian patients. *Journal of Neurophysiology*, 112(6), 1409–1420. <https://doi.org/10.1152/jn.00170.2014>

Dellapina, E., Ory-Magne, F., Rezagui, W., Thalamas, C., Lazorthes, Y., Rascol, O., ... Brefel-Courbon, C. (2012). Effect of subthalamic deep brain stimulation on pain in Parkinson's disease. *Pain*, *153*(11), 2267–2273. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.07.026>

DeLong, M. R. (1990). Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends in Neurosciences*, *13*(7), 281–285. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90110-V](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90110-V)

Deniau, J. M., & Chevalier, G. (1990). Disinhibition as a basic process in the expression of striatal functions. II. The striato-nigral influence on thalamocortical cells of the ventromedial thalamic nucleus. *Trends in Neurosciences*, *334*(2), 227–233. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)90214-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)90214-8)

Deniau, J. M., Mailly, P., Maurice, N., & Charpier, S. (2007). The pars reticulata of the substantia nigra: a window to basal ganglia output. *Progress in Brain Research*, *160*, 151–172. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(06\)60009-5](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(06)60009-5)

Deumens, R., Blokland, A., & Prickaerts, J. (2002). Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Experimental Neurology*, *175*(2), 303–317. <https://doi.org/10.1006/exnr.2002.7891>

Dieb, W., Ouachikh, O., Durif, F., & Hafidi, A. (2014). Lesion of the dopaminergic nigrostriatal pathway induces trigeminal dynamic mechanical allodynia. *Brain and Behavior*, *4*(3), 368–380. <https://doi.org/10.1002/brb3.214>

Djaldetti, R., Shifrin, A., Rogowski, Z., Sprecher, E., Melamed, E., & Yarnitsky, D. (2004). Quantitative measurement of pain sensation in patients with Parkinson disease. *Neurology*, *62*(12), 2171–2175. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000130455.38550.9D>

Domenici, R. A., Campos, A. C. P., Maciel, S. T., Berzuino, M. B., Hernandez, M. S., Fonoff, E. T., & Pagano, R. L. (2019). Parkinson's disease and pain: Modulation of nociceptive circuitry in a rat model of nigrostriatal lesion. *Experimental Neurology*, *315*(January), 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2019.02.007>

Fulwiler, C. E., & Saper, C. B. (1984). Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Research Reviews*, *7*(3), 229–259. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(84\)90012-2](https://doi.org/10.1016/0165-0173(84)90012-2)

Galvan, A., Devergnas, A., & Wichmann, T. (2015). Alterations in neuronal activity in basal ganglia-thalamocortical circuits in the parkinsonian state. *Frontiers in Neuroanatomy*, *9*(February), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fnana.2015.00005>

Gandolfi, M., Geroïn, C., Antonini, A., Smania, N., & Tinazzi, M. (2017). *Understanding and Treating Pain Syndromes in Parkinson's Disease. International Review of Neurobiology* (1st ed., Vol. 134). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2017.05.013>

Gauriau, C., & Bernard, J. (2010). Physiological Society Symposium Nociceptors as Homeostatic Afferents : Central Processing Pain pathways and parabrachial circuits in the rat. *Experimental Physiology*, *87*(2), 251–258.

Gee, L. E., Chen, N., Ramirez-Zamora, A., Shin, D. S., & Pilitsis, J. G. (2015). The effects of subthalamic deep brain stimulation on mechanical and thermal thresholds in 6OHDA-lesioned rats. *European Journal of Neuroscience*, *42*(4), 2061–2069. <https://doi.org/10.1111/ejn.12992>

Gilmour, T. P., Lieu, C. A., Nolt, M. J., Piallat, B., Deogaonkar, M., & Subramanian, T. (2011). The effects of chronic levodopa treatments on the neuronal firing properties of the subthalamic

nucleus and substantia nigra reticulata in hemiparkinsonian rhesus monkeys. *Experimental Neurology*, 228(1), 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2010.12.001>

Hamani, C., Saint-Cyr, J. A., Fraser, J., Kaplitt, M., & Lozano, A. M. (2004). The subthalamic nucleus in the context of movement disorders. *Brain*, 127(1), 4–20. <https://doi.org/10.1093/brain/awh029>

Hawkes, C. H., Del Tredici, K., & Braak, H. (2010). A timeline for Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*, 16(2), 79–84. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2009.08.007>

Heise, C. E., Reyes, S., & Mitrofanis, J. (2008). Sensory (nociceptive) stimulation evokes Fos expression in the subthalamus of hemiparkinsonian rats. *Neurol Res*, 30(3), 277–284. <https://doi.org/10.1179/016164107X235455> [doi]

Ikeda, R., Takahashi, Y., Inoue, K., & Kato, F. (2007). NMDA receptor-independent synaptic plasticity in the central amygdala in the rat model of neuropathic pain. *Pain*, 127(1–2), 161–172. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2006.09.003>

Israel, Z., & Bergman, H. (2008). Pathophysiology of the basal ganglia and movement disorders: From animal models to human clinical applications. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 32(3), 367–377. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.08.005>

Jahanshahi, M., Obeso, I., Rothwell, J. C., & Obeso, J. A. (2015). A fronto-striato-subthalamic-pallidal network for goal-directed and habitual inhibition. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(12), 719–732. <https://doi.org/10.1038/nrn4038>

Jarcho, J. M., Mayer, E. A., Jiang, Z. K., Feier, N. A., & London, E. D. (2012). Pain, affective symptoms, and cognitive deficits in patients with cerebral dopamine dysfunction. *Pain*, 153(4), 744–754. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.01.002>

Jhamandas, J. H., Petrov, T., Harris, K. H., Vu, T., & Krukoff, T. L. (1996). Parabrachial nucleus projection to the amygdala in the rat: Electrophysiological and anatomical observations. *Brain Research Bulletin*, 39(2), 115–126. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(95\)02084-5](https://doi.org/10.1016/0361-9230(95)02084-5)

Jung, Y. J., Kim, H. J., Jeon, B. S., Park, H., Lee, W. W., & Paek, S. H. (2015). An 8-year follow-up on the effect of subthalamic nucleus deep brain stimulation on pain in Parkinson disease. *JAMA Neurology*, 72(5), 504–510. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.8>

Kaszuba, B. C., Walling, I., Gee, L. E., Shin, D. S., & Pilitsis, J. G. (2017). Effects of subthalamic deep brain stimulation with duloxetine on mechanical and thermal thresholds in 6OHDA lesioned rats. *Brain Research*, 1655(April 2016), 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.10.025>

Levy, R., Hutchison, W. D., Lozano, A. M., & Dostrovsky, J. O. (2000). High-frequency synchronization of neuronal activity in the subthalamic nucleus of Parkinsonian patients with limb tremor. *Journal of Neuroscience*, 20(20), 7766–7775.

Lin, M. T., Wu, J. J., Chandra, A., & Tsay, B. L. (1981). Activation of striatal dopamine receptors induces pain inhibition in rats. *Journal of Neural Transmission*, 51(3–4), 213–222. <https://doi.org/10.1007/BF01248953>

Magill, P. J., Bolam, J. P., & Bevan, M. D. (2001). <Neuroscience 2001 Magill.pdf>. *Neuroscience*, 106(2), 313–330. Retrieved from <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=11566503&retmode>

=ref&cmd=prlinks%0Apapers3://publication/uuid/34986554-587E-467C-BD6A-7FA3E845E85E

Matsumoto, N., Bester, H., Menendez, L., Besson, J. M., & Bernard, J. F. (1996). Changes in the responsiveness of parabrachial neurons in the arthritic rat: An electrophysiological study. *Journal of Neurophysiology*, 76(6), 4113–4126. <https://doi.org/10.1152/jn.1996.76.6.4113>

Mink, J. W. (1996). The basal ganglia: Focused selection and inhibition of competing motor programs. *Progress in Neurobiology*, 50(4), 381–425. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(96\)00042-1](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(96)00042-1)

Morgan, M. J., & Franklin, K. B. J. (1990). 6-Hydroxydopamine lesions of the ventral tegmentum abolish d-amphetamine and morphine analgesia in the formalin test but not in the tail flick test. *Brain Research*, 519(1–2), 144–149. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90072-J](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90072-J)

Nakao, A., Takahashi, Y., Nagase, M., Ikeda, R., & Kato, F. (2012). Role of capsaicin-sensitive C-fiber afferents in neuropathic pain-induced synaptic potentiation in the nociceptive amygdala. *Molecular Pain*, 8(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-8-51>

Nègre-Pagès, L., Reagraui, W., Bouhassira, D., Grandjean, H., & Rascol, O. (2008). Chronic pain in Parkinson's disease: The cross-sectional French DoPaMiP survey. *Movement Disorders*, 23(10), 1361–1369. <https://doi.org/10.1002/mds.22142>

Neugebauer, V., Li, W., Bird, G. C., & Han, J. S. (2004). The amygdala and persistent pain. *Neuroscientist*, 10(3), 221–234. <https://doi.org/10.1177/1073858403261077>

Nolano, M., Provitera, V., Estraneo, A., Selim, M. M., Caporaso, G., Stancanelli, A., ... Santoro, L. (2008). Sensory deficit in Parkinson's disease: Evidence of a cutaneous denervation. *Brain*, 131(7), 1903–1911. <https://doi.org/10.1093/brain/awn102>

Pautrat, A., Rolland, M., Barthelemy, M., Baunez, C., Sinniger, V., Piallat, B., Savasta M., David O., Coizet, V. (2018). *Revealing a novel nociceptive network that links the subthalamic nucleus to pain processing*. *eLife* (Vol. 7). <https://doi.org/10.7554/eLife.36607>

Perrotta, A., Sandrini, G., Serrao, M., Buscone, S., Tassorelli, C., Tinazzi, M., ... Martignoni, E. (2004). Facilitated temporal summation of pain at spinal level in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 26(3), 442–448. <https://doi.org/10.1002/mds.23458>

Politis, M., Wu, K., Molloy, S., Bain, P. G., Chaudhuri, K. R., & Piccini, P. (2010). Parkinson's disease symptoms: The patient's perspective. *Movement Disorders*, 25(11), 1646–1651. <https://doi.org/10.1002/mds.23135>

Prätorius, B., Kimmeskamp, S., & Milani, T. L. (2003). The sensitivity of the sole of the foot in patients with Morbus Parkinson. *Neuroscience Letters*, 346(3), 173–176. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(03\)00582-2](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(03)00582-2)

Rajan, I., & Cline, H. T. (1998). Glutamate receptor activity is required for normal development of tectal cell dendrites in vivo. *Journal of Neuroscience*, 18(19), 7836–7846.

Redgrave, P., Prescott, T. J., & Gurney, K. (1999). The basal ganglia: A vertebrate solution to the selection problem? *Neuroscience*, 89(4), 1009–1023. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00319-4](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00319-4)

Risher, W. C., Ustunkaya, T., Alvarado, J. S., & Eroglu, C. (2014). Rapid golgi analysis method for efficient and unbiased classification of dendritic spines. *PLoS ONE*, 9(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107591>

- Rolland, M., Carcenac, C., Overton, P. G., Savasta, M., & Coizet, V. (2013). Enhanced visual responses in the superior colliculus and subthalamic nucleus in an animal model of Parkinson's disease. *Neuroscience*, *252*, 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.07.047>
- Saadé, N. E., Atweh, S. F., Bahuth, N. B., & Jabbur, S. J. (1997). Augmentation of nociceptive reflexes and chronic deafferentation pain by chemical lesions of either dopaminergic terminals or midbrain dopaminergic neurons. *Brain Research*, *751*(1), 1–12. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(96\)01164-X](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(96)01164-X)
- Schestatsky, P., Kumru, H., Valls-Solé, J., Valldeoriola, F., Marti, M. J., Tolosa, E., & Chaves, M. L. (2007). Neurophysiologic study of central pain in patients with Parkinson disease. *Neurology*, *69*(23), 2162–2169. Retrieved from www.britishpainsociety.org
- Schneider, J. S. (1986). Interactions between the basal ganglia, the pontine parabrachial region, and the trigeminal system in cat. *Neuroscience*, *19*(2). [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(86\)90271-X](https://doi.org/10.1016/0306-4522(86)90271-X)
- Sharott, A., Gulberti, A., Zittel, S., Tudor Jones, A. A., Fickel, U., Münchau, A., ... Moll, C. K. E. (2014). Activity parameters of subthalamic nucleus neurons selectively predict motor symptom severity in Parkinson's disease. *Journal of Neuroscience*, *34*(18), 6273–6285. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1803-13.2014>
- Smith, Y., & Parent, A. (1988). Neurons of the subthalamic nucleus in primates display glutamate but not GABA immunoreactivity. *Brain Research*, *453*(1–2), 353–356. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)90177-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)90177-1)
- Snider, S. R., Fahn, S., Isgreen, W. P., & Cote, L. J. (1976). Primary sensory symptoms in parkinsonism. *Neurology*, *26*(5), 423–429.
- Suárez, L. M., Solís, O., Caramés, J. M., Taravini, I. R., Solís, J. M., Murer, M. G., & Moratalla, R. (2014). L-DOPA treatment selectively restores spine density in dopamine receptor d2-expressing projection neurons in dyskinetic mice. *Biological Psychiatry*, *75*(9), 711–722. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.05.006>
- Takeda, R., Ikeda, T., Tsuda, F., Abe, H., Hashiguchi, H., Ishida, Y., & Nishimori, T. (2005). Unilateral lesions of mesostriatal dopaminergic pathway alters the withdrawal response of the rat hindpaw to mechanical stimulation. *Neuroscience Research*, *52*(1), 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2005.01.005>
- Tassorelli, C., Armentero, M. T., Greco, R., Fancellu, R., Sandrini, G., Nappi, G., & Blandini, F. (2007). Behavioral responses and Fos activation following painful stimuli in a rodent model of Parkinson's disease. *Brain Research*, *1176*(1), 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.08.012>
- Terao, Y., Fukuda, H., Ugawa, Y., & Hikosaka, O. (2013). New perspectives on the pathophysiology of Parkinson's disease as assessed by saccade performance: A clinical review. *Clinical Neurophysiology*, *124*(8), 1491–1506. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2013.01.021>
- Tokuno, H., Takada, M., Ikai, Y., & Mizuno, N. (1994). Direct projections from the deep layers of the superior colliculus to the subthalamic nucleus in the rat. *Brain Research*, *639*(1), 156–160. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91776-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91776-0)
- Van Der Kooy, D., & Hattori, T. (1980). Single subthalamic nucleus neurons project to both the globus pallidus and substantia nigra in rat. *Journal of Comparative Neurology*, *192*(4), 751–768. <https://doi.org/10.1002/cne.901920409>

- Wang, Y., Zhang, Q. J., Liu, J., Ali, U., Gui, Z. H., Hui, Y. P., ... Wang, T. (2010). Changes in firing rate and pattern of GABAergic neurons in subregions of the substantia nigra pars reticulata in rat models of Parkinson's disease. *Brain Research*, 1324, 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.02.008>
- Wessel, J. R., Jenkinson, N., Brittain, J. S., Voets, S. H. E. M., Aziz, T. Z., & Aron, A. R. (2016). Surprise disrupts cognition via a fronto-basal ganglia suppressive mechanism. *Nature Communications*, 7, 1–10. <https://doi.org/10.1038/ncomms11195>
- Wichmann, T. (2019). Changing views of the pathophysiology of Parkinsonism. *Movement Disorders*, 1–14. <https://doi.org/10.1002/mds.27741>
- Zambito Marsala, S., Tinazzi, M., Vitaliani, R., Recchia, S., Fabris, F., Marchini, C., ... Defazio, G. (2011). Spontaneous pain, pain threshold, and pain tolerance in Parkinson's disease. *Journal of Neurology*, 258(4), 627–633. <https://doi.org/10.1007/s00415-010-5812-0>
- Zambito-Marsala, S., Erro, R., Bacchin, R., Fornasier, A., Fabris, F., Lo Cascio, C., ... Tinazzi, M. (2017). Abnormal nociceptive processing occurs centrally and not peripherally in pain-free Parkinson disease patients: A study with laser-evoked potentials. *Parkinsonism and Related Disorders*, 34, 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2016.10.019>
- Zengin-Toktas, Y., Ferrier, J., Durif, F., Llorca, P. M., & Authier, N. (2013). Bilateral lesions of the nigrostriatal pathways are associated with chronic mechanical pain hypersensitivity in rats. *Neuroscience Research*, 76(4), 261–264. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2013.05.003>
- Zia, S., Cody, F. W. J., & O'Boyle, D. J. (2002). Identification of unilateral elbow-joint position is impaired by Parkinson's disease. *Clinical Anatomy*, 15(1), 23–31. <https://doi.org/10.1002/ca.1087>
- Zia, S., Cody, F. W. J., & O'Boyle, D. J. (2003). Discrimination of bilateral differences in the loci of tactile stimulation is impaired in subjects with Parkinson's disease. *Clinical Anatomy*, 16(3), 241–247. <https://doi.org/10.1002/ca.10100>

IV. Discussion

8 - Discussion générale :

Ce travail doctoral se découpe en deux objectifs principaux. Le premier objectif était de préciser le rôle du réseau des ganglions de la base (GB), notamment du noyau subthalamique (NST), dans la nociception. Le second objectif était d'évaluer l'impact de la dégénérescence des neurones dopaminergiques (DA) de la substance noire compacte (SNc) sur cette fonction.

Dans un premier temps, nous nous sommes donc attachés à préciser le rôle du noyau subthalamique (NST) dans la nociception. Le NST étant une structure clé du réseau des ganglions de la base (GB), capable d'influer fortement sur l'activité des structures de sortie de ce réseau, ce travail vient compléter la littérature relativement ancienne décrivant un rôle important des GB dans la nociception. Après avoir apporté des arguments électrophysiologiques concrets précisant le rôle des neurones du NST dans le traitement des informations nociceptives, nous avons identifié par électrophysiologie ainsi que par neuroanatomie une structure du pont, le noyau parabrachial (PBN) comme principal relai dans la transmission de ces informations au NST.

Dans un second temps, nous avons évalué l'impact d'une dégénérescence des neurones dopaminergiques de la substance noire compacte (SNc) sur le fonctionnement de ce circuit nociceptif sous-cortical. En effet, la littérature récente semble indiquer une profonde altération des circuits de la nociception chez les patients Parkinsoniens. Malgré les nombreuses études décrivant un dysfonctionnement des GB dans la maladie de Parkinson, il est étonnant de s'apercevoir qu'aucune étude électrophysiologique n'ait étudié l'impact d'un dysfonctionnement des GB sur la nociception. Ce travail doctoral vient donc apporter les premiers arguments électrophysiologiques démontrant une altération du traitement du signal nociceptif au niveau des GB (NST et SNr) ainsi qu'au niveau du PBN.

