



HAL
open science

Rôle des neurones Arkypallidaux dans les symptômes moteurs de la maladie de Parkinson et des dyskinésies L-DOPA-induites : étude chez un modèle murin

Léa Bonamy

► **To cite this version:**

Léa Bonamy. Rôle des neurones Arkypallidaux dans les symptômes moteurs de la maladie de Parkinson et des dyskinésies L-DOPA-induites : étude chez un modèle murin. Neurosciences. Université de Bordeaux, 2025. Français. <NNT : 2025BORD0159>. <tel-05351622>

HAL Id: tel-05351622

<https://theses.hal.science/tel-05351622v1>

Submitted on 6 Nov 2025

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.



HAL Authorization

THÈSE PRÉSENTÉE POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE : SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

Spécialité : NEUROSCIENCES

Par **Léa BONAMY**

**RÔLE DES NEURONES ARKYPALLIDAUX DANS LES
SYMPTÔMES MOTEURS DE LA MALADIE DE PARKINSON
ET DES DYSKINÉSIES L-DOPA INDUITES : ÉTUDE CHEZ
UN MODÈLE MURIN.**

Sous la direction de : Dr. Jérôme Baufreton

Soutenue le 12 septembre 2025

Membres du Jury :

M. Jérôme BAUFRETON, Directeur de Recherche

Université de Bordeaux, Directeur de
thèse

Mme Daniela POPA, Directrice de Recherche

Institut de biologie de l'Ecole Normale
Supérieure (Paris), **Rapporteuse**

M. Abdel-Mouttalib OUAGAZZAL, Chargé de Recherche

Université Aix-Marseille, **Rapporteur**

Mme Catherine Le Moine, Directrice de Recherche

Université de Bordeaux, **Examinatrice**

Dr. Patricia BONNAVION, Chargée de Recherche

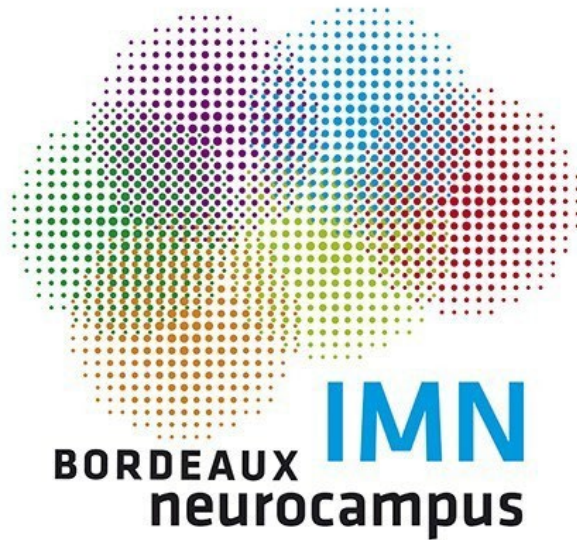
Université Libre de Bruxelles
(BELGIQUE), **Examinatrice**

Membre invité :

Dr. Dominique GUEHL, PU-PH

Université de Bordeaux, Invité

Ce travail de thèse a été réalisé au sein de l'Institut des Maladies Neurodégénératives de Bordeaux (IMN), CNRS UMR 5293, situé au 146 Rue Léo Saignat, Centre Broca Nouvelle-Aquitaine, 3ème étage, Université de Bordeaux, 33000 Bordeaux.



Ce travail de thèse a été en partie financé par La Fondation pour la Recherche Médicale.