8.1 Considérations techniques :

8.1.1 Electrophysiologie *in vivo* multi-sites :

Un des challenges de ce travail résidait dans l'enregistrement simultané de trois structures cérébrales localisées dans la profondeur du cerveau du rat : le NST, le PBN et la substance noire réticulée (SNr). Nous avons opté pour deux méthodes d'enregistrement, dans le but d'alléger une partie du défi technique qu'imposent de tels enregistrements. Le NST et le PBN étaient enregistrés à l'aide de pipettes en verre, permettant l'acquisition d'un signal dit « unitaire », c'est-à-dire l'enregistrement d'un seul neurone à la fois. La SNr était enregistrée à l'aide de microélectrodes en tungstène-parylène, permettant l'acquisition d'un signal dit « multi-unitaire », c'est-à-dire d'une population neuronale. Ces enregistrements multi-sites ont nécessité d'adapter les trajectoires utilisées pour accéder aux structures d'intérêt, principalement du fait de l'encombrement du matériel électrophysiologique associée à la

l'étroitesse de la boîte crânienne du rat. Le NST étant la structure la plus difficile à enregistrer, du fait de son orientation oblique, de sa profondeur (~7mm sous la dure-mère) et de sa taille (< 1 mm³), nous avons utilisé une approche classique avec un angle d'approche à 90° par rapport à la surface crânienne. L'accès au PBN était réalisé après une descente traversant la totalité du cervelet, selon un angle vers l'avant de 30° afin d'éviter tout saignement dû à une atteinte du sinus veineux postérieur. L'accès à la SNr s'effectuait par une trajectoire oblique à 28°, traversant la partie supérieure de l'hémisphère gauche avant d'atteindre la SNr de l'hémisphère droit.

Les enregistrements multi-sites ont l'avantage de permettre des études de corrélations de l'activité des structures enregistrées, ce qui est d'un intérêt non-négligeable dans des études de circuiterie. Ces enregistrements nous ont donc permis de construire des autocorrélogrammes d'activité (voir **chapitre 5**), et nous ont révélé une organisation du réseau sous-cortical étudié bien plus complexe qu'initialement envisagée. Il faut cependant préciser que les cas où les trois sites d'enregistrements étaient corrects sont rares, deux chez les rats contrôles, six chez les rats avec une lésion partielle et quatre chez les rats avec une lésion totale, ce qui rend bien compte de la difficulté de l'approche utilisée.

8.1.2 Stimulations nociceptives :

L'étude électrophysiologique des circuits de la nociception impose de réaliser des stimulations nociceptives à l'animal. Nous avons opté pour des stimuli électriques nociceptifs effectués dans la patte arrière controlatérale aux sites d'enregistrements. Ces stimulations étaient délivrées toutes les deux secondes à une intensité de 5mA. Elles étaient pilotées depuis le logiciel d'électrophysiologie (Spike 2). L'avantage principal de ce type de stimulations réside dans leur reproductibilité ainsi que dans la précision qu'elles permettent (de l'ordre de la milliseconde) pour le calcul des latences des réponses phasiques induites. Nous nous sommes assurés de la nature nociceptive de ces stimulations en les comparant à des pressions mécaniques de la patte, ainsi qu'à l'aide du marqueur d'activité neuronale c-Fos au niveau des couches nociceptives de la moelle épinière (voir figure 10 de l'étude 1).

8.1.3 Modèles de rats Parkinsoniens :

Le choix du protocole de lésion dopaminergique effectuée au cours des deux études a été motivé par plusieurs critères. Le but principal de ce projet étant d'étudier le rôle des GB dans la nociception et l'impact de la dopamine sur celui-ci, nous avons opté pour deux modèles avec des degrés croissants de dénervation dopaminergique. Le premier modèle correspond ainsi à une lésion partielle et localisée dans la partie latérale de la SNc. Il engendre une dénervation d'environ 50% de la SNc. Le deuxième modèle est plus classique, il provoque une lésion quasi-totale de la SNc avec un taux de dénervation moyen des neurones de la SNc

supérieur à 90%. Nous avons opté pour un modèle héli-parkinsonien puisque les modèles de lésion totale bilatérale sont connus pour provoquer une mortalité importante des animaux (Deumens et al., 2002.)

Une autre particularité de nos modèles se trouve dans la préservation des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale (VTA). Ce choix a été fait afin d'éviter tout critère confondant résultant d'une lésion du système limbique, connu pour avoir un rôle important dans la nociception (Mitsi & Zachariou, 2016). Dans ce but, les coordonnées utilisées pour l'injection de 6-OHDA étaient volontairement localisées dans la partie latérale de la SNc. De tels protocoles lésionnels permettent également de mimer au plus près le processus physiopathologique à l'œuvre dans la MP, puisqu'il a été démontré que la dénervation dopaminergique débute dans la partie latérale de la SNc avant de s'étendre médialement, jusqu'à atteindre la VTA dans les stades plus avancés (Goto et al., 1989 ; German et al., 1989). Notre modèle de lésion totale induit une hypoalgésie dans le test de la hotplate, avec des latences de 19s contre 11s pour les animaux présentant une lésion partielle et les contrôles. Ce résultat va à l'encontre de l'hyperalgésie retrouvée dans la plupart des études effectuées chez le rat (Charles et al., 2018 ; Wang et al., 2017 ; Kaszuba et al., 2017 ; Gee et al., 2015 ; Dieb et al., 2014 ; Zengin-Toktas et al., 2013 ; Takeda et al., 2005 ; Saadé et al., 1997 ; Morgan & Franklin, 1990 ; Carey, 1986). Il faut cependant préciser que ces études utilisaient des protocoles lésionnels plus agressifs que les nôtres, soit par injection de 6-OHDA dans le « *medial forebrain bundle* » (MFB) (Charles et al., 2018 ; Kaszuba et al., 2017 ; Gee et al., 2015), soit par injection dans la partie médiale de la SNc, voire au sein même de la VTA (Wang et al., 2017 ; Dieb et al., 2014 ; Saadé et al., 1997 ; Morgan & Franklin, 1990 ; Carey, 1986). Le MFB est un faisceau d'axones provenant de nombreuses régions du système limbique comme l'amygdale, les bulbes olfactifs, l'hypothalamus latéral, la VTA et la SNc. L'atteinte du MFB, ou de la VTA, semble donc assez éloignée de la physiopathologie de la MP et de tels protocoles lésionnels paraissent peu appropriés dans le cadre d'études sur la nociception dans le contexte Parkinsonien. Face à ces arguments, une standardisation des protocoles lésionnels utilisés dans la littérature semble cruciale. De ce fait, une des limites de notre étude réside dans le fait que l'atteinte des neurones dopaminergiques de la VTA n'a été inspectée que visuellement, sans quantification précise comme cela était le cas pour la SNc. Cette quantification semble importante au vu des arguments avancés précédemment. Chez le patient, une récente méta-analyse recoupant les résultats obtenus auprès de 145 patients présentant une symptomatologie douloureuse et 104 patients sans symptômes de douleur, indique que les patients « douloureux » ont des scores UPDRSIII plus élevés que les patients « non douloureux » (Sung et al., 2018). Ceci est cohérent avec l'hypothèse d'une extension du processus de dégénérescence dopaminergique à l'ATV dans les stades plus avancés

(Goto et al., 1989 ; German et al., 1989) et qui entrainerait, au moins en partie, les douleurs Parkinsoniennes.

8.2 Noyau subthalamique et nociception :

Le principal objectif de ce travail était de préciser le rôle du NST dans une fonction clé de l'organisme : la nociception. En effet, la littérature bien que très abondante sur cette structure, ne s'est que peu intéressée à cette fonction et, à notre connaissance, seulement deux études ont été publiées à ce sujet (Belasen et al., 2016 ; Heise et al., 2008). Nous apportons ici des preuves anatomiques, électrophysiologiques et comportementales du rôle essentiel du NST dans la nociception. Il semble alors important de discuter du rôle d'une telle fonction. D'un point de vue fondamental, la transmission et l'intégration de l'information nociceptive au niveau du NST fournirait au cerveau un moyen très rapide (≈ 40 ms dans cette étude) pour répondre à une menace de l'environnement. En effet, une partie de la littérature propose que les neurones excitateurs du NST, connus pour se projeter massivement sur les structures de sortie des GB comme la SNr ou le GPi, permettraient une « remise à zéro » comportemental au travers de l'inhibition de la voie thalamo-corticale (Wessel et al., 2016; Jahanshahi et al., 2015). C'est-à-dire que l'activation des structures de sorties des GB, consécutive à l'activation du NST, engendrerait une hausse du tonus inhibiteur qu'elles

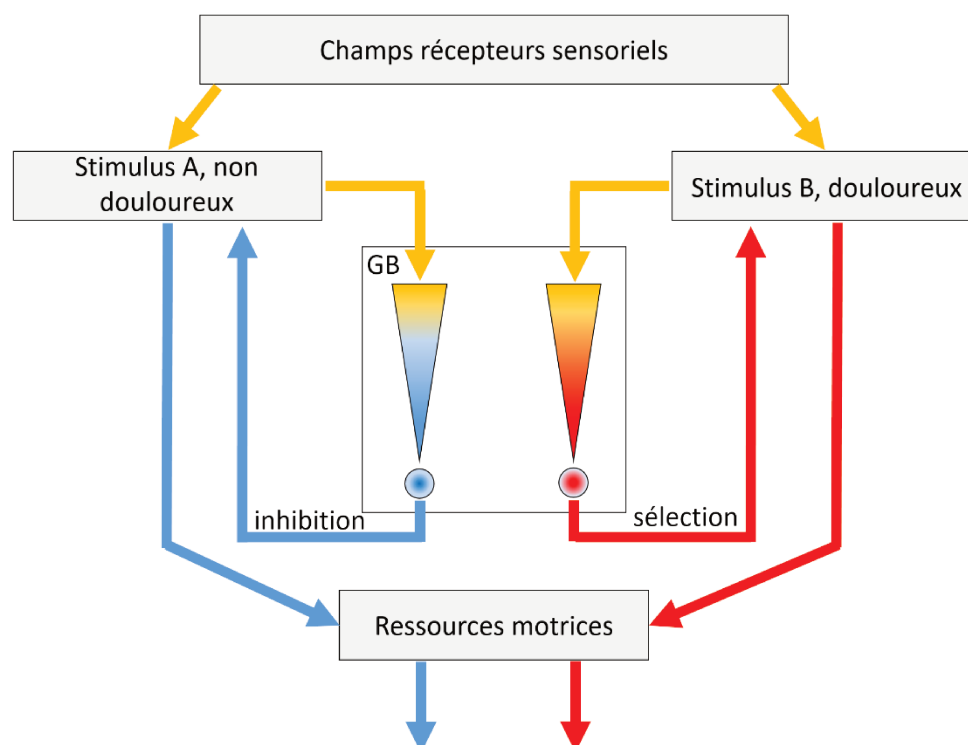


Figure 1 : Modèle de la sélection de l'action par les ganglions de la base. Lorsque deux entrées sensorielles concomitantes arrivent au niveau des GB, elles sont soumises à un processus de sélection. La plus saillante (dans cet exemple, le stimulus B) sera alors retenue par un processus de sélection médié par l'inhibition des structures de sortie des GB, lui allouant alors les ressources motrices communes de l'organisme. La moins saillante sera inhibée par un mécanisme similaire, conduisant à l'augmentation de l'inhibition exercée par les structures de sortie des GB. Notez qu'une architecture en boucle est essentielle pour un tel fonctionnement. Bien qu'une boucle semble exister entre les GB et le colliculus supérieur, elle n'est pas démontrée dans le cas du noyau parabrachial. Schéma adapté de Redgrave & Coizet, 2007. Les inhibitions sont indiquées en bleu, les activations en rouge.

exercer sur le thalamus et permettrait l'arrêt des programmes en cours. L'arrêt de ces programmes serait la première étape pour permettre de réajuster le comportement en fonction des perturbations présentes dans l'environnement. Dans le cadre de la nociception, on conceptualise assez facilement qu'une atteinte corporelle potentielle doive « prendre le dessus » sur les autres programmes engagés, afin de l'éviter et/ou d'en minimiser les conséquences. Ce rôle « d'interrupteur » du NST recoupe avec le rôle plus large que l'on prête aux GB dans la sélection de l'action (**Figure 1**) (Regrave et al., 1999 ; Gurney et al., 2001 ; Redgrave & Coizet, 2007).

8.3 Dopamine et nociception :

Le second objectif de cette thèse était d'évaluer l'impact d'une dégénérescence dopaminergique sur le traitement de l'information nociceptive dans trois structures sous-corticales : le NST, la SNr et le PBN. Il est en effet reconnu qu'une perte de dopamine, comme c'est le cas dans la maladie de Parkinson, engendre de profonds dérèglements dans l'activité des GB (Albin et al., 1995; Bergman et al., 1994; DeLong, 1990). De plus, les nombreux symptômes de douleur retrouvés chez les patients Parkinsoniens laissent penser que la dopamine joue un rôle direct ou indirect important dans la nociception. La littérature semble en effet indiquer une altération des voies nociceptives centrales au cours de la MP (Tinazzi et al., 2009 ; Zambito-Marsala et al., 2011). Les résultats électrophysiologiques que nous avons obtenus sont en accord avec cette vision. Ils confirment la présence d'une hyperactivité généralisée des neurones du NST et de la SNr, du moins dans notre modèle de lésion totale. Il semble que la modulation dopaminergique ait également un rôle très important dans l'intégration du message nociceptif au niveau du NST et de la SNr, puisque nos données montrent des réponses phasiques à la douleur exacerbées au sein de ces structures chez les animaux avec une lésion totale. Cette hyperactivité nigrale est accompagnée d'une diminution des réponses phasiques nociceptives au sein du PBN chez ces animaux, ce qui est cohérent avec l'hypothèse selon laquelle l'influence inhibitrice exacerbée de la SNr engendre une inhibition de ses structures de projections dans la MP. Enfin, nous apportons des arguments électrophysiologiques et anatomiques indiquant la mise en place d'une neuroplasticité au sein des neurones du PBN, probablement dans le but de maintenir une excitabilité normale malgré l'influence inhibitrice pathologique en provenance de la SNr. Ces données viennent donc apporter des arguments électrophysiologiques et anatomiques supplémentaires, révélant une altération des circuits centraux de la nociception en lien avec les GB.

8.4 Perspectives :

Ces travaux de thèse indiquent que le traitement de l'information douloureuse est altéré en plusieurs points du réseau des GB, ainsi qu'au niveau du PBN. Nous démontrons également l'existence de phénomènes neuroplastiques au niveau des neurones du PBN. Ces phénomènes neuroplastiques associés à un tonus inhibiteur irrégulier en provenance de la SNr (Terao et al., 2013) pourraient expliquer, au moins en partie, les douleurs Parkinsoniennes. Du point de vue clinique et fondamental, ces résultats soulèvent plusieurs perspectives de recherche pouvant amener une meilleure compréhension de la symptomatologie douloureuse Parkinsonienne.

8.4.1 Douleurs neuropathiques :

i) Plasticité :

Les douleurs neuropathiques proviennent généralement d'une atteinte du système nerveux central, au niveau de la moelle épinière ou de l'encéphale. Ces atteintes peuvent avoir des origines différentes : trauma, accident vasculaire cérébral, maladie neurodégénérative etc. Cependant, les douleurs neuropathiques ont une caractéristique commune qui réside dans la mise en place de phénomènes neuroplastiques pathologiques dans des régions clés du cerveau, capables de moduler l'information nociceptive (Costigan et al., 2009). Il existe, dans le cerveau, plusieurs de ces régions et il est particulièrement intéressant de noter que certaines d'entre elles sont atteintes dans la MP (Jellinger, 1991). C'est le cas par exemple, de la voie dopaminergique mésolimbique provenant de la VTA et se projetant sur de nombreuses structures limbiques comme le noyau accumbens, l'amygdale, l'hippocampe, l'hypothalamus latéral ainsi que le cortex préfrontal. Cette voie dopaminergique possède, en conditions physiologiques, un fort potentiel anti-nociceptif (Barnes et al., 1979). Il a également été montré, en conditions pathologiques, que la voie mésolimbique était à l'origine d'hypersensibilité. Les mécanismes sous-jacents cette hypersensibilité ont été identifiés comme des phénomènes de neuroplasticité pathologiques (Zhang et al., 2017). Il est intéressant de rappeler ici que nos données électrophysiologiques indiquent une importante plasticité au niveau des neurones du PBN, chez des rats présentant une lésion totale ou partielle de la SNc. Ils viennent donc apporter un argument supplémentaire en faveur d'une altération des voies nociceptives centrales pouvant participer à la symptomatologie des douleurs Parkinsoniennes de type « nociplastiques » (Marques et al., 2019). Il apparaît donc important de caractériser plus en détails les mécanismes compensatoires mis en place dans cette structure. Il paraît judicieux d'utiliser une approche plus fine, afin de connaître l'excitabilité des neurones du PBN en conditions normales et chez nos animaux lésés. On pourrait, par exemple, analyser la quantité de récepteurs aux neurotransmetteurs glutamatergiques et GABAergiques dans la perspective

d'identifier un potentiel dérèglement de la balance excitato-inhibitrice des neurones du PBN des animaux lésés. Un protocole d'électrophysiologie *ex-vivo*, réalisé au niveau des neurones du PBN sur des tranches de cerveaux obtenus chez nos deux modèles Parkinsoniens ainsi que chez des animaux contrôles, nous apporterait également des renseignements importants sur les courants induits par ces différents types de récepteurs. Des expériences complémentaires de microscopie électronique sont également en cours, dans le but d'identifier une éventuelle modulation de la proportion de synapses glutamatergiques et GABAergiques au niveau du PBN.

La douleur est une expérience multidimensionnelle complexe qui implique des modalités somato-sensorielles, affectives et cognitives. Le PBN est une structure essentielle des voies ascendantes nociceptives, fortement impliquée dans la dimension affective de la douleur et en étroite relation avec le système limbique, notamment le noyau central de l'amygdale et l'insula (Bester et al., 1995 ; Jhamandas et al., 1996 ; Bernard & Besson, 1990 ; Gauriau & Bernard, 2010). Des données indiquant que les neurones du PBN traitent anormalement l'information nociceptive ont déjà été publiées dans des modèles animaux de douleur chronique (Matsumoto et al., 1996 ; Okada et al., 2019). Nos données confirment cette vision, et indiquent que l'information nociceptive est traitée de façon erronée par les neurones du PBN chez des animaux ayant subi une lésion totale de la SNc. Ils dévoilent également la mise en place de mécanismes neuroplastiques au sein de ces neurones. Il est intéressant de rappeler ici que plusieurs états de douleur chronique semblent dus à des phénomènes neuroplastiques apparaissant dans la voie reliant le PBN à l'amygdale (Neugebauer et al., 2004 ; Ikeda et al., 2007 ; Nakao et al., 2012). Il paraît alors important d'aller rechercher d'éventuels marqueurs neuroplastiques à ce niveau chez nos animaux Parkinsoniens. Etendre cette étude à la connexion entre le PBN et l'insula apparaît également judicieuse. Elle permettrait de mieux comprendre l'impact que peuvent avoir des modifications apparaissant au niveau de structures nociceptives primaires (comme le PBN) sur des structures cérébrales de plus haut niveau.

ii) Contrôle descendant de la douleur :

Une autre modulation des signaux nociceptifs provient des neurones sérotoninergiques et noradrénergiques du tronc cérébral. On retrouve les neurones noradrénergiques principalement au niveau du locus cœruleus et subcœruleus et les neurones sérotoninergiques au niveau du raphé magnus (Milan, 2002). Ces neurones sont également connus pour dégénérer dans la MP (Jellinger, 1991). Les neurones adrénérgiques exercent de puissants effets anti-nociceptifs au niveau de la moelle, principalement dans les couches I, II, IV, V et X et sont placés sous le contrôle du noyau périaqueducal gris (PAG) (Milan, 2002).

Cette modulation est affectée chez le rat 6-OHDA (Cao et al., 2016). La modulation des signaux nociceptifs par les neurones sérotoninergiques apparaît plus complexe. Elle touche aussi bien des centres supérieurs comme le cortex préfrontal que la corne dorsale de la moelle épinière (Kazakov et al., 1993). Il semblerait que l'atteinte de ces deux systèmes modulateurs de la nociception interviennent précocement, avant même la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la SNc. Cette dégénérescence précoce des réseaux modulateurs de la nociception pourrait expliquer les cas cliniques où les patients présentent des douleurs avant l'apparition des symptômes moteurs (Grinberg et al., 2010). Une étude récente, a en effet démontré une diminution du contenu spinal en sérotonine chez des rats lésés à la 6-OHDA (Wang et al., 2017). Il serait donc très intéressant d'enregistrer l'activité de ces neurones modulateurs adrénergiques et sérotoninergiques en réponse à des stimulations nociceptives chez des animaux Parkinsoniens, et de comparer ces résultats avec ceux obtenus chez des animaux contrôles. Les opioïdes endogènes jouent également un rôle prépondérant dans le contrôle descendant de la douleur, on peut citer ici une étude récente réalisée chez le rat 6-OHDA (Campos et al., 2019) mettant en évidence un rôle important des enképhalines et des endorphines au niveau spinal dans les mécanismes conduisant à l'hyperalgésie retrouvée dans la MP.

Dans cette étude, nous avons montré une diminution des réponses phasiques des neurones du PBN à des chocs électriques nociceptifs chez des animaux présentant une lésion totale de la SNc. Il paraît important ici, de préciser que le PBN n'est pas qu'une simple structure relai pour l'information nociceptive mais fait partie intégrante des réseaux de la nociception. Plusieurs études ont ainsi démontré que les neurones du PBN exerçaient un rôle anti-nociceptif au niveau spinal (Chiang et al., 1994 ; Yoshida et al., 1997). Une diminution de leur activité pourrait alors entraîner une facilitation du message nociceptif au niveau spinal.

En conclusion, on imagine deux phénomènes principaux pouvant expliquer les troubles nociceptifs chez les patients Parkinsoniens. Le premier proviendrait d'une atteinte physique des neurones constituant les voies modulatrices descendantes et ascendantes de la nociception. Le second découlerait de la mise en place de phénomènes neuroplastiques pathologiques dans des structures nociceptives qui, associés à un contrôle anormal des GB, engendrerait la diminution des seuils nociceptifs des patients et donc l'augmentation de la prévalence de la douleur dans la MP. Il n'est pas exclu qu'une association de ces deux phénomènes puisse également exister.

8.4.2 Le PBN est-il sous contrôle de la SNr ?

Le contrôle inhibiteur de la SNr sur ses cibles de projection a fait l'objet d'une étude approfondie dans la littérature. Il semble clairement démontré dans le cas du CS (Chevalier et

al., 1981 ; Hikosaka & Wurtz, 1983). Etant donné que le CS et le PBN partagent des connexions similaires avec les structures d'entrée (Coizet et al., 2009; Tokuno et al., 1994; Pautrat et al., 2018) et de sortie des GB (Deniau and Chevalier, 1992; Schneider, 1986), nous avons étudié l'influence de la SNr sur les neurones du PBN. Nos données électrophysiologiques suggèrent une organisation du réseau reliant la SNr et le PBN bien plus complexe qu'initialement envisagé, pour plusieurs raisons :

1) l'analyse des autocorrélogrammes entre l'activité des neurones de la SNr et du PBN indique une faible corrélation de l'activité de ces deux structures en conditions physiologiques. Néanmoins, cette corrélation augmente avec le degré de lésion dopaminergique, ce qui conforte l'hypothèse selon laquelle l'influence de la SNr sur ses cibles de projections est accrue dans la MP.

2) Les latences des réponses phasiques de la SNr aux chocs nociceptifs sont extrêmement courtes (≈ 13 ms), et même comparables à celles du PBN ($\approx 12,7$ ms). Une étude plus ancienne reporte également des latences similaires en réponse à des stimulations somato-sensorielles (Schwarz et al., 1984). De ce fait, nous envisageons l'existence d'une connexion directe entre la SNr et la moelle épinière, sans relais préalable sur le PBN. Une telle connexion pourrait expliquer le faible pourcentage de corrélation d'activité entre le PBN et la SNr obtenu chez les animaux contrôles. Des travaux préliminaires de neuro-anatomie effectués à l'aide d'injection de *fluorogold* (un traceur retrograde fluorescent) au sein de la SNr semblent confirmer cette connexion.

Il apparaît donc que le PBN ne soit pas totalement astreint au contrôle de la SNr. La SNr semble posséder ses propres entrées nociceptives et somato-sensorielles, ajoutant un degré de complexité au réseau sous-cortical étudié. Il est intéressant de noter que le contrôle nigral augmente proportionnellement avec le degré de lésion dopaminergique, en accord avec l'hypothèse d'une influence inhibitrice exacerbée de la SNr dans la MP. Ce concept, nous paraît particulièrement important dans le contexte de la MP. Il a en effet été suggéré que ce contrôle est oscillant chez les patients Parkinsoniens, présentant des phases actives, puis des phases de relâchement au cours d'une même journée (Terao et al., 2013). Si cette hypothèse est correcte, nous prévoyons que cette libération transitoire du contrôle inhibiteur de la SNr sur le PBN, serait comparable au blocage pharmacologique de la SNr réalisé dans notre étude avec une injection de muscimol. Cela générerait alors un rebond sensoriel similaire dans les neurones du PBN des patients. Les sensations douloureuses anormales décrites dans la MP pourraient alors résulter, au moins en partie, de la présence de phénomènes de neuroplasticité similaires à ceux observés chez nos rats Parkinsoniens, associés à un relâchement transitoire de l'activité inhibitrice de la SNr.

8.4.3 Influence pathologique de la SNr dans la MP :

Le dysfonctionnement ainsi que les phénomènes neuroplastiques apparaissant au niveau du PBN, mis en évidence dans ces travaux, peuvent s'étendre à d'autres structures sous-corticales également connectées à la SNr. Ainsi, le noyau pédunculo-pontin (PPN), et le noyau périaqueducal gris partagent une connectivité similaire avec le réseau des GB (Hopkins & Niessen, 1976 ; Spann & Grofova, 1991). Leur dysfonctionnement dans la MP paraît donc probable. Il serait alors intéressant d'étendre les travaux présentés dans cette thèse au niveau des neurones du PAG, connus pour leur rôle important dans le contrôle descendant de la nociception. Le PPN est une structure importante pour l'équilibre et le sommeil (Mena-Segovia, 2004), son dysfonctionnement pourrait être relié aux nombreux troubles de la stabilité et du sommeil retrouvés dans la MP.

8.4.4 Activité oscillatoire pathologique :

Nos données électrophysiologiques pointent également un changement dans le pattern de décharge des neurones du NST chez les animaux Parkinsoniens, en faveur d'un mode « Bursté ». De telles observations ont déjà été faites dans la littérature, chez l'animal (Bergmann et al., 1994, 1998 ; Magill et al., 2001 ; Sharott et al., 2005) comme chez le patient Parkinsonien (Levy et al., 2000 ; Brown, 2003, 2006). Il est intéressant de noter que cette activité burstée semble se propager au-delà du réseau des GB, et est retrouvée dans les neurones du PBN. Il est probable que cette altération du mode de décharge des neurones du PBN soit associée à un traitement anormal des informations nociceptives, comme cela a été démontré au niveau du STN (Brown, 2007 ; Sharott et al., 2005) et de la SNr (Bergman et al., 1998) dans le contexte moteur. Une étude plus approfondie en EEG, permettrait de mettre en évidence la présence d'oscillations synchrones anormales entre le PBN et les GB. Ces travaux sont en cours de réalisation dans notre équipe. Ils permettraient ainsi de réunifier deux hypothèses physiopathologiques de la MP, à savoir : **1**) l'augmentation de l'inhibition exercée par les structures de sortie des GB, présentée jusqu'à présent et ; **2**) l'apparition d'oscillations synchrones dans ce réseau et s'étendant aux cibles de projection. Il serait également intéressant d'étendre cette étude au thalamus, en particulier aux noyaux VPL/VPM ainsi qu'aux cortex somatosensoriel et insulaire, connus pour traiter l'information nociceptive.

8.4.5 Vers une boucle sous-corticale nociceptive :

Une bonne partie des travaux réalisés dans ce mémoire se base sur l'existence théorique d'un réseau anatomique sous-cortical reliant le NST, la SNr et le PBN en une boucle fonctionnelle (détaillée en fin de **chapitre 2**). Ces travaux apportent des arguments électrophysiologiques et anatomiques en faveur d'une telle boucle, mais ne démontrent pas clairement son existence. Des expériences complémentaires de neuroanatomie sont donc

nécessaires pour caractériser ce réseau sous-cortical. Il serait particulièrement intéressant de réaliser des études de double marquage anatomique, afin de préciser que les neurones du PBN recevant l'information nociceptive depuis la moelle épinière sont bien connectés à la SNr. Il serait également important de préciser l'organisation topographique de cette projection (SNr-PBN), qui n'est pas précisée dans l'article original de Schneider (1986).

8.4.6 Traitement de l'information nociceptive chez le patient Parkinsonien :

Nous avons montré dans ces travaux que le NST, la SNr et le PBN sont anatomiquement et fonctionnellement reliés. De plus, les neurones du NST et de la SNr présentent une hyperactivité et des réponses nociceptives exacerbées tandis que les réponses nociceptives du PBN sont diminuées chez les rats Parkinsoniens comparativement à leurs contrôles. Il apparaît désormais essentiel de reproduire ces résultats chez le patient Parkinsonien. L'IRM fonctionnel permet l'enregistrement non-invasif de l'activité de structures cérébrales profondes, elle apparaît donc comme la technique de choix pour réaliser une telle étude. La mesure des signaux BOLD au niveau du NST, du PBN et de la SNr réalisée consécutivement à la présentation de stimuli nociceptifs, semble particulièrement adaptée à l'étude de l'état fonctionnel du réseau nociceptif sous-cortical mis en évidence dans les études rattachées à ce mémoire, et permettrait de confirmer le dysfonctionnement de ce réseau chez le patient Parkinsonien.

Afin d'analyser plus en détails le traitement nociceptif chez le patient, il serait également pertinent d'effectuer des enregistrements électrophysiologiques au niveau du NST consécutivement à des stimulations nociceptives. Ces enregistrements, effectués grâce aux électrodes implantées au sein du NST dans le cadre de la stimulation cérébrale profonde, permettraient d'analyser finement les potentiels évoqués nociceptifs (stimuli thermiques) chez l'Homme, et de s'assurer que les résultats obtenus chez les animaux modèles de la MP sont également retrouvés en clinique. Il arrive occasionnellement que les contacts inférieurs de l'électrode de stimulation implantée au niveau du NST dépassent dans la SNr, ce qui permettrait également son étude chez le patient.

V. Références

7. Bibliographie :**- A -**

Abdi, A., N. Mallet, F. Y. Mohamed, A. Sharott, P. D. Dodson, K. C. Nakamura, S. Suri, et al. 2015. "Prototypic and Arkypallidal Neurons in the Dopamine-Intact External Globus Pallidus." *Journal of Neuroscience* 35 (17): 6667–88. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4662-14.2015>.

Afsharpour, S. (1985). Light microscopic analysis of golgi-impregnated rat subthalamic neurons. *Journal of Comparative Neurology*, 236(1), 1–13. <https://doi.org/10.1002/cne.902360102>

Albin, R. L., Young, A. B., & Penney, J. B. (1989). The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends in Neurosciences*, 12(10), 366–375. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(89\)90074-X](https://doi.org/10.1016/0166-2236(89)90074-X)

Albin, R. L., Young, A. B., & Penney, J. B. (1995). The functional anatomy of disorders of the basal ganglia. *Trends in Neurosciences*, 18(2), 63–64. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(95\)80020-3](https://doi.org/10.1016/0166-2236(95)80020-3)

Alexander, G. E, M R DeLong, and P L Strick. 1986. "Parallel Organization of Functionally Segregated Circuits Linking Basal Ganglia and Cortex." *Annual Review of Neuroscience* 9: 357–81. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.9.1.357>.

Alexander, G. E., & Crutcher, M. D. (1990). Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends in Neurosciences*, 13(7), 266–271. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90107-L](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90107-L)

Al-Khater, K. M., & Todd, A. J. (2009). Collateral projections of neurons in laminae I, III, and IV of rat spinal cord to thalamus, periaqueductal gray matter, and lateral parabrachial area. *Journal of Comparative Neurology*, 515(6), 629–646. <https://doi.org/10.1002/cne.22081>

Allen, G. V., & Pronych, S. P. (1997). Trigeminal autonomic pathways involved in nociception-induced reflex cardiovascular responses. *Brain Research*, 754(1–2), 269–278. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)00091-7](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00091-7)

Allen, G. V., Barbrick, B., & Esser, M. J. (1996). Trigeminal-parabrachial connections: Possible pathway for nociception-induced cardiovascular reflex responses. *Brain Research*, 715(1–2), 125–135. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)01580-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)01580-9)

Altier, Nadège, and Jane Stewart. 1993. "Intra-VTA Infusions of the Substance P Analogue, DiMe-C7, and Intra-Accumbens Infusions of Amphetamine Induce Analgesia in the Formalin Test for Tonic Pain." *Brain Research* 628 (1–2): 279–85. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90965-P](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90965-P).

Altier, Nadège, and Jane Stewart. 1999. "The Role of Dopamine in the Nucleus Accumbens in Analgesia." *Life Sciences* 65 (22): 2269–87. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(99\)00298-2](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(99)00298-2).

Alves, G., Pedersen, K. F. and Pedersen, K. F. (2008) 'Epidemiology of Parkinson ' s disease Epidemiology of Parkinson ' s disease', *Journal of Neurology*, 5(August 2015), pp. 525–535. doi: 10.1007/s00415-008-5004-3.

Anaya-Martinez, V., Martinez-Marcos, A., Martinez-Fong, D., Aceves, J., & Erlij, D. (2006). Substantia nigra compacta neurons that innervate the reticular thalamic nucleus in the rat also

project to striatum or globus pallidus: Implications for abnormal motor behavior. *Neuroscience*. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.08.033>

Archibald, N. K., Clarke, M. P., Mosimann, U. P. and Burn, D. J. (2011). Visual symptoms in Parkinson's disease and Parkinson's disease dementia. *Mov Disord*, 26(13), 2387-2395.

Arima, Y., Yokota, S., & Fujitani, M. (2019). Lateral parabrachial neurons innervate orexin neurons projecting to brainstem arousal areas in the rat. *Scientific Reports*, 9(1), 2830. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39063-y>

Avenali, M., Tassorelli, C., De Icco, R., Perrotta, A., Serrao, M., Fresia, M., ... Sandrini, G. (2017). Pain processing in atypical Parkinsonisms and Parkinson disease: A comparative neurophysiological study. *Clinical Neurophysiology*, 128(10), 1978–1984. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.06.257>

- B -

Ball, N., Teo, W.-P., Chandra, S., & Chapman, J. (2019). Parkinson's Disease and the Environment. *Frontiers in Neurology*, 10 (March). <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00218>

Barasi, Stephen. 1979. "Responses of Substantia Nigra Neurones to Noxious Stimulation." *Brain Research* 171 (1): 121–30. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(79\)90737-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(79)90737-6).

Barik, A., Thompson, J. H., Seltzer, M., Ghitani, N., & Chesler, A. T. (n.d.). A Brainstem-Spinal Circuit Controlling Nocifensive Behavior. *Neuron*, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.10.037>

Barker, Roger A. 1988. "The Basal Ganglia and Pain." *International Journal of Neuroscience* 41 (1–2): 29–34. <https://doi.org/10.3109/00207458808985739>.

Barnes, C. D., Fung, S. J., & Adams, W. L. (1979). Inhibitory effects of substantia nigra on impulse transmission from nociceptors. *Pain*, 6(2), 207–215. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(79\)90128-3](https://doi.org/10.1016/0304-3959(79)90128-3)

Barone, Paolo, Werner Poewe, Stefan Albrecht, Catherine Debieuvre, Dan Massey, Olivier Rascol, Eduardo Tolosa, and Daniel Weintraub. 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): 573–80. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70106-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70106-X).

Baufreton, Jérôme, Erin Kirkham, Jeremy F. Atherton, Ariane Menard, Peter J. Magill, J. Paul Bolam, and Mark D. Bevan. 2009. "Sparse but Selective and Potent Synaptic Transmission From the Globus Pallidus to the Subthalamic Nucleus." *Journal of Neurophysiology* 102 (1): 532–45. <https://doi.org/10.1152/jn.00305.2009>.

Beckstead, R. M., Domesick, V. B., & Nauta, W. J. H. (1979). Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. *Brain Research*. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(79\)91001-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(79)91001-1)

Beiske, A. G., J. H. Loge, A. Rønningen, and E. Svensson. 2009. "Pain in Parkinson's Disease: Prevalence and Characteristics." *Pain* 141 (1–2): 173–77. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2008.12.004>.

Beitz, A J. 1982. "The Organization of Afferent Projections to the Midbrain Periaqueductal Gray of the Rat." *Neurosc* 7.