SOMMAIRE

RÉSUMÉ	1
ABSTRACT	2
REMERCIEMENTS	3
PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS	7
Liste des abréviations	8
Liste des abréviations – Allen Brain Atlas	11
Liste des figures et tables	13
INTRODUCTION	17
I. Les ganglions de la base	18
1. Description des ganglions de la base	18
2. Le Striatum	19
3. Le Pallidum	24
4. Le Noyau Sous Thalamique	25
5. La Substance Noire	25
6. Fonctionnement physiologique des GB	26
II. La maladie de Parkinson	30
1. Développement de la maladie de Parkinson	30
2. Traitements & effets secondaires	36
3. Fonctionnement des GB en condition pathologique	42
4. Modèles de la MP	46
III. Le Globus Pallidus Externe	50
1. Composition cellulaire	51
2. Connectivité	56
3. Implication dans la MP	64
IV. Les neurones arkypallidaux	70
1. Rôle dans les GB	70
2. Leurs altérations dans la MP	72
HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS	75
MATÉRIELS & MÉTHODES	78
I. Animaux	79
1. Souris transgéniques	79
2. Modèle 6-OHDA de la MP	83
3. Induction des dyskinésies chez les souris modèles de la MP	83
II. Chirurgies	85
1. Injections stéréotaxiques	85

2.	Implantations	88
III.	Electrophysiologie <i>ex-vivo</i>	89
1.	Préparations des tranches	89
2.	Matériels et visualisation	90
3.	Enregistrements électrophysiologiques	91
4.	Traitement post-enregistrement des tranches	94
IV.	Imagerie calcique <i>in vivo</i>	94
V.	Hybridation <i>in situ</i> à fluorescence (FISH)	97
VI.	Descriptions anatomiques	99
1.	Connexions afférentes	99
2.	Connexions efférentes	101
VII.	Procédures histologiques	102
1.	Anatomie	102
2.	Electrophysiologie <i>ex-vivo</i>	103
3.	Imagerie calcique <i>in-vivo</i>	105
4.	Validation du modèle 6-OHDA	106
VIII.	Observations microscopiques	107
IX.	Analyses des données	108
1.	Electrophysiologie <i>ex-vivo</i>	108
2.	Imagerie calcique <i>in-vivo</i>	111
3.	Acquisitions en microscopie confocale	111
4.	Analyses statistiques	112
RÉSULTATS		114
I.	Caractérisation anatomique et fonctionnelle des neurones du GPe	115
1.	Connectivité afférente des neurones du GPe	115
2.	Existence d'une dichotomie fonctionnelle dans le GPe du primate non-humain	119
II.	Rôle des neurones ARKY dans la physiopathologie de la MP	125
1.	Validation des modèles	125
2.	Suivi longitudinal de l'activité des neurones ARKY <i>in vivo</i>	128
3.	Changement d'excitabilité des neurones ARKY	132
4.	Contribution des afférences inhibitrices sur l'activité pathologique des neurones ARKY	151
III.	Caractérisation de la voie arkypallido-striatale	159
1.	Caractérisation de la transmission GPe-STR	159
2.	Caractérisation de la transmission ARKY-STR	163
DISCUSSION		173

I. Les neurones pallidaux présentent des caractéristiques différentes en condition physiologiques	174
1. Les neurones ARKY et PRO présentent des afférences distinctes	174
2. Deux sous-populations fonctionnellement distinctes co-existent dans le GPe.	175
II. Les neurones ARKY sont silencieux chez la souris dyskinétique traitée à la L-DOPA	177
1. La L-DOPA, réduit l'activité intrinsèque des neurones ARKY <i>via</i> l'activation des récepteurs dopaminergiques D2.	179
2. L'hyperactivité de la connexion PRO-ARKY participe au silence des neurones ARKY en condition dyskinétique.	183
III. La voie pallidostriatale est augmentée chez les souris dyskinétique	186
1. Les projections arypallidales ciblent préférentiellement la matrice, sans sélectivité pour les dMSN ou iMSN.	186
2. La transmission synaptique ARKY-STR est augmentée en conditions pathologiques.	188
CONCLUSION	189
BIBLIOGRAPHIE	191