- Belasen, A., Youn, Y., Gee, L., Prusik, J., Lai, B., Ramirez-Zamora, A., ... Pilitsis, J. G. (2016). The Effects of Mechanical and Thermal Stimuli on Local Field Potentials and Single Unit Activity in Parkinson's Disease Patients. *Neuromodulation*, 19(7), 698–707. <https://doi.org/10.1111/ner.12453>
- Belzunegui, S., Sebastian, W. S. & Garrido-Gil, P. The number of dopaminergic cells is increased in the olfactory bulb of monkeys chronically exposed to MPTP. *Synapse* 61, 1006–1012 (2007).
- Benabid, A. L., Pollak, P., Hoffmann, D., Gervason, C., Hommel, M., Perret, J. E., ... Gao, D. M. (1991). Long-term suppression of tremor by chronic stimulation of the ventral intermediate thalamic nucleus. *The Lancet*, 337(8738), 403–406. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)91175-T](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91175-T)
- Benarroch, E. E. (2016). Parabrachial nuclear complex. *Neurology*. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002393>
- Benazzouz, A., B., Gross, C., Feger, J., Boraud, T., & Bioulac, B. (1993). Reversal of rigidity and improvement in motor performance by subthalamic high-frequency stimulation in MPTP-treated monkeys. *European Journal of Neuroscience*, 5(4), 382–389.
- Benhamou, Liora, and Dana Cohen. 2014. "Electrophysiological Characterization of Entopeduncular Nucleus Neurons in Anesthetized and Freely Moving Rats." *Frontiers in Systems Neuroscience* 8 (February): 1–9. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00007>.
- Bentivoglio, M.D., Van der Kooy, and H.G.J.M. Kuypers (1979) The organization of the efferent projections of the substantia nigra in the rat. A retrograde fluorescent double labeling study. *Brain Res.* 174:l-17.
- Berg, D., Postuma, R. B., Adler, C. H., Bloem, B. R., Chan, P., Dubois, B., ... Deuschl, G. (2015). MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 30(12), 1600–1611. <https://doi.org/10.1002/mds.26431>
- Berger, K., Breteler, M. M., Helmer, C., Inzitari, D., Fratiglioni, L., Trenkwalder, C., et al. (2000). Prognosis with Parkinson's disease in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. *Neurologic diseases in the elderly research group. Neurology*, 54, S24–S27.
- Bergman, H., Wichmann, T., & DeLong, M. R. (1990). Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science*, 249(4975), 1436–1438. <https://doi.org/10.1126/science.2402638>
- Bergman, H., Wichmann, T., Karmon, B., & DeLong, M. R. (1994). The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *Journal of Neurophysiology*, 72(2), 507–520. <https://doi.org/10.1152/jn.1994.72.2.507>
- Bernard, J. F., & Besson, J. M. (1990). The spino(trigemino)pontoamygdaloid pathway: electrophysiological evidence for an involvement in pain processes. *Journal of Neurophysiology*, 63(3), 473–490. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(90\)92470-B](https://doi.org/10.1016/0304-3959(90)92470-B)
- Bernard, J. F., Huang, G. F., & Besson, J. M. (1994). The parabrachial area: electrophysiological evidence for an involvement in visceral nociceptive processes. *Journal of Neurophysiology*, 71(5), 1646–1660. <https://doi.org/10.1152/jn.1994.71.5.1646>
- Bernard, J. F., Peschanski, M., & Besson, J. M. (1989). A possible spino (trigemino)-ponto-amygdaloid pathway for pain. *Neuroscience Letters*. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(89\)90664-2](https://doi.org/10.1016/0304-3940(89)90664-2)

- Bester, H., Menendez, L., Besson, J. M., & Bernard, J. F. (1995). Spino (trigemino) parabrachiohypothalamic pathway: Electrophysiological evidence for an involvement in pain processes. *Journal of Neurophysiology* (Vol. 73). <https://doi.org/10.1152/jn.1995.73.2.568>
- Bevan, M. D., & Bolam, J. P. (1995). Cholinergic, GABAergic, and glutamate-enriched inputs from the mesopontine tegmentum to the subthalamic nucleus in the rat. *Journal of Neuroscience*, 15(11), 7105–7120.
- Bevan, M. D., Clarke, N. P., & Bolam, J. P. (1997). Synaptic Integration of Functionally Diverse Pallidal Information in the Entopeduncular Nucleus and Subthalamic Nucleus in the Rat. *The Journal of Neuroscience*, 17(1), 308–324. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-01-00308.1997>
- Bevan, M. D., Smith, A. D., & Bolam, J. P. (1996). The substantia nigra as a site of synaptic integration of functionally diverse information arising from the ventral pallidum and the globus pallidus in the rat. *Neuroscience*. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(96\)00377-6](https://doi.org/10.1016/0306-4522(96)00377-6)
- Bevan, Mark D., Nick P. Clarke, and J. Paul Bolam. 2018. “Synaptic Integration of Functionally Diverse Pallidal Information in the Entopeduncular Nucleus and Subthalamic Nucleus in the Rat.” *The Journal of Neuroscience* 17 (1): 308–24. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-01-00308.1997>.
- Bezard, E., Gross, C. E., & Brotchie, J. M. (2003). Presymptomatic compensation in Parkinson’s disease is not dopamine-mediated. *Trends in Neurosciences*, 26(4), 215–221. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(03\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(03)00038-9)
- Bianchi, R., Corsetti, G., Rodella, L., Tredici, G., & Gioia, M. (1998). Supraspinal connections and termination patterns of the parabrachial complex determined by the biocytin anterograde tract-tracing technique in the rat. *Journal of Anatomy*, 193(3), 417–430. <https://doi.org/10.1017/S0021878298004038>
- Bird, G. C., Lash, L. L., Han, J. S., Zou, X., Willis, W. D., & Neugebauer, V. (2005). Protein kinase A-dependent enhanced NMDA receptor function in pain-related synaptic plasticity in rat amygdala neurones. *Journal of Physiology*, 564(3), 907–921. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.084780>
- Blanchet, Pierre J., and Christine Brefel-Courbon. 2017. “Chronic Pain and Pain Processing in Parkinson’s Disease.” *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, no. September: 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.10.010>.
- Boeve, B. F., Dickson, D. W., Olson, E. J., Shepard, J. W., Silber, M. H., Ferman, T. J., ... Benarroch, E. E. (2007). Insights into REM sleep behavior disorder pathophysiology in brainstem-predominant Lewy body disease. *Sleep Medicine*, 8(1), 60–64. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2006.08.017>
- Boeve, B. F., Silber, M. H., Ferman, T. J., Kokmen, E., Smith, G. E., Ivnik, R. J., ... Petersen, R. C. (1998). REM sleep behavior disorder and degenerative dementia: An association likely reflecting Lewy body disease. *Neurology*, 51(2), 363–370. <https://doi.org/10.1212/WNL.51.2.363>
- Bogousslavsky, Julien, Franco Regli, and Antoine Uske. 1987. “Thalamic Infarcts :” *Neurology*.
- Bolam, J. P., & Smith, Y. (1990). The GABA and substance P input to dopaminergic neurones in the substantia nigra of the rat. *Brain Research*, 529(1–2), 57–78. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90811-O](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90811-O)

Bolam, J. P., and Y. Smith. 1992. "The Striatum and the Globus Pallidus Send Convergent Synaptic Inputs onto Single Cells in the Entopeduncular Nucleus of the Rat: A Double Anterograde Labelling Study Combined with Postembedding Immunocytochemistry for GABA." *Journal of Comparative Neurology* 321 (3): 456–76. <https://doi.org/10.1002/cne.903210312>.

Bolam, J. P., Smith, Y., Ingham, C. A., Von Krosigk, M., & Smith, A. D. (1993). Chemical Signalling in the Basal Ganglia Volume 99 __ Chapter 5 Convergence of synaptic terminals from the striatum and the globus pallidus onto single neurones in the substantia nigra and the entopeduncular.

Bolam, J. P., Smith, Y., Ingham, C. A., Von Krosigk, M., & Smith, A. D. (1993). Convergence of synaptic terminals from the striatum and the globus pallidus onto single neurones in the substantia nigra and the entopeduncular nucleus.

Bonanni, L., Thomas, A., Varanese, S., Scorrano, V., & Onofrj, M. (2007). Botulinum toxin treatment of lateral axial dystonia in Parkinsonism. *Movement Disorders*, 22(14), 2097–2103. <https://doi.org/10.1002/mds.21694>

Borsook, David, Jaymin Upadhyay, Eric H. Chudler, and Lino Becerra. 2010. "A Key Role of the Basal Ganglia in Pain and Analgesia--Insights Gained through Human Functional Imaging." *Molecular Pain* 6: 27. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-6-27>.

Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RA, Steur ENJ, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):197–211. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(02\)00065-9](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00065-9)

Braak, H., & Del Trecidi, K. (2015). Neuroanatomy and pathology of sporadic Parkinson's disease. *Advances in anatomy, embryology, and cell biology* (Vol. 215).

Breen, K. C., & Drutyte, G. (2013). Non-motor symptoms of Parkinson's disease: The patient's perspective. *Journal of Neural Transmission*, 120(4), 531–535. <https://doi.org/10.1007/s00702-012-0928-2>

Brefel-Courbon, C. et al. (2005) 'Effect of levodopa on pain threshold in Parkinson's disease: A clinical and positron emission tomography study', *Movement Disorders*, 20(12), pp. 1557–1563. doi: 10.1002/mds.20629.

Brefel-Courbon, Christine, Fabienne Ory-Magne, Claire Thalamas, Pierre Payoux, and Olivier Rascol. 2013. "Nociceptive Brain Activation in Patients with Neuropathic Pain Related to Parkinson's Disease." *Parkinsonism and Related Disorders* 19 (5): 548–52. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2013.02.003>.

Brischoux, F., Chakraborty, S., Brierley, D. I., & Ungless, M. A. (2009). Phasic excitation of dopamine neurons in ventral VTA by noxious stimuli. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(12), 4894–4899. <https://doi.org/10.1073/pnas.0811507106>

Brown, L L, J S Schneider, and T I Lidsky. 1997. "Sensory and Cognitive Functions of the Basal Ganglia. [Review] [65 Refs]." *Current Opinion in Neurobiology* 7 (2): 157–63.

Brown, R. G., & Pluck, G. (2000). Negative symptoms: The "pathology" of motivation and goal-directed behaviour. *Trends in Neurosciences*, 23(9), 412–417. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(00\)01626-X](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(00)01626-X)

Bruno, V. A., Fox, S. H., Mancini, D., & Miyasaki, J. M. (2016). Botulinum Toxin Use in Refractory Pain and Other Symptoms in Parkinsonism. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 43(5), 697–702. <https://doi.org/10.1017/cjn.2016.279>

Burbaud, P., Gross, C., Benazzouz, A., Cousemacq, M., & Bioulac, B. (1995). Reduction of apomorphine-induced rotational behaviour by subthalamic lesion in 6-OHDA lesioned rats is associated with a normalization of firing rate and discharge pattern of pars reticulata neurons. *Experimental Brain Research*. <https://doi.org/10.1007/BF00242181>

- C -

Calzà, L., Pozza, M., Zanni, M., Manzini, C. U., Manzini, E., & Hökfelt, T. (1997). Peptide plasticity in primary sensory neurons and spinal cord during adjuvant-induced arthritis in the rat: An immunocytochemical and in situ hybridization study. *Neuroscience*, 82(2), 575–589. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00272-8](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00272-8)

Campos, A. C. P., Berzuino, M. B., Hernandes, M. S., Fonoff, E. T., & Pagano, R. L. (2019). Monoaminergic regulation of nociceptive circuitry in a Parkinson's disease rat model. *Experimental Neurology*, 318(December 2018), 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2019.04.015>

Campos, C. A., Bowen, A. J., Roman, C. W., & Palmiter, R. D. (2018). Encoding of danger by parabrachial CGRP neurons. *Nature*, 555(7698), 617–622. <https://doi.org/10.1038/nature25511>

Campos, C. A., Bowen, A. J., Schwartz, M. W., & Palmiter, R. D. (2016). Parabrachial CGRP Neurons Control Meal Termination. *Cell Metabolism*, 23(5), 811–820. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.006>

Carelli, R. M., & West, M. O. (1991). Representation of the body by single neurons in the dorsolateral striatum of the awake, unrestrained rat. *Journal of Comparative Neurology*, 309(2), 231–249. <https://doi.org/10.1002/cne.903090205>

Carey, R. J. (1986). Acute ipsilateral hyperalgesia and chronic contralateral hypoalgesia after unilateral 6-hydroxydopamine lesions of the substantia nigra. *Experimental Neurology*, 91(2), 277–284. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(86\)90068-3](https://doi.org/10.1016/0014-4886(86)90068-3)

Carpenter, Malcolm B., and Norman L. Strominger. 1967. "Efferent Fibers of the Subthalamic Nucleus in the Monkey. A Comparison of the Efferent Projections of the Subthalamic Nucleus, Substantia Nigra and Globus Pallidus." *American Journal of Anatomy* 121 (1): 41–71. <https://doi.org/10.1002/aja.1001210105>.

Carter, M. E., Soden, M. E., Zweifel, L. S., & Palmiter, R. D. (2013). Genetic identification of a neural circuit that suppresses appetite. *Nature*, 503(7474), 111–114. <https://doi.org/10.1038/nature12596>

Cavdar, S., Özgür, M., Özgür Çakmak, Y., Kuvvet, Y., Kezban Kunt, S., & Sağlam, G. (2018). Afferent projections of the subthalamic nucleus in the rat: emphasis on bilateral and interhemispheric connections, (78), 251–263. <https://doi.org/10.21307/ane>

Cechetto, D. F., & Saper, C. B. (1987). Evidence for a viscerotopic sensory representation in the cortex and thalamus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 262(1), 27–45. <https://doi.org/10.1002/cne.902620104>

- Cechetto, D. F., Standaert, D. G., & Saper, C. B. (1985). Spinal and trigeminal dorsal horn projections to the parabrachial nucleus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 240(2), 153–160. <https://doi.org/10.1002/cne.902400205>
- Chamberlin, N. L., & Saper, C. B. (1992). Topographic organization of respiratory responses to glutamate microstimulation of the parabrachial nucleus in the rat. *Journal of Neuroscience*, 14(11 I), 6500–6510.
- Chamberlin, N. L., & Saper, C. B. (1995). Differential distribution of AMPA-selective glutamate receptor subunits in the parabrachial nucleus of the rat. *Neuroscience*, 68(2) 435-43.
- Chambers, J. M., & Prescott, T. J. (2010). Response times for visually guided saccades in persons with Parkinson's disease: A meta-analytic review. *Neuropsychologia*, 48(4), 887–899. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2009.11.006>
- Chang, H. T., Kita, H., & Kitai, S. T. (1983). The fine structure of the rat subthalamic nucleus: An electron microscopic study. *Journal of Comparative Neurology*, 221(1), 113–123. <https://doi.org/10.1002/cne.902210110>
- Chang, H.T., Wilson, C.J., Kitai, S.T., 1981. Single neostriatal efferent axons in the globus pallidus: a light and electron microscopic study. *Science*. 213, 915918.
- Charles, Keri-Ann, Frédéric Naudet, Rabia Bouali-Benazzouz, Marc Landry, Philippe De Deurwaerdère, Pascal Fossat, and Abdelhamid Benazzouz. 2018. "Alteration of Nociceptive Integration in the Spinal Cord of a Rat Model of Parkinson's Disease." *Movement Disorders* 00 (00): 1–6. <https://doi.org/10.1002/mds.27377>.
- Chaudhuri, K. R. et al. (2015) 'King's Parkinson's disease pain scale, the first scale for pain in PD: An international validation', *Movement Disorders*, 30(12), pp. 1623–1631. doi: 10.1002/mds.26270.
- Chaudhuri, K. R., & Schapira, A. H. (2009). Non-motor symptoms of Parkinson's disease: dopaminergic pathophysiology and treatment. *The Lancet Neurology*. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70068-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70068-7)
- Chen Yu Chiang, Hu, J. W., & Sessle, B. J. (1994). Parabrachial area and nucleus raphe magnus-induced modulation of nociceptive and nonnociceptive trigeminal subnucleus caudalis neurons activated by cutaneous or deep inputs. *Journal of Neurophysiology*, 71(6), 2430–2445.
- Chen, J. Y., Campos, C. A., Jarvie, B. C., & Palmiter, R. D. (2018). Parabrachial CGRP Neurons Establish and Sustain Aversive Taste Memories. *Neuron*, 100(4), 891-899.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.09.032>
- Chen, X., Kombian, S. B., Zidichouski, J. A., & Pittman, Q. J. (1999). Dopamine depresses glutamatergic synaptic transmission in the rat parabrachial nucleus in vitro. *Neuroscience*, 90(2), 457–468. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00594-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00594-6)
- Chen, X., Zhang, L., & Kombian, S. B. (2004). Dopamine-induced synaptic depression in the parabrachial nucleus is independent of CTX- and PTX-sensitive G-proteins, PKA and PLC signalling pathways. *Brain Research*, 995(2), 236–246. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.10.014>
- Chevalier, G., Thierry, A. M., Shibasaki, T., & Féger, J. (1981). Evidence for a GABAergic inhibitory nigrotectal pathway in the rat. *Neuroscience Letters*, 21(1), 67–70. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(81\)90059-8](https://doi.org/10.1016/0304-3940(81)90059-8)

- Chu, Y. and Kordower, J. H. (2007) 'Age-associated increases of α -synuclein in monkeys and humans are associated with nigrostriatal dopamine depletion: Is this the target for Parkinson's disease?', *Neurobiology of Disease*, 25(1), pp. 134–149. doi: 10.1016/j.nbd.2006.08.021.
- Chudler, E. H., Sugiyama, K., & Dong, W. K. (1993). Nociceptive responses in the neostriatum and globus pallidus of the anesthetized rat. *Journal of Neurophysiology*, 69(6), 1890–1903. <https://doi.org/10.1152/jn.1993.69.6.1890>
- Chudler, E.H., Anton, F., Dubner, R. and Kenshalo, D.R., Jr.. Responses of nociceptive SI neurons in monkeys and pain sensation in humans elicited by noxious thermal stimulation: effect of interstimulus interval, *J. Neurophysiol.*, 63 (1990) 559-569.
- Chudler, Eric H., and Willie K. Dong. 1995. "Review Article The Role of the Basal Ganglia in Nociception and Pain." *Pain* 60: 3–38. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)00172-B](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)00172-B).
- Ciampi De Andrade, D., Lefaucheur, J. P., Galhardoni, R., Ferreira, K. S. L., Brandão Paiva, A. R., Bor-Seng-Shu, E., ... Teixeira, M. J. (2012). Subthalamic deep brain stimulation modulates small fiber-dependent sensory thresholds in Parkinson's disease. *Pain*, 153(5), 1107–1113. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.02.016>
- Clarke, P. B. S., Hommer, D. W., Pert, A., & Skirboll, L. R. (1987). Innervation of substantia nigra neurons by cholinergic afferents from pedunculopontine nucleus in the rat: neuroanatomical and electrophysiological evidence. *Neuroscience*, 23(3), 1011–1019. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(87\)90176-X](https://doi.org/10.1016/0306-4522(87)90176-X)
- Coizet, V., Dommett, E. J., Klop, E. M., Redgrave, P., & Overton, P. G. (2010). The parabrachial nucleus is a critical link in the transmission of short latency nociceptive information to midbrain dopaminergic neurons. *Neuroscience*, 168(1), 263–272. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.03.049>
- Coizet, V., Dommett, E. J., Redgrave, P., & Overton, P. G. (2006). Nociceptive responses of midbrain dopaminergic neurones are modulated by the superior colliculus in the rat. *Neuroscience*, 139(4), 1479–1493. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.01.030>
- Coizet, V., Graham, J. H., Moss, J., Bolam, J. P., Savasta, M., McHaffie, J. G., ... Overton, P. G. (2009). Short-Latency Visual Input to the Subthalamic Nucleus Is Provided by the Midbrain Superior Colliculus. *Journal of Neuroscience*. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0247-09.2009>
- Comoli, E., Coizet, V., Boyes, J., Bolam, J. P., Canteras, N. S., Quirk, R. H., ... Redgrave, P. (2003). A direct projection from superior colliculus to substantia nigra for detecting salient visual events. *Nature Neuroscience*, 6(9), 974–980. <https://doi.org/10.1038/nn1113>
- Coon, E. A., & Laughlin, R. S. (2012). Burning mouth syndrome in Parkinson's disease: Dopamine as cure or cause? *Journal of Headache and Pain*, 13(3), 255–257. <https://doi.org/10.1007/s10194-012-0421-1>
- Craig, A. D. (Bud. (1995). Distribution of brainstem projections from spinal lamina I neurons in the cat and the monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 361(2), 225–248. <https://doi.org/10.1002/cne.903610204>
- Cury, Rubens G., Ricardo Galhardoni, Erich T. Fonoff, Maria G. Dos Santos Ghilardi, Fernanda Fonoff, Debora Arnaut, Martin L. Myczkowski, et al. 2014. "Effects of Deep Brain Stimulation on Pain and Other Nonmotor Symptoms in Parkinson Disease." *Neurology* 83 (16): 1403–9. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000887>.

- D -

Dahlström, A., & Fuxe, K. (1964). Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia*, 20(7), 398–399. <https://doi.org/10.1007/BF02147990>

De Lacalle, S., & Saper, C. B. (2000). Calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity marks putative visceral sensory pathways in human brain. *Neuroscience*, 100(1), 115–130. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(00\)00245-1](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00245-1)

Degos, B., Deniau, J. M., Le Cam, J., Maily, P., & Maurice, N. (2008). Evidence for a direct subthalamo-cortical loop circuit in the rat. *European Journal of Neuroscience*, 27(10), 2599–2610. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06229.x>

Delaville, C. et al. (2012) 'Emerging dysfunctions consequent to combined monoaminergic depletions in parkinsonism', *Neurobiology of Disease*. Elsevier B.V., 45(2), pp. 763–773. doi: 10.1016/j.nbd.2011.10.023.

Dellapina E, Gerdelat-Mas A, Ory-Magne F, Pourcel L, Galitzky M, Calvas F, Simonetta-Moreau M, Thalamas C, Payoux P, Brefel-Courbon C. 2011. Apomorphine effect on pain threshold in Parkinson's disease: a clinical and positron emission tomography study. *Movement Disorders* 26:153–157. DOI: <https://doi.org/10.1002/mds.23406>,

Dellapina, Estelle, Regragui, Wafa, Yves Lazorthes, Olivier Rascol, Claire Thalamas, Christine Brefel-Courbon, Pierre Payoux, and Fabienne Ory-Magne. 2012. "Effect of Subthalamic Deep Brain Stimulation on Pain in Parkinson's Disease." *Pain* 153 (11): 2267–73. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.07.026>.

Dellapina, Estelle. 2012. "Etude Physiopathologique de La Douleur Dans La Maladie de Parkinson Approches Pharmacologique, En Neuroimagerie et Évaluation Des Effets de La Stimulation Cérébrale Profonde Du Noyau Sous-Thalamique."

DeLong, Mahlon R. 1990. "Primate Models of Movement Disorders of Basal Ganglia Origin." *Trends in Neurosciences* 13 (7): 281–85. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90110-V](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90110-V).

Deniau, J. M., A. Menetrey, and S. Charpier. 1996. "The Lamellar Organization of the Rat Substantia Nigra Pars Reticulata: Segregated Patterns of Striatal Afferents and Relationship to the Topography of Corticostriatal Projections." *Neuroscience*. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(96\)00088-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(96)00088-7).

Deniau, J. M., and G. Chevalier. 1992. "The Lamellar Organization of the Rat Substantia Nigra Pars Reticulata: Distribution of Projection Neurons." *Neuroscience*. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90058-A](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90058-A).

Deniau, J. M., C. Hammond, A. Risz, and J. Feger. 1978. "Electrophysiological Properties of Identified Output Neurons of the Rat Substantia Nigra (Pars Compacta and Pars Reticulata): Evidences for the Existence of Branched Neurons." *Exp Brain Res* 32 (3): 409-22. <https://doi.org/10.1007/BF00238711>.

Dennis, S. G., and R. Melzack. 1983. "Pharmacology Effect of Cholinergic and Dopaminergic Agents on Pain and Morphine Analgesia measured by Three Pain Tests." *Pain* 21 (2): 196–97. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(85\)90293-3](https://doi.org/10.1016/0304-3959(85)90293-3).

Deuis, Jennifer R., Lucie S. Dvorakova, and Irina Vetter. 2017. "Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents." *Frontiers in Molecular Neuroscience* 10 (September): 1–17. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>.

Deumens, R., Blokland, A., & Prickaerts, J. (2002). Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Experimental Neurology*, 175(2), 303–317. <https://doi.org/10.1006/exnr.2002.7891>

Deuschl, G., Bain, P., & Brin, M. (1998). Consensus statement of the Movement Disorder Society on Tremor. Ad Hoc Scientific Committee. *Movement Disorders*, 13(Suppl. 3), 2–23.

Djaldetti R, Shifrin A, Rogowski Z, Sprecher E, Melamed E, Yarnitsky D (2004) Quantitative measurement of pain sensation in patients with Parkinson disease. *Neurology* 62:2171–2175

Dodson, Paul D., Joseph T. Larvin, James M. Duffell, Farid N. Garas, Natalie M. Doig, Nicoletta Kessar, Ian C. Duguid, Rafal Bogacz, Simon J.B. Butt, and Peter J. Magill. 2015. "Distinct Developmental Origins Manifest in the Specialized Encoding of Movement by Adult Neurons of the External Globus Pallidus." *Neuron* 86 (2): 501–13. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.03.007>.

Domenici, R. A., Campos, A. C. P., Maciel, S. T., Berzuino, M. B., Hernandez, M. S., Fonoff, E. T., & Pagano, R. L. (2019). Parkinson's disease and pain: Modulation of nociceptive circuitry in a rat model of nigrostriatal lesion. *Experimental Neurology*, 315(January), 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2019.02.007>

Donadio, V., Incensi, A., Piccinini, C., Cortelli, P., Giannoccaro, M. P., Baruzzi, A., & Liguori, R. (2016). Skin nerve misfolded α -synuclein in pure autonomic failure and Parkinson disease. *Annals of Neurology*, 79(2), 306–316. <https://doi.org/10.1002/ana.24567>

Dong, W.K., Salonen, L.D., Kawakami, Y., Shiwaku, T., Kaukoranta, E.M. and Martin, R.F., (1989). Nociceptive responses of trigeminal neurons in SII-7b cortex of awake monkeys, *Brain Res.*, 484 314-324

Dong, W.K., Chudler, E.H., Sugiyama, K., Roberts, V.J. and Hayashi, T., (1994). Somatosensory, multisensory and task-related neurons in cortical area 7b (PF) of unanesthetized monkeys, *J. Neurophysiol.*, 72 542-564.

Doshi, P., & Bhargava, P. (2008). Hypersexuality following subthalamic nucleus stimulation for Parkinson's disease. *Neurology India*, 56(4), 474–476. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.44830>

Doty, R. L. (2012) 'Olfactory dysfunction in Parkinson's disease', *Focus on Parkinson's Disease*. Nature Publishing Group, 24(1), pp. 38–43. doi: 10.1038/nrneurol.2012.80.

Dujardin, K. and Vérin, M. (2011). *La maladie de Parkinson: Masson (Monographies de neurologie): 220.*

- E -

Emre, M. (2003). What causes mental dysfunction in Parkinson's disease? *Movement Disorders*, 18(SUPPL. 6). <https://doi.org/10.1002/mds.10581>

Erro, E., Lanciego, J. L., & Giménez-Amaya, J. M. (1999). Relationships between thalamostriatal neurons and pedunculo-pontine projections to the thalamus a neuroanatomical tract-tracing study in the rat, 162–170.

- F -

Faull, R. L. M., & Mehler, W. R. (1978). The cells of origin of nigrotectal, nigrothalamic and nigrostriatal projections in the rat. *Neuroscience*, 3(11), 989–1002. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(78\)90119-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(78)90119-7)

Flaherty, A. W., & Graybiel, A. M. (1991). Corticostriatal transformations in the primate somatosensory system. Projections from physiologically mapped body-part representations. *Journal of Neurophysiology*, 66(4), 1249–1263. <https://doi.org/10.1152/jn.1991.66.4.1249>

Flaherty, A. W., & Graybiel, A. M. (1993). Two input systems for body representations in the primate striatal matrix: Experimental evidence in the squirrel monkey. *Journal of Neuroscience*, 13(3), 1120–1137.

Flandin, Pierre, Shioko Kimura, and J. L R Rubenstein. (2010) “The Progenitor Zone of the Ventral Medial Ganglionic Eminence Requires Nkx2-1 to Generate Most of the Globus Pallidus but Few Neocortical Interneurons.” *Journal of Neuroscience* 30 (8): 2812–23. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4228-09.2010>.

Ford B. (1998) ‘Pain in Parkinson’s disease’ *Clin Neuro- sci* 1998;5:63e72.

Ford, B. (2010) ‘Pain in Parkinson’s disease’, *Parkinson’s Disease, Second Edition*, 25(July 2009), pp. 225–234. doi: 10.1201/b12948.

François, C., G. Percheron, A. Parent, A. F. Sadikot, G. Fenelon, and J. Yelnik. 1991. “Topography of the Projection from the Central Complex of the Thalamus to the Sensorimotor Striatal Territory in Monkeys.” *Journal of Comparative Neurology* 305 (1): 17–34.

François, C., Percheron, G., Parent, A., Sadikot, A. F., Fenelon, G., & Yelnik, J. (1991). Topography of the projection from the central complex of the thalamus to the sensorimotor striatal territory in monkeys. *Journal of Comparative Neurology*, 305(1), 17–34. <https://doi.org/10.1002/cne.903050104>

François, C., Yelnik, J., Tandé, D., Agid, Y., & Hirsch, E. C. (1999). Dopaminergic cell group A8 in the monkey: Anatomical organization and projections to the striatum. *Journal of Comparative Neurology*, 414(3), 334–347. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19991122\)414:3<334::AID-CNE4>3.3.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19991122)414:3<334::AID-CNE4>3.3.CO;2-O)

Fulwiler, C. E., & Saper, C. B. (1984). Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Research Reviews*, 7(3), 229–259. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(84\)90012-2](https://doi.org/10.1016/0165-0173(84)90012-2)

- G -

Gaffan, David. 1996. “Memory, Action and the Corpus Striatum: Current Developments in the Memory-Habit Distinction.” *Seminars in Neuroscience* 8 (1): 33–38. <https://doi.org/10.1006/smns.1996.0005>.

Gandolfi, M., Geroin, C., Antonini, A., Smania, N., & Tinazzi, M. (2017). Understanding and Treating Pain Syndromes in Parkinson’s Disease. *International Review of Neurobiology* (1st ed., Vol. 134). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2017.05.013>

Garcia-Larrea, L., Frot, M., & Valeriani, M. (2003). Brain generators of laser-evoked potentials: From dipoles to functional significance. *Neurophysiologie Clinique*, 33(6), 279–292. <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2003.10.008>

- Garfield, A. S., Shah, B. P., Madara, J. C., Burke, L. K., Patterson, C. M., Flak, J., ... Heisler, L. K. (2014). A parabrachial-hypothalamic cholecystokinin neurocircuit controls counterregulatory responses to hypoglycemia. *Cell Metabolism*, 20(6), 1030–1037. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.11.006>
- Gasser, T., Mtiler-myhsok, B., Wszolek, Z. K., Oehlmann, R., Calne, D. B., Bonifatis, V., ... Horstmann, R. D. (1998). A susceptibility locus for Parkinson's disease maps to chromosome 2p13., 18(march), 262–265.
- Gauriau, C., & Bernard, J. (2010). Physiological Society Symposium Nociceptors as Homeostatic Afferents : Central Processing Pain pathways and parabrachial circuits in the rat. *Experimental Physiology*, 87(2), 251–258.
- Gerdelat-Mas, A., Simonetta-Moreau, M., Thalamas, C., Ory-Magne, F., Slaoui, T., Rascol, O., & Brefel-Courbon, C. (2007). Levodopa raises objective pain threshold in Parkinson's disease: A RIII reflex study. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 78(10), 1140–1142. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2007.120212>
- Gerfen, Charles R., and W. Scott Young. 1988. "Distribution of Striatonigral and Striatopallidal Peptidergic Neurons in Both Patch and Matrix Compartments: An in Situ Hybridization Histochemistry and Fluorescent Retrograde Tracing Study." *Brain Research*. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)91217-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)91217-6).
- Gerfen, Charles R., Thomas M. Engber, Lawrence C. Mahan, Zvi Susel, Thomas N. Chase, Frederick J. Monsma, and David R. Sibley. 1990. "D1 and D2 Dopamine Receptor-Regulated Gene Expression of Striatonigral and Striatopallidal Neurons." *Science* 250 (4986): 1429–32. <https://doi.org/10.1126/science.2147780>.
- Gerfen, Charles R., William A. Staines, Hans C. Fibiger, and Gordon W. Arbuthnott. 1982. "Crossed Connections of the Substantia Nigra in the Rat." *Journal of Comparative Neurology* 207 (3): 283–303. <https://doi.org/10.1002/cne.902070308>.
- Ghoche, R. (2012). The conceptual framework of palliative care applied to advanced Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*, 18(SUPPL. 3), S2–S5. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2012.06.012>
- Glinka, Y., M. Gassen, and M. B. Youdim, 1997. Mechanism of 6-hydroxydopamine neurotoxicity. *J. Neural Transm. Suppl.* 50: 55–66.
- Goedert, M., Falcon, B., Clavaguera, F., & Tolnay, M. (2014). Prion-like mechanisms in the pathogenesis of tauopathies and synucleinopathies. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 14(11), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11910-014-0495-z>
- Golbe, L. I., Di Iorio, G., Sanges, G., Lazzarini, A. M., La Sala, S., Bonavita, V., & Duvoisin, R. C. (1996). Clinical genetic analysis of Parkinson's disease in the Contursi kindred. *Annals of Neurology*, 40(5), 767–775. <https://doi.org/10.1002/ana.410400513>
- González-Hernández, T., & Rodríguez, M. (2000). Compartmental organization and chemical profile of dopaminergic and GABAergic neurons in the substantia nigra of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 421(1), 107–135. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(20000522\)421:1<107::AID-CNE7>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(20000522)421:1<107::AID-CNE7>3.0.CO;2-F)
- Graybiel, A. M., C. W. Ragsdale, and S. Moon Edley. 1979. "Compartments in the Striatum of the Cat Observed by Retrograde Cell Labeling." *Experimental Brain Research* 34 (1): 189–95. <https://doi.org/10.1007/BF00238352>.

Grillner, S., & Robertson, B. (2016). The Basal Ganglia Over 500 Million Years. *Current Biology*, 26(20), R1088–R1100. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.06.041>

Grinberg, L. T., Rueb, U., Alho, A. T. di L., & Heinsen, H. (2010). Brainstem pathology and non-motor symptoms in PD. *Journal of the Neurological Sciences*, 289(1–2), 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2009.08.021>

Gulley, Joshua M., Masaaki Kuwajima, Emily Mayhill, and George V. Rebec. 1999. "Behavior-Related Changes in the Activity of Substantia Nigra Pars Reticulata Neurons in Freely Moving Rats." *Brain Research* 845 (1): 68–76. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01932-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01932-0).

- H -

Haber SN, Fudge JL (1997) The primate substantia nigra and VTA: integrative circuitry and function. *Crit Rev Neurobiol* 11:323–342

Haber, S, K Kim, P Maily, and R Calzavara. 2006. "Reward-Related Cortical Inputs Define a Large Striatal Region in Primates That Interface with" *Journal of Neuroscience*. <http://www.jneurosci.org/cgi/content/abstract/26/32/8368%5Cnpapers2://publication/uuid/71A6104C-66EA-4D93-A6EB-D8059D1A86F0>.

Haber, S. N. (2014) 'The place of dopamine in the cortico-basal ganglia circuit', *Neuroscience*. IBRO, 282, pp. 248–257. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.10.008.

Haber, S. N., E. Lynd, C. Klein, and H. J. Groenewegen. 1990. "Topographic Organization of the Ventral Striatal Efferent Projections in the Rhesus Monkey: An Anterograde Tracing Study." *Journal of Comparative Neurology* 293 (2): 282–98. <https://doi.org/10.1002/cne.902930210>.

Halliday, G., Lees, A., & Stern, M. (2011). Milestones in Parkinson's disease-Clinical and pathologic features. *Movement Disorders*, 26(6), 1015–1021. <https://doi.org/10.1002/mds.23669>

Hamani, C., Saint-Cyr, J. A., Fraser, J., Kaplitt, M., & Lozano, A. M. (2004). The subthalamic nucleus in the context of movement disorders. *Brain*, 127(1), 4–20. <https://doi.org/10.1093/brain/awh029>

Han, S., Soleiman, M., Soden, M., Zweifel, L., & Palmiter, R. D. (2015). Elucidating an Affective Pain Circuit that Creates a Threat Memory. *Cell*, 162(2), 363–374. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.057>

Hassani, O. K., Mouroux, M., & Féger, J. (1996). Increased subthalamic neuronal activity after nigral dopaminergic lesion independent of disinhibition via the globus pallidus. *Neuroscience*, 72(1), 105–115. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)00535-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00535-8)

Hazrati, L. N., A. Parent, S. Mitchell, and S. N. Haber. 1990. "Evidence for Interconnections between the Two Segments of the Globus Pallidus in Primates: A PHA-L Anterograde Tracing Study." *Brain Research* 533 (1): 171–75. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)91813-V](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)91813-V).

Heikkila, R. E., P. K. Sonsalla, and R. C. Duvoisin, (1989). Bio-chemical models of Parkinson's disease. In *Neuromethods, Drugs as Tools in Neuroscience Research* (A. B. Boulton, G. B. Baker; and A. V. Juorio, Eds.), Vol. 12, pp. 351–384. Humana Press, Clifton, NJ. 28.

Heiko Braak ; Kelly Del Tredici. (2008). *Neuroanatomy and Pathology of Sporadic Parkinson's Disease*.

Heise, C. E., Reyes, S., & Mitrofanis, J. (2008). Sensory (nociceptive) stimulation evokes Fos expression in the subthalamus of hemiparkinsonian rats. *Neurol Res*, 30(3), 277–284. <https://doi.org/10.1179/016164107X235455> [doi]

Herbert, H., & Bellintani-Guardia, B. (1995). Morphology and dendritic domains of neurons in the lateral parabrachial nucleus of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 354(3), 377–394. <https://doi.org/10.1002/cne.903540307>

Hikosaka, O., Takikawa, Y., & Kawagoe, R. (2000). Role of the basal ganglia in the control of purposive saccadic eye movements. *Physiological Reviews*, 80(3), 953–978. <https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.3.953>

Hollerman, J. R., & Grace, A. A. (1992). Subthalamic nucleus cell firing in the 6-OHDA-treated rat: basal activity and response to haloperidol. *Brain Research*, 590(1–2), 291–299. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91108-Q](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)91108-Q)

Hopkins, D. A., & Niessen, L. W. (1976). Substantia nigra projections to the reticular formation, superior colliculus and central gray in the rat, cat and monkey. *Neuroscience Letters*, 2(5), 253–259. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(76\)90156-7](https://doi.org/10.1016/0304-3940(76)90156-7)

Hopkins, David A., and Louis W. Niessen. 1976. "Substantia Nigra Projections to the Reticular Formation, Superior Colliculus and Central Gray in the Rat, Cat and Monkey." *Neuroscience Letters* 2 (5): 253–59. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(76\)90156-7](https://doi.org/10.1016/0304-3940(76)90156-7).

Hornvkiewicz, O. (1998). Biochemical aspects of Parkinson ' s disease, 7–10.

Hughes, A. J., Daniel, S. E., Blankson, S., Lees, A. J., Hughes, E., Society Brain Bank, D., ... Hughes, L. (1993). A Clinicopathologic Study of 100 Cases of Parkinson's Disease.

Huisman, E., Uylings, H. B. M. and Hoogland, P. V. (2004) 'A 100% increase of dopaminergic cells in the olfactory bulb may explain hyposmia in parkinson's disease', *Movement Disorders*, 19(6), pp. 687–692. doi: 10.1002/mds.10713.

Hunt, S. P., & Mantyh, P. W. (2001). The molecular dynamics of pain control. *Nature Reviews. Neuroscience*, 2(February), 83–91. <https://doi.org/10.1038/35053509>

Hyland, B. I., Reynolds, J. N. J., Hay, J., Perk, C. G., & Miller, R. (2002). Firing Modes of Midbrain Dopamine Cells in. *Science*, 114(2).

Hylden JL, Anton F, Nahin RL. 1989. Spinal lamina I projection neurons in the rat: collateral innervation of parabrachial area and thalamus. *Neuroscience* 28:27–37. DOI: [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90229-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90229-7).

- I -

Ilinsky, I. A., M. L. Jouandet, and P. S. Goldman-Rakic. 1985. "Organization of the Nigrothalamocortical System in the Rhesus Monkey." *Journal of Comparative Neurology* 236 (3): 315–30. <https://doi.org/10.1002/cne.902360304>.