RÉSUMÉ

Le Globus Pallidus externe (GPe) est une structure centrale au sein des ganglions de la base, principalement impliquée dans la transmission de l'information *via* la voie indirecte. Il est constitué principalement de neurones GABAergiques, divisés en deux sous-types : les neurones prototypiques et les neurones arky pallidiaux (ARKY), qui se distinguent par leurs signatures moléculaires et électrophysiologiques. Notre équipe a récemment démontré que l'activation optogénétique des neurones ARKY supprime l'action en cours, ce qui suggère un rôle clé dans le contrôle du mouvement. La maladie de Parkinson (MP), deuxième trouble neurodégénératif le plus fréquent dans le monde, se caractérise par de graves troubles moteurs. Bien que le traitement dopaminergique de substitution à base de L-DOPA soulage initialement les symptômes, son utilisation à long terme entraîne souvent des mouvements involontaires appelés dyskinésies induites par la L-DOPA (DIL). Malgré les nombreuses recherches menées sur la MP et les DIL, le rôle des neurones ARKY dans ces conditions reste encore mal compris. L'objectif de mon doctorat a donc été d'étudier les modifications fonctionnelles des neurones ARKY chez les souris modèles de la MP et des DIL en utilisant des approches multidisciplinaires. Mon travail a révélé que l'activité des neurones ARKY est altérée chez les souris modèles de la MP et des DIL. J'ai démontré que l'excitabilité intrinsèque des neurones ARKY est modifiée dans la MP et le LID et que les projections des neurones ARKY vers le striatum sont augmentées dans les deux conditions physiopathologiques. En outre, j'ai montré que les neurones ARKY sont inhibés par la L-DOPA dans des tranches de cerveau aiguës, ce qui suggère que la L-DOPA exerce ses effets dyskinétiques en partie en agissant dans la GPe.

ABSTRACT

The external Globus Pallidus (GPe) is a central hub within the basal ganglia, mainly involved in relaying information through the indirect pathway. It consists primarily of GABAergic neurons, divided into prototypic and arkypallidal (ARKY) subtypes, distinguished by molecular and electrophysiological signatures. Our team recently showed that optogenetic activation of ARKY neurons suppresses ongoing action, suggesting a key role in movement control. Parkinson's disease (PD), the second most common neurodegenerative disorder worldwide, is characterized by severe motor impairments. While dopamine replacement therapy with L-DOPA initially alleviates symptoms, its long-term use often results in involuntary movements known as L-DOPA-induced dyskinesias (LIDs). Despite extensive research on PD and LIDs, the role of ARKY neurons in these conditions remains poorly understood. Therefore, the objective of my PhD has been to investigate functional modifications of ARKY neurons in mice models of PD and LID using multidisciplinary approaches. My work revealed that ARKY neuron's activity is altered in PD and LID behaving mice. I demonstrated that ARKY intrinsic excitability is modified in PD and LID and that ARKY neurons projections to the striatum are enhanced in both pathophysiological conditions. Furthermore, I showed that ARKY neurons are inhibited by L-DOPA in acute brain slices suggesting that L-DOPA exerts its dyskinetic effects partly by acting in the GPe.

REMERCIEMENTS

Je souhaite tout d'abord remercier chaleureusement les membres de mon jury pour le temps qu'ils et elles ont consacré à la lecture attentive de ce manuscrit, à son évaluation, ainsi que pour leur présence lors de ma soutenance. Je leur suis reconnaissante pour le déplacement qu'ils et elles ont accepté d'effectuer à cette occasion, et pour l'intérêt qu'ils et elles ont bien voulu porter à mon travail.

Mes remerciements les plus sincères vont à mon directeur de thèse, Jérôme, sans qui je n'aurais sûrement jamais réalisé de thèse. Merci pour l'accueil en janvier 2021, qui m'a donné envie de rester et d'expérimenter l'aventure que représente une thèse. Merci pour tout ce que tu m'as appris, pour ton expertise, qui me semble infinie sur le patch, pour l'autonomie que tu m'as laissée pendant 4 ans, pour nos discussions toujours enrichissantes, pour le temps que tu m'as accordé même quand tu n'en avais pas, pour les opportunités que tu m'as offertes. Merci pour tout, je te suis extrêmement reconnaissante. Je n'aurais pu imaginer meilleur encadrement.