Iranzo, A., Graus, F., Clover, L., Morera, J., Bruna, J., Vilar, C., ... Santamaría, J. (2006). Rapid eye movement sleep behavior disorder and potassium channel antibody-associated limbic encephalitis. *Annals of Neurology*, 59(1), 178–182. <https://doi.org/10.1002/ana.20693>

- J -

Jackson S. and Houghton G. (1995) Sensorimotor selection and the basal ganglia: A neuronal network model. In *Models of information processing in the basal ganglia.* (ed. Houk J.C., Davis J.L. and Beiser D.G.), pp. 337-369. MIT Press, Cambridge, MA

Jackson, A., & Crossman, A. R. (1983). Nucleus tegmenti pedunculo-pontinus: Efferent connections with special reference to the basal ganglia, studied in the rat by anterograde and retrograde transport of horseradish peroxidase. *Neuroscience*. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(83\)90213-0](https://doi.org/10.1016/0306-4522(83)90213-0)

Jahanshahi, M., Obeso, I., Baunez, C., Alegre, M., & Krack, P. (2015). Parkinson's Disease, the Subthalamic Nucleus, Inhibition, and Impulsivity. *Movement Disorders*, 30(2), 128–140. <https://doi.org/10.1002/mds.26049>

Jahanshahi, M., Obeso, I., Rothwell, J. C., & Obeso, J. A. (2015). A fronto-striato-subthalamic-pallidal network for goal-directed and habitual inhibition. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(12), 719–732. <https://doi.org/10.1038/nrn4038>

Jahanshahi, Marjan, Ignacio Obeso, John C. Rothwell, and José A. Obeso. 2015. "A Fronto-Striato-Subthalamic-Pallidal Network for Goal-Directed and Habitual Inhibition." *Nature Reviews Neuroscience* 16 (12): 719–32. <https://doi.org/10.1038/nrn4038>.

Jellinger, K. a. (2015). Neuropathobiology of non-motor symptoms in Parkinson disease. *Journal of Neural Transmission*. <https://doi.org/10.1007/s00702-015-1405-5>

Jost, Wolfgang H., and Carsten Buhmann. 2019. "The Challenge of Pain in the Pharmacological Management of Parkinson's Disease." *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 20 (15): 1–8. <https://doi.org/10.1080/14656566.2019.1639672>.

Jung, Y. J., Kim, H. J., Jeon, B. S., Park, H., Lee, W. W., & Paek, S. H. (2015). An 8-year follow-up on the effect of subthalamic nucleus deep brain stimulation on pain in Parkinson disease. *JAMA Neurology*, 72(5), 504–510. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.8>

- K -

Kato, F., Sugimura, Y. K., & Takahashi, Y. (2018). Pain-Associated Neural Plasticity in the Parabrachial to Central Amygdala Circuit Pain Changes the Brain , the Brain Changes the Pain. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1756-9_14

Katsuta, H., & Isa, T. (2003). Release from GABAA receptor-mediated inhibition unmasks interlaminar connection within superior colliculus in anesthetized adult rats. *Neuroscience Research*, 46(1), 73–83. [https://doi.org/10.1016/S0168-0102\(03\)00029-4](https://doi.org/10.1016/S0168-0102(03)00029-4)

Kaur, S., Pedersen, N. P., Yokota, S., Hur, E. E., Fuller, P. M., Lazarus, M., ... Saper, C. B. (2013). Glutamatergic signaling from the parabrachial nucleus plays a critical role in hypercapnic arousal. *Journal of Neuroscience*, 33(18), 7627–7640. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0173-13.2013>

Kawaguchi, Yasuo, Charles J. Wilson, and Piers C. Emson. 1990. "Projection Subtypes of Rat Neostriatal Matrix Cells Revealed by Intracellular Injection of Biocytin." *Journal of Neuroscience* 10 (10): 3421–38.

Kemp JM, Powell TP. 1970. "Cortico-Striate Projection in the Monkey." *Brain : A Journal of Neurology* xcm: 525–46.

- Kemp, J. M., & Powell, T. P. (1970). Cortico-Striate Projection in the Monkey. *Brain : A Journal of Neurology*, xcm, 525–546.
- Kemp, J.M. & Powell, T.P.S. (1971) "The Structure of the Caudate Nucleus of the Cat: Light and electron microscopy." *J M Kemp, T. P. P. (1971). The Structure of the Caudate Nucleus of the Cat: Light and electron microscopy. Society*, 183(3), 1–79. Retrieved from <http://rsta.royalsocietypublishing.org/content/183/1>
- Kha, H. T., Finkelstein, D. I., Pow, D. V., Lawrence, A. J., & Horne, M. K. (2000). Study of projections from the entopeduncular nucleus to the thalamus of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 426(3), 366–377. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20001023\)426:3<366::AID-CNE2>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20001023)426:3<366::AID-CNE2>3.0.CO;2-B)
- Kha, Hoa Ton, David Isaac Finkelstein, David Vaughan Pow, Andrew John Lawrence, and Malcom Kenneth Horne. 2000. "Study of Projections from the Entopeduncular Nucleus to the Thalamus of the Rat." *Journal of Comparative Neurology* 426 (3): 366–77. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20001023\)426:3<366::AID-CNE2>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20001023)426:3<366::AID-CNE2>3.0.CO;2-B).
- Kim, H. J., Paek, S. H., Kim, J. Y., Lee, J. Y., Lim, Y. H., Kim, M. R., ... Jeon, B. S. (2008). Chronic subthalamic deep brain stimulation improves pain in Parkinson disease. *Journal of Neurology*, 255(12), 1889–1894. <https://doi.org/10.1007/s00415-009-0908-0>
- Kim, H. J., S. H. Paek, J. Y. Kim, J. Y. Lee, Y. H. Lim, M. R. Kim, D. G. Kim, and B. S. Jeon. 2008. "Chronic Subthalamic Deep Brain Stimulation Improves Pain in Parkinson Disease." *Journal of Neurology* 255 (12): 1889–94. <https://doi.org/10.1007/s00415-009-0908-0>.
- Kim, Han Joon, Beom S. Jeon, Jee Young Lee, Sun Ha Paek, and Dong Gyu Kim. 2012. "The Benefit of Subthalamic Deep Brain Stimulation for Pain in Parkinson Disease: A 2-Year Follow-up Study." *Neurosurgery* 70 (1): 18–23. <https://doi.org/10.1227/NEU.0b013e3182266664>.
- Kita, H., & Kitai, S. T. (1988). Glutamate decarboxylase immunoreactive neurons in rat neostriatum: their morphological types and populations. *Brain Research*, 447(2), 346–352. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)91138-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)91138-9)
- Kita, H., and S. T. Kita. 1994. "The Morphology of Globus Pallidus Projection Neurons in the Rat: An Intracellular Staining Study." *Brain Research* 636 (2): 308–19. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91030-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91030-8).
- Kita, H., and S. T. Kitai. 1987. "Efferent Projections of the Subthalamic Nucleus in the Rat: Light and Electron Microscopic Analysis with the PHA-L Method." *Journal of Comparative Neurology* 260 (3): 435–52. <https://doi.org/10.1002/cne.902600309>.
- Kita, H., and S. T. Kitai. 1988. "Glutamate Decarboxylase Immunoreactive Neurons in Rat Neostriatum: Their Morphological Types and Populations." *Brain Research* 447 (2): 346–52. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)91138-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)91138-9).
- Kita, H., Chang, H. T., & Kitai, S. T. (1983). The morphology of intracellularly labeled rat subthalamic neurons: A light microscopic analysis. *Journal of Comparative Neurology*, 215(3), 245–257. <https://doi.org/10.1002/cne.902150302>
- Kitahama, K., Sakamoto, N., Jouvét, A., Nagatsu, I., & Pearson, J. (1996). Dopamine-β-hydroxylase and tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons in the human brainstem. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 10(2), 137–146. [https://doi.org/10.1016/0891-0618\(96\)00111-1](https://doi.org/10.1016/0891-0618(96)00111-1)

Kliem, Michele A., Nigel T. Maidment, Larry C. Ackerson, Sugong Chen, Yoland Smith, and Thomas Wichmann. 2007. "Activation of Nigral and Pallidal Dopamine D1-like Receptors Modulates Basal Ganglia Outflow in Monkeys." *Journal of Neurophysiology* 98 (3): 1489–1500. <https://doi.org/10.1152/jn.00171.2007>.

Klop, E. M., Mouton, L. J., Hulsebosch, R., Boers, J., & Holstege, G. (2005). In cat four times as many lamina I neurons project to the parabrachial nuclei and twice as many to the periaqueductal gray as to the thalamus. *Neuroscience*, 134(1), 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.03.035>

Konnova EA, Swanberg M. (2018) - Animal Models of Parkinson's Disease. In: *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. Chapter 5.

Koshimizu, Y., Fujiyama, F., Nakamura, K. C., Furuta, T., & Kaneko, T. (2013). Quantitative analysis of axon bouton distribution of subthalamic nucleus neurons in the rat by single neuron visualization with a viral vector. *Journal of Comparative Neurology*, 521(9), 2125–2146. <https://doi.org/10.1002/cne.23277>

Krack, P., Kumar, R., Ardouin, C., Dowsey, P. L., Mc Vicker, J. M., Benabid, A. L., & Pollak, P. (2001). Mirthful laughter induced by subthalamic nucleus stimulation. *Movement Disorders*, 16(5), 867–875. <https://doi.org/10.1002/mds.1174>

Kreiss, D. S., & Walters, J. R. (1996). Apomorphine and dopamine D(1) receptor agonists increase the firing rates of subthalamic nucleus neurons. *Neuroscience*, 72(3), 863–876.

Kremer, J. R., Mastrorade, D. N., & McIntosh, J. R. (1996). Computer visualization of three-dimensional image data using IMOD. *Journal of Structural Biology*, 116(1), 71–76. <https://doi.org/10.1006/jsbi.1996.0013>

Krout, K. E., & Loewy, A. D. (2000). Parabrachial nucleus projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 428(3), 475–494. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20001218\)428:3<475::AID-CNE6>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20001218)428:3<475::AID-CNE6>3.0.CO;2-9)

Krout, K. E., Belzer, R. E., & Loewy, A. D. (2002). Brainstem projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 448(1), 53–101. <https://doi.org/10.1002/cne.10236>

Krout, K. E., Loewy, A. D., Max Westby, G. W., & Redgrave, P. (2001). Superior colliculus projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 431(2), 198–216. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20010305\)431:2<198::AID-CNE1065>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20010305)431:2<198::AID-CNE1065>3.0.CO;2-8)

Künig, G., Leenders, K. L., Martin-Sölch, C., Missimer, J., Magyar, S., & Schultz, W. (2000). Reduced reward processing in the brains of Parkinsonian patients. *NeuroReport*, 11(17), 3681–3687. <https://doi.org/10.1097/00001756-200011270-00019>

- L -

Langston, J. W., Forno, L. S., Rebert, C. S. and Irwin, I. (1984). Selective nigral toxicity after systemic administration of 1- methyl 4-phenyl 1-1,2,3,6, tetrahydropyridine (MPTP) in the squirrel monkey. *Brain Res.* 292, 390-394.

Langston, J. W. and Ballard, P. A., Jr. (1983). Parkinson's disease in a chemist working with 1- methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine. *N Engl J Med*, 309(5), 310.

- Lee, Mark A., Richard W. Walker, Tony J. Hildreth, and Wendy M. Prentice. 2006. "A Survey of Pain in Idiopathic Parkinson's Disease." *Journal of Pain and Symptom Management* 32 (5): 462–69. <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2006.05.020>.
- Lees, A. J. et al. (2008) 'The black stuff and Konstantin Nikolaevich Tretiakoff', *Movement Disorders*, 23(6), pp. 777–783. doi: 10.1002/mds.21855.
- Lefaucheur, J. P. (2005). Motor cortex dysfunction revealed by cortical excitability studies in Parkinson's disease: Influence of antiparkinsonian treatment and cortical stimulation. *Clinical Neurophysiology*, 116(2), 244–253. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2004.11.017>
- Lelan, F. et al. (2011) 'Effects of human alpha-synuclein A53T-A30P mutations on SVZ and local olfactory bulb cell proliferation in a transgenic rat model of Parkinson disease', *Parkinson's Disease*, 2011. doi: 10.4061/2011/987084.
- Lévesque, J. C., & André, P. (2005). GABAergic interneurons in human subthalamic nucleus. *Movement Disorders*, 20(5), 574–584. <https://doi.org/10.1002/mds.20374>
- Levine, N. D., Rademacher, D. J., Collier, T. J., O'Malley, J. A., Kells, A. P., San Sebastian, W., ... Steece-Collier, K. (2013). Advances in thin tissue Golgi-Cox impregnation: Fast, reliable methods for multi-assay analyses in rodent and non-human primate brain. *Journal of Neuroscience Methods*, 213(2), 214–227. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2012.12.001>
- Levy, R., L. N. Hazrati, M. T. Herrero, M. Vila, O. K. Hassani, M. Mouroux, M. Ruberg, et al. 1997. "Re-Evaluation of the Functional Anatomy of the Basal Ganglia. In Normal and Parkinsonian States." *Neuroscience* 76 (2): 335–43. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(96\)00409-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(96)00409-5).
- Lewis, S. J. G., & Barker, R. A. (2009). Understanding the dopaminergic deficits in Parkinson's disease: Insights into disease heterogeneity. *Journal of Clinical Neuroscience*, 16(5), 620–625. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2008.08.020>
- Lewis, Simon J G, and Roger A. Barker. 2009. "Understanding the Dopaminergic Deficits in Parkinson's disease: Insights into Disease Heterogeneity." *Journal of Clinical Neuroscience* 16 (5): 620–25. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2008.08.020>.
- Limousin, P., Krack, P., Pollak, P., Benazzouz, A., Ardouin, C., Hoffmann, D., & Benabid, A. L. (1998). Electrical stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinsonian's disease. *New England Journal of Medicine*, 339(16), 1105–1111. <https://doi.org/10.1056/NEJM199810153391603>
- Lin, M. T., & Tsay, B. L. (1985). Striatal neuronal responses to scrotal temperature changes and dopaminergic drugs. *The American Journal of Physiology*, 248(1 Pt 2).
- Lin, M. T., Uang, W. N., & Chan, H. K. (1983). Both thermal and nociceptive afferents influence the unit activity of the neurons in the corpus striatum., 15(1980), 120–122.
- Lin, M. T., Uang, W. N., & Chan, H. K. (1983). Both thermal and nociceptive afferents influence the unit activity of the neurons in the corpus striatum., 15(1980), 120–122.
- Lin, M. T., Wu, J. J., Chandra, A., & Tsay, B. L. (1981). Activation of striatal dopamine receptors induces pain inhibition in rats. *Journal of Neural Transmission*, 51(3–4), 213–222. <https://doi.org/10.1007/BF01248953>
- Lindvall, Olle Lindvall, Anders Björklund Björklund, and Gunnar Skagerberg. 1983. "Dopamine-containing Neurons in the Spinal Cord: Anatomy and Some Functional Aspects." *Annals of Neurology* 14 (3): 255–60. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.1959.tb02431.x>.

Lineberry, C. G., & Vierck, C. J. (1975). Attenuation of pain reactivity by caudate nucleus stimulation in monkeys. *Brain Research*, 98(1), 119–134. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(75\)90513-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(75)90513-2)

- M -

Magill, P. J., Bolam, J. P., & Bevan, M. D. (2001). Dopamine regulates the impact of the cerebral cortex on the subthalamic nucleus-globus pallidus network. *Neuroscience*, 106(2), 313–330.

Maillet, A., Krack, P., Lhommée, E., Météreau, E., Klinger, H., Favre, E., ... Thobois, S. (2016). The prominent role of serotonergic degeneration in apathy, anxiety and depression in de novo Parkinson's disease. *Brain*, 139(9), 2486–2502. <https://doi.org/10.1093/brain/aww162>

Mailly, P., S. Charpier, S. Mahon, A. Menetrey, A. M. Thierry, J. Glowinski, and J. M. Deniau. 2001. "Dendritic Arborizations of the Rat Substantia Nigra Pars Reticulata Neurons: Spatial Organization and Relation to the Lamellar Compartmentation of Striato-Nigral Projections." *The Journal of Neuroscience* 21 (17): 6874–88. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.21-17-06874.2001>.

Mallet, Nicolas, Benjamin R. Micklem, Pablo Henny, Matthew T. Brown, Claire Williams, J. Paul Bolam, Kouichi C. Nakamura, and Peter J. Magill. 2012. "Dichotomous Organization of the External Globus Pallidus." *Neuron* 74 (6): 1075–86. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.04.027>.

Maltais, S., Côté, S., Drolet, G., & Falardeau, P. (2000). Cellular colocalization of dopamine D1 mRNA and D2 receptor in rat brain using a D2 dopamine receptor specific polyclonal antibody. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 24(7), 1127–1149. [https://doi.org/10.1016/S0278-5846\(00\)00125-1](https://doi.org/10.1016/S0278-5846(00)00125-1)

Marchand, J. E., and N. Hagino. 1983. "Afferents to the Periaqueductal Gray in the Rat. A Horseradish Peroxidase Study." *Neuroscience* 9 (1): 95–106. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(83\)90049-0](https://doi.org/10.1016/0306-4522(83)90049-0).

Martinez-gonzalez, Cristina, J Paul Bolam, and Juan Mena-segovia. 2011. "Topographical organization of the pedunculo-pontine nucleus" 5 (April): 1–10. <https://doi.org/10.3389/fnana.2011.00022>.

Martinez-Martin P, Rodriguez-Blazquez C, Kurtis MM, Chaudhuri KR, NMSS Validation Group. The impact of non-motor symptoms on health-related quality of life of patients with Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2011 Feb 15;26(3):399–406. <https://doi.org/10.1002/mds.23462>

Marques, A., Attal, N., Bouhassira, D., Moisset, X., Cantagrel, N., Rascol, O., ... Brefel-Courbon, C. (2019). How to diagnose parkinsonian central pain? *Parkinsonism and Related Disorders*, (December 2018), 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2019.04.025>

Matsumoto, N., Bester, H., Menendez, L., Besson, J. M., & Bernard, J. F. (1996). Changes in the responsiveness of parabrachial neurons in the arthritic rat: An electrophysiological study. *Journal of Neurophysiology*, 76(6), 4113–4126. <https://doi.org/10.1152/jn.1996.76.6.4113>

May, P. J., & Hall, W. C. (1984). Relationships between the nigrotectal pathway and the cells of origin of the predorsal bundle. *Journal of Comparative Neurology*, 226(3), 357–376. <https://doi.org/10.1002/cne.902260306>

McHaffie, J. G., Stanford, T. R., Stein, B. E., Coizet, V., & Redgrave, P. (2005). Subcortical loops through the basal ganglia. *Trends in Neurosciences*, 28(8), 401–407. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2005.06.006>

Mena-Segovia, J., Bolam, J. P., & Magill, P. J. (2004). Pedunculopontine nucleus and basal ganglia: Distant relatives or part of the same family? *Trends in Neurosciences*, 27(10), 585–588. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.07.009>

Meshulam, R. I., Moberg, P. J., Mahr, R. N., & Doty, R. L. (2014). Olfaction in Neurodegenerative Disease, 55, 84–90.

Metta, V., Rizos, A., & Chaudhuri, K. R. (2010). Non-motor symptoms and Parkinson's disease. *Advances in Clinical Neuroscience and Rehabilitation*, 10(1), 19–21.

Millan M.J., Descending control of pain, *Prog. Neurobiol.* 66 (2002) 355–474, [http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0082\(02\)00009-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0082(02)00009-6).

Millan MJ. 2002. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 66:355–474.