J'aimerais ensuite remercier mon équipe. Merci à tous et à toutes de m'avoir accueillie les bras grands ouverts il y a 4 ans et demi. J'ai grandi grâce à vous, grâce à chacun de nos échanges, qui ont tous été si précieux.

Merci François, pour ta bienveillance et ta gentillesse, pour ta curiosité sans limite, pour les discussions et les réflexions que nous avons eues sur mon projet, pour toutes les idées que tu as pu émettre. Tu n'étais pas mon directeur de thèse, mais tu as sûrement été bien plus qu'un chef d'équipe. Merci au groupe des mamans, avec qui j'ai passé des moments incroyables. Élodie, je ne sais comment te remercier. Merci d'avoir été un si grand soutien pendant cette thèse. Merci pour tous nos cafés terrasse, nos journées, soirées et nuits RNAscope, nos rires et nos pleurs partagés. La différence d'âge n'est qu'un chiffre, l'amitié entre deux personnes n'en tient pas compte. Christelle, merci pour les questions que tu nous poses, qui font grandir notre réflexion, merci pour les opportunités que tu as pu me donner, merci pour ton humour que j'apprécie toujours énormément. Merci pour cette chambre d'hôtel partagée à

Vienne. Merci de m'avoir considérée et d'avoir cru en moi. Adriane, merci pour nos discussions, pour ces repas autrichiens et tes idées scientifiques que tu m'as partagées. Merci à tous les post-doctorant·e·s et doctorant·e·s de l'équipe, que j'ai pu découvrir au labo mais aussi aux *Lab Retreats*, pour toutes les discussions et les rires que nous avons partagés. Merci à Alba, Teresa, Laura, Jakob, Rodrigue, Guilherme, Roberta, Jean. Mention spéciale à Lorena, avec qui j'ai vécu le meilleur voyage de congrès en Suède, dans un camping-car à observer de magnifiques couchers de soleil. Merci pour ton écoute attentive, pour ta bienveillance, ton humour. Merci pour ton amitié sincère, *mi española favorita*.

Merci à toi, Margaux, de m'avoir fait découvrir le monde de la recherche alors que je ne pensais jamais y passer plus de six mois. Merci pour tous les moments que tu as consacrés à m'aider, merci de m'avoir toujours soutenue, merci pour tous ces rires, tous ces moments de folie en *ephy*, merci de m'avoir transmis ta rigueur scientifique. Mais aussi, merci d'être entrée dans ma vie. J'ai découvert une personne incroyable, qui, en plus d'être une superbe scientifique, est une amie sur qui on peut toujours compter. Merci pour les covoiturages où on a eu nos plus grandes discussions, merci d'avoir été là dans les moments difficiles. Merci pour tout. Et pour compléter le trio de cette équipe, merci à toi Ana. Merci pour toutes nos sessions *brainstorming* dans ce bureau partagé pendant trois ans, ou sur la terrasse au soleil, merci pour ces soirées passées à discuter de mon projet, merci d'avoir toujours été disponible quand j'en avais besoin. Merci pour nos sessions d'escalade, nos longues soirées autour d'une bière ou d'un verre de vin à refaire le monde, merci de m'avoir supportée dans tous mes états émotionnels, merci de m'avoir fait grandir.

Enfin, merci à tous les étudiant·e·s qui ont partagé mon quotidien et qui m'ont laissée partager le leur. Arthur, Maëlle, Kim et Mehdi, merci d'avoir été si impliqués dans le projet Arky. Vous m'avez apporté beaucoup, bien plus qu'une simple participation à mon projet de thèse. Merci de m'avoir laissé expérimenter auprès de vous, de m'avoir fait

confiance.