Mink, Jonathan W. 1996. "The Basal Ganglia: Focused Selection and Inhibition of Competing Motor Programs." *Progress in Neurobiology* 50 (4): 381–425. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(96\)00042-1](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(96)00042-1).

Missig, G., Roman, C. W., Vizzard, M. A., Braas, K. M., Hammack, S. E., & May, V. (2014). Parabrachial nucleus (PBn) pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) signaling in the amygdala: Implication for the sensory and behavioral effects of pain. *Neuropharmacology*, 86, 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.06.022>

Mylius, V., Brebbermann, J., Dohmann, H., Engau, I., Oertel, W. H., & Möller, J. C. (2011). Pain sensitivity and clinical progression in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 26(12), 2220–2225. <https://doi.org/10.1002/mds.23825>

Mylius, Veit, Juliane Brebbermann, Helena Dohmann, Isabel Engau, Wolfgang H. Oertel, and Jens C. Möller. 2011. "Pain Sensitivity and Clinical Progression in Parkinson's Disease." *Movement Disorders* 26 (12): 2220–25. <https://doi.org/10.1002/mds.23825>.

Mylius, Veit. 2019. "Exercise in Parkinson's Disease: Experimental-induced Pain Sensitivity Is Reduced Already after Short Term Training." *European Journal of Pain*, no. May: ejp.1468. <https://doi.org/10.1002/ejp.1468>.

- N -

Nakanishi, H., Kita, H., & Kitai, S. T. (1987). Electrical membrane properties of rat subthalamic neurons in an in vitro slice preparation. *Brain Research*, 437(1), 35–44. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(87\)91524-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(87)91524-1)

Nambu, Atsushi, Hironobu Tokuno, and Masahiko Takada. 2002. "Functional Significance of the Cortico-Subthalamo-Pallidal 'hyperdirect' Pathway." *Neuroscience Research* 43 (2): 111–17. [https://doi.org/10.1016/S0168-0102\(02\)00027-5](https://doi.org/10.1016/S0168-0102(02)00027-5).

Nègre-Pagès, Laurence, Wafa Regragui, Didier Bouhassira, Hélène Grandjean, and Olivier Rascol. 2008. "Chronic Pain in Parkinson's Disease: The Cross-Sectional French DoPaMiP Survey." *Movement Disorders* 23 (10): 1361–69. <https://doi.org/10.1002/mds.22142>.

Neugebauer, V., Li, W., Bird, G. C., & Han, J. S. (2004). The amygdala and persistent pain. *Neuroscientist*, 10(3), 221–234. <https://doi.org/10.1177/1073858403261077>

Neugebauer, V., Li, W., Bird, G. C., Bhave, G., & Gereau IV, R. W. (2003). Synaptic plasticity in the amygdala in a model of arthritic pain: Differential roles of metabotropic glutamate receptors 1 and 5. *Journal of Neuroscience*, 23(1), 52–63.

Nguy, V., Barry, B. K., Moloney, N., Hassett, L. M., Canning, C. G., Lewis, S. J. G., & Allen, N. E. (2019). Exercise-induced hypoalgesia is present in people with Parkinson's disease: Two observational cross-sectional studies. *European Journal of Pain (United Kingdom)*, (March), 1329–1339. <https://doi.org/10.1002/ejp.1400>

Nguy, Vanessa, Benjamin K. Barry, Niamh Moloney, Leanne M. Hassett, Colleen G. Canning, Simon J.G. Lewis, and Natalie E. Allen. 2019. "Exercise-Induced Hypoalgesia Is Present in People with Parkinson's Disease: Two Observational Cross-Sectional Studies." *European Journal of Pain (United Kingdom)*, no. March: 1329–39. <https://doi.org/10.1002/ejp.1400>.

Nisbet, A. P., Eve, D. J., Kingsbury, A. E., Daniel, S. E., Marsden, C. D., Lees, A. J., & Foster, O. J. F. (1996). Glutamate decarboxylase-67 messenger RNA expression in normal human basal ganglia and in Parkinson's disease. *Neuroscience*, 75(2), 389–406. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(96\)00299-0](https://doi.org/10.1016/0306-4522(96)00299-0)

Nolano, Maria, Vincenzo Provitiera, Anna Estraneo, Mona M. Selim, Giuseppe Caporaso, Annamaria Stancanelli, Anna Maria Saltalamacchia, Bernardo Lanzillo, and Lucio Santoro. 2008. "Sensory Deficit in Parkinson's Disease: Evidence of a Cutaneous Denervation." *Brain* 131 (7): 1903–11. <https://doi.org/10.1093/brain/awn102>.

Nolano, Maria, Vincenzo Provitiera, Fiore Manganelli, Rosa Iodice, Annamaria Stancanelli, Giuseppe Caporaso, Annamaria Saltalamacchia, et al. 2017. "Loss of Cutaneous Large and Small Fibers in Naive and L-Dopa-Treated PD Patients." *Neurology* 89 (8): 776–84. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004274>.

Norgren, R. (1974). Gustatory afferents to ventral forebrain. *Brain Research*, 81(2), 285–295. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(74\)90942-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(74)90942-1)

Norgren, R. (1976). Taste pathways to hypothalamus and amygdala. *Journal of Comparative Neurology*, 166(1), 17–30. <https://doi.org/10.1002/cne.901660103>

Norgren, R., & Leonard, C. M. (1973). Ascending central gustatory pathways. *Journal of Comparative Neurology*, 150(2), 217–237. <https://doi.org/10.1002/cne.901500208>

Noyce, A. J., Bestwick, J. P., Silveira-Moriyama, L., Hawkes, C. H., Giovannoni, G., Lees, A. J., & Schrag, A. (2012). Meta-analysis of early nonmotor features and risk factors for Parkinson disease. *Annals of Neurology*, 72(6), 893–901. <https://doi.org/10.1002/ana.23687>

Nutt, John G., and Julie H. Carter. 1984. "Sensory Symptoms in Parkinsonism Related To Central Dopaminergic Function." *The Lancet* 324 (8400): 456–57. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(84\)92924-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(84)92924-6).

- O -

Oertel, W. H., and E. Mugnaini. 1984. "Immunocytochemical Studies of GABAergic Neurons in Rat Basal Ganglia and Their Relations to Other Neuronal Systems." *Neuroscience Letters*. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(84\)90519-6](https://doi.org/10.1016/0304-3940(84)90519-6).

Okada, S., Katagiri, A., Saito, H., Lee, J., Ohara, K., Iinuma, T., & Iwata, K. (2019). Functional involvement of nucleus tractus solitarius neurons projecting to the parabrachial nucleus in trigeminal neuropathic pain. *Journal of Oral Science*, in press(2), 370–378.

Olmos, Jose S. De, and Lennart Heimer. 1999. The Concepts of the Ventral Striatopallidal System and Extended Amygdala. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Vol. 877. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb09258.x>.

Oorschot DE (1996) Total number of neurons in the neostriatal, pallidal, subthalamic, and substantia nigral nuclei of the rat basal ganglia: a stereological study using the cavalieri and optical dissector methods. *J Comp Neurol* 366:580–599.

- P -

Paisan-Ruiz, C., Jain, S., Evans, E. W., Gilks, W. P., Simon, J., van der Brug, M., et al. (2004). Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson's disease. *Neuron*, 44, 595–600.

Palmiter, R. D. (2018). The Parabrachial Nucleus: CGRP Neurons Function as a General Alarm. *Trends in Neurosciences*, 41(5), 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.03.007>

Papadimitriou, A., Veletza, V., Hadjigeorgiou, G. M., Patrikiou, A., Hirano, M., & Anastasopoulos, I. (1999). Mutated alpha-synuclein gene in two Greek kindreds with familial PD: Incomplete penetrance? *Neurology*, 52, 651–654.

Parent, A. (1986) *Comparative Neurobiology of the Basal Ganglia*. John Wiley & Sons, Inc.

Parent, Andre, and Lili-Naz Hazrati. 1995. "The Cortico-Basal Ganglia-Thalamo-Corticalloop." *Abstract Brain Research Reviews*. Vol. 20.

Parent, André. 1990. "Extrinsic Connections of the Basal Ganglia." *Trends in Neurosciences* 13 (7): 254–58. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90105-J](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90105-J).

Parent, Martin, Martin Lvesque, and Andr Parent. 2001. "Two Types of Projection Neurons in the Internal Pallidum of Primates: Single-Axon Tracing and Three-Dimensional Reconstruction." *Journal of Comparative Neurology* 439 (2): 162–75. <https://doi.org/10.1002/cne.1340>.

Parkinson, J. (2002) 'An Essay on the Shaking Palsy (Originally published in 1817)', *Journal of Neuropsychiatry*, 14(2), pp. 223–236. doi: 10.1176/appi.neuropsych.14.2.223.

Pautrat, Arnaud, Marta Rolland, Margaux Barthelemy, Christelle Baunez, Valérie Sinniger, Brigitte Piallat, Marc Savasta, Paul G. Overton, Olivier David, and Veronique Coizet. (2018). "Revealing a Novel Nociceptive Network That Links the Subthalamic Nucleus to Pain Processing." *eLife*. Vol. 7. <https://doi.org/10.7554/eLife.36607>.

Pay, S., & Barasi, S. (1982). A Study of the Connections of Nociceptive Substantia Nigra Neurons. *Pain*, 12(1), 75–89. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(82\)90171-3](https://doi.org/10.1016/0304-3959(82)90171-3)

Pellaprat, Jean, Fabienne Ory-Magne, Cindy Canivet, Marion Simonetta-Moreau, Jean Albert Lotterie, Fatai Radji, Christophe Arbus, Angélique Gerdelat, Patrick Chaynes, and Christine Brefel-Courbon. 2014. "Deep Brain Stimulation of the Subthalamic Nucleus Improves Pain in Parkinson's Disease." *Parkinsonism and Related Disorders* 20 (6): 662–64. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2014.03.011>.

Percheron, G., Yelnik, J., & François, C. (1984). A Golgi analysis of the primate globus pallidus. III. Spatial organization of the striato-pallidal complex. *Journal of Comparative Neurology*, 227(2), 214–227. <https://doi.org/10.1002/cne.902270207>

Percheron, Gérard, Jérôme Yelnik, and Chantal François. 1984. "A Golgi Analysis of the Primate Globus Pallidus. III. Spatial Organization of the Striato-pallidal Complex." *Journal of Comparative Neurology* 227 (2): 214–27. <https://doi.org/10.1002/cne.902270207>.

Perrotta, G. et al. (2010) 'Facilitated temporal summation of pain at spinal level in Parkinson's disease', *Movement Disorders*, 26(3), pp. 442–448. doi: 10.1002/mds.23458.

Annals of Neurology 69(5):793–802.</p>
</div>
<div data-bbox="113 270 884 321" data-label="Text">
<p>Plenz, Dietmar, and Stephen T. Kital. 1999. "A Basal Ganglia Pacemaker Formed by the Subthalamic Nucleus and External Globus Pallidus." *Nature* 400 (6745): 677–82. <https://doi.org/10.1038/23281>.</p>
</div>
<div data-bbox="113 328 884 379" data-label="Text">
<p>Politis, M., Wu, K., Molloy, S., Bain, P. G., Chaudhuri, K. R., & Piccini, P. (2010). Parkinson's disease symptoms: The patient's perspective. *Movement Disorders*, 25(11), 1646–1651. <https://doi.org/10.1002/mds.23135></p>
</div>
<div data-bbox="113 387 884 438" data-label="Text">
<p>Polymeropoulos, M. H., Lavedan, C., Leroy, E., Ide, S. E., Dehejia, A., Dutra, A., ... Nussbaum, R. L. (1997). Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science*, 276(5321), 2045–2047. <https://doi.org/10.1126/science.276.5321.2045></p>
</div>
<div data-bbox="113 445 884 512" data-label="Text">
<p>Postuma, R. B., Berg, D., Stern, M., Poewe, W., Olanow, C. W., Oertel, W., ... Deuschl, G. (2015). MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement Disorders : Official Journal of the Movement Disorder Society*, 30(12), 1591–1601. <https://doi.org/10.1002/mds.26424></p>
</div>
<div data-bbox="113 519 884 569" data-label="Text">
<p>Prätorius, B., Kimmeskamp, S. and Milani, T. L. (2003) 'The sensitivity of the sole of the foot in patients with Morbus Parkinson', *Neuroscience Letters*, 346(3), pp. 173–176. doi: 10.1016/S0304-3940(03)00582-2.</p>
</div>
<div data-bbox="475 577 520 594" data-label="Section-Header">
<p>- Q -</p>
</div>
<div data-bbox="113 602 884 653" data-label="Text">
<p>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></p>
</div>
<div data-bbox="113 660 884 695" data-label="Text">
<p>Quinn, N. P., A. E. Lang, W. C. Koller, and C. D. Marsden. 1986. "Painful Parkinson'S Disease." *The Lancet* 327 (8494): 1366–69. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(86\)91674-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(86)91674-0).</p>
</div>
<div data-bbox="475 703 520 719" data-label="Section-Header">
<p>- R -</p>
</div>
<div data-bbox="113 728 884 779" data-label="Text">
<p>Rafols, J. A., & Fox, C. A. (1976). The neurons in the primate subthalamic nucleus: A Golgi and electron microscopic study. *Journal of Comparative Neurology*, 168(1), 75–111. <https://doi.org/10.1002/cne.901680105></p>
</div>
<div data-bbox="113 786 884 821" data-label="Text">
<p>Ramón y Cajal, S., 1911. *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados*, 3 vols. Gobierno de Aragón, Zaragoza.</p>
</div>
<div data-bbox="113 828 884 879" data-label="Text">
<p>Redgrave, P., & Coizet, V. (2007). Brainstem interactions with the basal ganglia. *Parkinsonism and Related Disorders*, 13(SUPPL. 3), 301–305. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(08\)70020-8](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(08)70020-8)</p>
</div>
<div data-bbox="790 937 882 956" data-label="Page-Footer">
<p>Page | 184</p>
</div>

- Redgrave, P., T. J. Prescott, and K. Gurney. 1999. "The Basal Ganglia: A Vertebrate Solution to the Selection Problem?" *Neuroscience* 89 (4): 1009–23. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00319-4](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00319-4).
- Reichling, D. B., & Levine, J. D. (2011). Pain and death: Neurodegenerative disease mechanisms in the nociceptor. *Annals of Neurology*, 69(1), 13–21. <https://doi.org/10.1002/ana.22351>
- Reijnders, J. S. A. M., Ehrt, U., Weber, W. E. J., Aarsland, D., & Leentjens, A. F. G. (2008). A systematic review of prevalence studies of depression in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 23(2), 183–189. <https://doi.org/10.1002/mds.21803>
- Reilly, S., & Trifunovic, R. (2000). Lateral parabrachial nucleus lesions in the rat: Long- and short- duration gustatory preference tests. *Brain Research Bulletin*, 51(2), 177–186. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(99\)00218-X](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(99)00218-X)
- Reilly, S., & Trifunovic, R. (2001). Lateral parabrachial nucleus lesions in the rat: Neophobia and conditioned taste aversion. *Brain Research Bulletin*, 55(3), 359–366. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00517-2](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00517-2)
- Reiner, A. (2010). Handbook of basal ganglia structure and function. Handbook of basal ganglia structure and function. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374767-9.00002-0>
- 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*, 128(6), 1314–1322. <https://doi.org/10.1093/brain/awh445>
- Ribak, C. E., J. E. Vaughn, and E. Roberts. 1979. "The GABA Neurons and Their Axon Terminals in Rat Corpus Striatum as Demonstrated by GAD Immunocytochemistry." *Journal of Comparative Neurology* 187 (2): 261–83. <https://doi.org/10.1002/cne.901870203>.
- Ribak, C. E., Vaughn, J. E., & Roberts, E. (1979). The GABA Neurons and their axon terminals in rat corpus striatum as demonstrated by GAD immunocytochemistry. *Journal of Comparative Neurology*, 187(2), 261–283. <https://doi.org/10.1002/cne.901870203>
- Richfield, Eric K., Anne B. Young, and John B. Penney. 1987. "Comparative Distribution of Dopamine D-1 and D-2 Receptors in the Basal Ganglia of Turtles, Pigeons, Rats, Cats, and Monkeys." *Journal of Comparative Neurology* 262 (3): 446–63. <https://doi.org/10.1002/cne.902620308>.
- Roberta G., Fénelonb G., (2013). La maladie de Parkinson. Troubles psychiques et comportementaux et leurs traitements (Chap. 10). <https://doi.org/10.1016/j.sasoi.2013.04.004>.
- Rolland, M., Carcenac, C., Overton, P. G., Savasta, M., & Coizet, V. (2013). Enhanced visual responses in the superior colliculus and subthalamic nucleus in an animal model of Parkinson's disease. *Neuroscience*, 252, 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.07.047>
- Romanski, L. M., Clugnet, M. C., Bordi, F., & LeDoux, J. E. (1993). Somatosensory and Auditory Convergence in the Lateral Nucleus of the Amygdala. *Behavioral Neuroscience*, 107(3), 444–450. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.107.3.444>
- Rommelfanger, K. S., & Wichmann, T. (2010). Extrastriatal dopaminergic circuits of the basal ganglia. *Frontiers in Neuroanatomy*, 4(OCT), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fnana.2010.00139>
- Rouzaire-Dubois, B., & Scarnati, E. (1985). Bilateral corticosubthalamic nucleus projections: An electrophysiological study in rats with chronic cerebral lesions. *Neuroscience*, 15(1), 69–79. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(85\)90124-1](https://doi.org/10.1016/0306-4522(85)90124-1)

- S -

- Saadé, N. E., Atweh, S. F., Bahuth, N. B., & Jabbur, S. J. (1997). Augmentation of nociceptive reflexes and chronic deafferentation pain by chemical lesions of either dopaminergic terminals or midbrain dopaminergic neurons. *Brain Research*, 751(1), 1–12. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(96\)01164-X](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(96)01164-X)
- Saper, C. B. (1982). Reciprocal parabrachial-cortical connections in the rat. *Brain Research*, 242(1), 33–40. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(82\)90493-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(82)90493-0)
- Saper, C. B. (1995). The spinoparabrachial pathway: Shedding new light on an old path. *Journal of Comparative Neurology*, 353(4), 477–479. <https://doi.org/10.1002/cne.903530402>
- Saper, C. B. (2016). The House Alarm. *Cell Metabolism*, 23(5), 754–755. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.021>
- Sato, F., Parent, M., Levesque, M., & Parent, A. (2000). Axonal branching pattern of neurons of the subthalamic nucleus in primates. *Journal of Comparative Neurology*, 424(1), 142–152. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20000814\)424:1<142::AID-CNE10>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20000814)424:1<142::AID-CNE10>3.0.CO;2-8)
- Sauleau, P., Leray, E., Rouaud, T., Drapier, S., Drapier, D., Blanchard, S., ... Vérin, M. (2009). Comparison of weight gain and energy intake after subthalamic versus pallidal stimulation in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 24(14), 2149–2155. <https://doi.org/10.1002/mds.22765>
- Schenck, C. H., Boeve, B. F., & Mahowald, M. W. (2013). Delayed emergence of a parkinsonian disorder or dementia in 81% of older men initially diagnosed with idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder: A 16-year update on a previously reported series. *Sleep Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2012.10.009>
- Schestatsky, P, H Kumru, J Valls-Solé, F Vallderiola, M J Marti, E Tolosa, and M L Chaves. 2007. "Neurophysiologic Study of Central Pain in Patients with Parkinson Disease." 69 (23): 2162–69. www.britishpainsociety.org.
- Schneider, J. S. 1986. "Interactions between the Basal Ganglia, the Pontine Parabrachial Region, and the Trigeminal System in Cat." *Neuroscience* 19 (2). [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(86\)90271-X](https://doi.org/10.1016/0306-4522(86)90271-X).
- Schneider, J. S., Diamond, S. G., & Markham, C. H. (1986). Deficits in orofacial sensorimotor function in Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 19(3), 275–282. <https://doi.org/10.1002/ana.410190309>
- Sensi, M., Eleopra, R., Cavallo, M. A., Sette, E., Milani, P., Quatrone, R., ... Data, P. G. (2004). Explosive-aggressive behavior related to bilateral subthalamic stimulation. *Parkinsonism and Related Disorders*, 10(4), 247–251. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2004.01.007>
- Shink, E., Bevan, M.D., Bolam, J.P. & Smith, Y. (1996) The subthalamic nucleus and the external pallidum: two tightly interconnected structures that control the output of the basal ganglia in the monkey. *Neuroscience*, 73, 335-357.
- Sidibé, Mamadou, Mark D. Bevan, J. Paul Bolam, and Yolanda Smith. 1997. "Efferent Connections of the Internal Globus Pallidus in the Squirrel Monkey: I. Topography and Synaptic Organization of the Pallidothalamic Projection." *Journal of Comparative Neurology* 382 (3): 323–47. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19970609\)382:3<323::AID-CNE3>3.3.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19970609)382:3<323::AID-CNE3>3.3.CO;2-6).

Simuni, T., & Fernandez, H. H. (2013). Parkinson's disease and nonmotor dysfunction: Second edition. *Parkinson's Disease and Nonmotor Dysfunction: Second Edition*, 1–420. <https://doi.org/10.1007/978-1-60761-429-6>

Singh, A., Althoff, R., Martineau, R. J., & Jacobson, J. (2005). Pramipexole, ropinirole, and mania in Parkinson's disease [9]. *American Journal of Psychiatry*, 162(4), 814–815.

Singleton, A. B., Farrer, M., Johnson, J., Singleton, A., Hague, S., Kachergus, J., ... Gwinn-Hardy, K. (2003). α -Synuclein Locus Triplication Causes Parkinson's Disease. *Science*, 302(5646), 841. <https://doi.org/10.1126/science.1090278>

Skogar, O. (2016) 'Pain management in patients with Parkinson ' s disease : challenges and solutions', pp. 469–479.

Smith, Y., & Bolam, J. P. (1990). The output neurones and the dopaminergic neurones of the substantia nigra receive a GABA-Containing input from the globus pallidus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*. <https://doi.org/10.1002/cne.902960105>

Smith, Y., & Parent, A. (1988). Neurons of the subthalamic nucleus in primates display glutamate but not GABA immunoreactivity. *Brain Research*, 453(1–2), 353–356. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)90177-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)90177-1)

Smith, Y., Bolam, J. P., & von Krosigk, M. (1990). Topographical and Synaptic Organization of the GABA-Containing Pallidosubthalamic Projection in the Rat. *European Journal of Neuroscience*, 2(6), 500–511. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1990.tb00441.x>

Smith, Y., P. Séguéla, and A. Parent. 1987. "Distribution of Gaba-Immunoreactive Neurons in the Thalamus of the Squirrel Monkey (*Saimiri Sciureus*)." *Neuroscience* 22 (2): 579–91. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(87\)90355-1](https://doi.org/10.1016/0306-4522(87)90355-1).

Snider, Stuart R., Stanley Fahn, William P. Isgreen, and Lucien J. Cote. 1976. "Primary Sensory Symptoms in Parkinsonism." *Neurology* 26 (5): 423–29.

Spann, Bryan M., and Irena Grofova. 1991. "Nigropedunculopontine Projection in the Rat: An Anterograde Tracing Study with Phaseolus Vulgaris-leucoagglutinin (PHA-L)." *Journal of Comparative Neurology* 311 (3): 375–88. <https://doi.org/10.1002/cne.903110308>.

Spike, R. C., Puskár, Z., Andrew, D., & Todd, A. J. (2003). A quantitative and morphological study of projection neurons in lamina I of the rat lumbar spinal cord. *European Journal of Neuroscience*, 18(9), 2433–2448. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02981.x>

Sürücü, Oguzkan, Heide Baumann-Vogel, Mechtild Uhl, Lukas L. Imbach, and Christian R. Baumann. 2013. "Subthalamic Deep Brain Stimulation versus Best Medical Therapy for L-Dopa Responsive Pain in Parkinson's Disease." *Pain*. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.03.008>.

- T -

Takada, M., Li, Z. K., & Hattori, T. (1987). A note on the projections of pars compacta neurons within pars reticulata of the substantia nigra in the rat. *Brain Research Bulletin*, 18(3), 285–290. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(87\)90004-9](https://doi.org/10.1016/0361-9230(87)90004-9)

Takeda, R., Ikeda, T., Tsuda, F., Abe, H., Hashiguchi, H., Ishida, Y., & Nishimori, T. (2005). Unilateral lesions of mesostriatal dopaminergic pathway alters the withdrawal response of the rat hindpaw to mechanical stimulation. *Neuroscience Research*, 52(1), 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2005.01.005>

Tanner, C. M., Kame, F., Ross, G. W., Hoppin, J. A., Goldman, S. M., Korell, M., ... Langston, J. W. (2011). Rotenone, paraquat, and Parkinson's disease. *Environmental Health Perspectives*, 119(6), 866–872. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002839>

Taylor, K. S. M., Cook, J. A. and Counsell, C. E. (2007) 'Heterogeneity in male to female risk for Parkinson's disease [1]', *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 78(8), pp. 905–906. doi: 10.1136/jnnp.2006.104695.

Tepper, M., Sawyer, F., & Groves, M. (1987). Electrophysiologically identified nigral dopaminergic neurons intracellularly labeled with HRP light-microscopic analysis. *The Journal of Neuroscience*, September 1987, 7(9): 2794-2808

Terao, Y., Fukuda, H., Yugeta, A., Hikosaka, O., Nomura, Y., Segawa, M., Hanajima, R., Tsuji, S. and Ugawa, Y. (2011). Initiation and inhibitory control of saccades with the progression of Parkinson's disease - changes in three major drives converging on the superior colliculus. *Neuropsychologia*, 49(7), 1794-1806.

Tinazzi, M., Del Vesco, C., Defazio, G., Fincati, E., Smania, N., Moretto, G., ... Valeriani, M. (2008). Abnormal processing of the nociceptive input in Parkinson's disease: A study with CO2 laser evoked potentials. *Pain*. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2007.06.022>

Titova, N., Qamar, M. A. and Chaudhuri, K. R. (2017) *The Nonmotor Features of Parkinson's Disease*. 1st edn, *International Review of Neurobiology*. 1st edn. Elsevier Inc. doi: 10.1016/bs.irn.2017.02.016.

Todd, A. J. (2010). Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(12), 823–836. <https://doi.org/10.1038/nrn2947>

Tokuno, H., Takada, M., Ikai, Y., & Mizuno, N. (1994). Direct projections from the deep layers of the superior colliculus to the subthalamic nucleus in the rat. *Brain Research*, 639(1), 156–160. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91776-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91776-0)

Tokuno, H., Y. Nakamura, M. Kudo, and Y. Kitao. 1990. "Laminar Organization of the Substantia Nigra Pars Reticulata in the Cat." *Neuroscience* 38 (1): 255–70. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(90\)90390-P](https://doi.org/10.1016/0306-4522(90)90390-P).

Tolosa, E., Compta, Y., & Gaig, C. (2007). The premotor phase of Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*, 13(SUPPL. SEPT.), 2–7. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2007.06.007>

- U -

Ungless, M. A., Magill, P. J., & Bolam, J. P. (2004). Uniform Inhibition of Dopamine Neurons in the Ventral Tegmental Area by Aversive Stimuli. *Science*, 303(5666), 2040–2042. <https://doi.org/10.1126/science.1093360>

- V -

Van Der Kooy and Carter, 1981 - The organization of the efferent projections and striatal afferents of the entopeduncular nucleus. *Brain Res* 211:15-36.

Van Der Kooy, D., & Hattori, T. (1980). Single subthalamic nucleus neurons project to both the globus pallidus and substantia nigra in rat. *Journal of Comparative Neurology*, 192(4), 751–768. <https://doi.org/10.1002/cne.901920409>

Van Der Kooy, D., Hattori, T., Shannak, K., & Hornykiewicz, O. (1981). The pallido-subthalamic projection in rat: Anatomical and biochemical studies. *Brain Research*, 204(2), 253–268. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)90587-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)90587-4)

Van der Perren A, Van den Haute C, Baekelandt V. Viral vector-based models of Parkinson's disease. *Curr Top Behav Neurosci*. 2015;22:271–301. https://doi.org/10.1007/7854_2014_310

Veening, J G, and F M Cornelissen. 1980. "The Topical Organization of the Afferents to the Caudatoputamen of the Rat. A Horseradish Peroxidase Study 10.1016/0306-4522(80)90198-0 : Neuroscience | ScienceDirect.Com." *Neuroscience* 5 (1)..

Veening, J. G., Cornelissen, F. M., & Lieven, P. A. J. M. (1980). The topical organization of the afferents to the caudatoputamen of the rat. A horseradish peroxidase study. *Neuroscience*, 5(7), 1253–1268. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(80\)90198-0](https://doi.org/10.1016/0306-4522(80)90198-0)

Verstraeten, A., Theuns, J., & Van Broeckhoven, C. (2015). Progress in unraveling the genetic etiology of Parkinson disease in a genomic era. *Trends in Genetics*, 31(3), 140–149. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2015.01.004>

Vertes, R. P. (1991). A PHA-L analysis of ascending projections of the dorsal raphe nucleus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 313(4), 643–668. <https://doi.org/10.1002/cne.903130409>

Vincent, S. R. (1988), Distributions of tyrosine hydroxylase-, dopamine- β -hydroxylase-, and phenylethanolamine-N-methyltransferase-immunoreactive neurons in the brain of the hamster (*Mesocricetus auratus*). *J. Comp. Neurol.*, 268: 584-599. doi:[10.1002/cne.902680408](https://doi.org/10.1002/cne.902680408)

Voorn, P., B. Jorritsma-Byham, C. Van Dijk, and R. M. Buijs. 1986. "The Dopaminergic Innervation of the Ventral Striatum in the Rat: A Light- and Electron-microscopical Study with Antibodies against Dopamine." *Journal of Comparative Neurology* 251 (1): 84–99. <https://doi.org/10.1002/cne.902510106>.

- W -

Wasner, G. and Deuschl, G. (2012) 'Pains in Parkinson disease-many syndromes under one umbrella', *Nature Reviews Neurology*. Nature Publishing Group, 8(5), pp. 284–294. doi: 10.1038/nrneurol.2012.54.

Watson, G. P. & C. (2007). Contents Index of Structures Index of Abbreviations Coronal Sections Sagittal Sections Horizontal Sections Spinal Cord Plates Reproduction of Atlas Figures Abbreviation List Maker.

Weiss, M. S., Victor, J. D., & Di Lorenzo, P. M. (2014). Taste coding in the parabrachial nucleus of the pons in awake, freely licking rats and comparison with the nucleus of the solitary tract. *Journal of Neurophysiology*, 111(8), 1655–1670. <https://doi.org/10.1152/jn.00643.2013>

Whittier, J. R., & Mettler, F. A. (1949). Studies on the subthalamus of the rhesus monkey. II. Hyperkinesia and other physiologic effects of subthalamic lesions, with special reference to the subthalamic nucleus of Luys. *Journal of Comparative Neurology*. <https://doi.org/10.1002/cne.900900304>

Wichmann, T., & Dostrovsky, J. O. (2011). Pathological basal ganglia activity in movement disorders. *Neuroscience*, 198, 232–244. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.06.048>

Wickremaratchi, M., Robertson, N., Knipe, M., Butler, C., Ebenezer, L., ... Weiser, R., Morris, H. (2011). The Motor Phenotype of Parkinson's Disease in Relation to Age at Onset. *Movement Disorders*, 26(3), 457–463. <https://doi.org/10.1002/23469>

Willis Jr., W., & Coggeshall, R. E. (2004). *Sensory Mechanisms of the Spinal Cord: Volume 1: Primary Afferent Neurons and the Spinal Dorsal Horn Volume 2: Ascending Sensory Tracts and their Descending Control*.

Willis WD, Coggeshall RE (2004) "Sensory mechanisms of the spinal cord. Primary afferent neurons and the spinal dorsal horn". New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.

Wu, Q., Clark, M. S., & Palmiter, R. D. (2012). Deciphering a neuronal circuit that mediates appetite. *Nature*, 483(7391), 594–597. <https://doi.org/10.1038/nature10899>

Wurtz RH, Albano JE. (1980). Visual-motor function of the primate superior colliculus. *Annu Rev Neurosci* 3:189–226.

- Y -

Yasui, Y., Nakano, K., I, T. K., & Mizuno, N. (1991). Non-dopaminergic projections from the substantia nigra pars lateralis to the inferior colliculus in the rat., 559, 139–144.

Yasui, Y., Saper, C. B., & Cechetto, D. F. (1989). Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the visceral sensory cortex, thalamus, and related pathways in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 290(4), 487–501. <https://doi.org/10.1002/cne.902900404>

Yelnik, J. 2008. "Modeling the Organization of the Basal Ganglia." *Revue Neurologique* 164 (12): 969–76. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2008.04.019>.

Yelnik, J., & Percheron, G. (1979). Subthalamic neurons in primates: A quantitative and comparative analysis. *Neuroscience*, 4(11). [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(79\)90030-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(79)90030-7)

Yelnik, Jérôme, Chantal Francis, Gérard Percheron, and Dominique Tandéa. 1991. "Morphological Taxonomy of the Neurons of the Primate Striatum." *Journal of Comparative Neurology* 313 (2): 273–94. <https://doi.org/10.1002/cne.903130207>.

Yelnik, Jerome, Chantal François, Gerard Percheron, and Simone Heyner. 1987. "Golgi Study of the Primate Substantia Nigra. I. Quantitative Morphology and Typology of Nigral Neurons." *Journal of Comparative Neurology* 265 (4): 455–72. <https://doi.org/10.1002/cne.902650402>.

Yoshida, A., Chen, K., Moritani, M., Yabuta, N. H., Nagase, Y., Takemura, M., & Shigenaga, Y. (1997). Organization of the descending projections from the parabrachial nucleus to the trigeminal sensory nuclear complex and spinal dorsal horn in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 383(1), 94–111. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19970623\)383:1<94::AID-CNE8>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19970623)383:1<94::AID-CNE8>3.0.CO;2-G)

- Z -

Zagnoli, F. and Rouhart, F. (2006). *Maladie de Parkinson*. Doin.

Zambito Marsala, Sandro, Michele Tinazzi, Roberta Vitaliani, Serena Recchia, Federico Fabris, Corrado Marchini, Antonio Fiaschi, et al. 2011. "Spontaneous Pain, Pain Threshold, and Pain Tolerance in Parkinson's Disease." *Journal of Neurology* 258 (4): 627–33. <https://doi.org/10.1007/s00415-010-5812-0>.

Zambito-Marsala, S., Erro, R., Bacchin, R., Fornasier, A., Fabris, F., Lo Cascio, C., ... Tinazzi, M. (2017). Abnormal nociceptive processing occurs centrally and not peripherally in pain-free Parkinson disease patients: A study with laser-evoked potentials. *Parkinsonism and Related Disorders*, 34, 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2016.10.019>

- Zhang, E. T., Han, Z. S., & Craig, A. D. (1996). Morphological classes of spinothalamic lamina I neurons in the cat. *Journal of Comparative Neurology*, 367(4), 537–549. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19960415\)367:4<537::AID-CNE5>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19960415)367:4<537::AID-CNE5>3.0.CO;2-5)
- Zhang, X., Bean, A. J., Wiesenfeld-Hallin, Z., Xu, X. J., & Hökfelt, T. (1995). Ultrastructural studies on peptides in the dorsal horn of the rat spinal cord-III. Effects of peripheral axotomy with special reference to galanin. *Neuroscience*, 64(4), 893–915. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)00452-B](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)00452-B)
- Zimprich, A., Biskup, S., Leitner, P., Lichtner, P., Farrer, M., Lincoln, S., ... Gasser, T. (2004). Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant Parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron*, 44(4), 601–607. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.11.005>

Résumé :

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative caractérisée par la perte progressive des neurones dopaminergiques de la substance noire compacte. Cette dégénérescence engendre de profonds dysfonctionnements au sein d'un réseau cérébral essentiel pour de nombreuses fonctions, les ganglions de la base (GB). Bien que ce réseau soit classiquement associé au contrôle du mouvement, de plus en plus d'études lui prêtent également un rôle dans la nociception. Il est intéressant de constater que les patients Parkinsoniens présentent une symptomatologie douloureuse complexe, améliorée par la stimulation cérébrale profonde du noyau subthalamique (NST), une des régions clé des GB. De ce fait, l'objectif principal de cette thèse a été de préciser le rôle des GB dans la nociception et d'évaluer l'impact d'une dégénérescence dopaminergique sur cette fonction. Pour cela, nous avons, dans une première étude, effectué des enregistrements électrophysiologiques chez le rat, et démontré que les neurones du NST s'activent toniquement et phasiquement à la présentation de stimulations douloureuses. Nous avons ensuite identifié le noyau parabrachial (PBN), comme étant la structure principale relayant l'information nociceptive au NST. Dans une deuxième étude, nous avons recherché d'éventuels dysfonctionnements au sein de ce réseau chez des animaux modèles de la MP. Nous décrivons ainsi une altération du traitement du signal nociceptif avec un fort degré de déplétion dopaminergique, et reportons la présence de phénomènes de compensation neuroplastiques efficaces au sein du PBN avec un degré moyen de déplétion dopaminergique. Ces résultats apportent un nouveau regard sur les douleurs Parkinsoniennes, qui pourraient provenir de phénomènes neuroplastiques pathologiques associés à une activité et un traitement anormal du signal nociceptif par le réseau des GB.

Mots-clefs : Maladie de Parkinson, Nociception, Electrophysiologie, Noyau subthalamique, Noyau Parabrachial

Abstract :

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease characterized by a progressive loss of dopaminergic neurons from the substantia nigra compacta. This degeneration leads to profound dysfunctions in a brain network essential for many functions, called the basal ganglia (BG). Although this network is traditionally associated with movement control, many studies have also attributed it a role in nociception. It is interesting to note that PD patients suffer from a complex painful symptomatology, improved by deep brain stimulation of the subthalamic nucleus (STN), one of the key regions of the BG. Therefore, the main objective of this thesis was to clarify the role of BG in nociception and to evaluate the impact of a dopaminergic degeneration on this function. In this purpose in a first study, we carried out electrophysiological recordings in rats and demonstrated that STN neurons are activated tonically and phasically by noxious stimuli. We then identified the parabrachial nucleus (PBN) as the main structure relaying the nociceptive information to the STN. In a second study, we investigated possible dysfunctions in this network in PD rat models. We thus describe an alteration of nociceptive signal processing in this network with a high degree of dopaminergic depletion, and report the presence of effective neuroplastic compensation mechanisms within PBN neurons with a moderate dopaminergic depletion. These results provide a new perspective on Parkinsonian pain that could result from pathological neuroplastic phenomena associated with abnormal activity and nociceptive signal processing by the BG network.

Keywords : Parkinson's disease, Nociception, Electrophysiology, Subthalamic nucleus, Parabrachial nucleus