Évidemment Emma, je ne t'ai pas oubliée. Ma première stagiaire, qui partage maintenant mon bureau et est devenue une incroyable doctorante. Je t'ai réellement

vue grandir et je suis super fière de ce que tu deviens. Merci de partager mon quotidien, merci d'être toujours là quand j'en ai besoin, merci d'être l'amie que tu es.

J'ai eu la chance de partager mon projet de thèse avec deux personnes de l'équipe 4 que je souhaite aussi remercier. Merci Nico pour ton énergie donnée à ce projet, pour toutes ces réunions où tu as toujours eu de superbes idées, merci pour ton enthousiasme à chaque nouveau résultat. Et je ne pouvais oublier mon acolyte, Mme Arky n°2 (ou même n°1 à vrai dire), Lise. Merci pour touuuuuut. Je n'ai même pas les mots pour te dire merci. Tu es une personne hors du commun, avec qui j'ai passé des moments de rire à en pleurer jusqu'en 4100, des voyages en Europe qui nous ont permis de découvrir bien plus que de la science, et avec qui j'ai partagé des moments de vie si importants. Tu es bien plus qu'une collègue avec qui je vais coécrire notre histoire sur les neurones Arky, tu es une amie sur qui je suis sûre de pouvoir compter. Merci. Merci infiniment.

Ces 4 années de thèse m'ont aussi permis de découvrir des personnes qui sont devenues des amis, très chers à mon cœur. Thibault, merci d'être un ami si sincère, merci d'avoir toujours du temps pour discuter science ou pour me redonner de l'énergie. Merci pour ce soutien, ce pilier que tu as été, surtout lors de cette dernière année. On l'a fait, on a réussi, et on peut être fier·e·s. Merci pour tout. Aeno, merci d'être la personne si généreuse que tu es. Merci pour tout le temps que tu as pu m'accorder, pour tous ceux que tu m'as offerts, autour d'un café, d'une barre chocolatée ou encore chez toi. Merci pour tout ce que tu as organisé pour nous tous, des soirées de Noël aux *murder parties* ou soirées d'Halloween. Merci pour toutes ces soirées jeux où l'on a tant ri. Merci pour tout. Ludi, merci pour tous nos moments partagés, au labo, chez moi ou dans nos voitures respectives. Merci pour les soirées belote, les soirées *Meilleur Pâtissier*, les soirées avec les chats, les bières, les discussions, les rires. Merci d'être toujours prête à m'écouter et me conseiller. Merci pour tout. Solène, Fanny, Zoé, merci pour toutes les discussions que nous avons pu avoir, les écoutes mutuelles, les remontées de moral, les bières et cocktails partagés.

Je souhaitais aussi remercier ces personnes qui ne sont pas au labo avec moi mais qui m'ont soutenue durant ces 4 années. Merci à Lulu, qui m'a toujours écoutée raconter mes histoires d'Arky avec attention, merci d'être un soutien depuis plus de 10 ans. Merci à Mélou et Jordane, qui m'ont accueillie lors de périodes de stress mais qui ont toujours tout fait pour me redonner la motivation et me changer les idées. Merci à Kévin et Cindy, qui, même s'ils ne s'en rendent certainement pas compte, m'ont permis de me changer les idées pendant nos week-ends partagés. Merci à Véro et Hervé, qui m'ont accueillie pendant mes jours de télétravail et qui ont cru en moi pendant toute ma thèse. Merci à Mamie Carmen, qui m'a donné l'envie de continuer jusqu'au bout.

Je ne peux oublier de remercier ma famille. Merci papa, merci maman, pour toutes les chances et les opportunités que vous m'avez offertes dès le plus jeune âge et qui m'ont permis d'arriver jusqu'ici. Merci de m'avoir toujours soutenue, d'avoir cru en moi, de m'avoir poussée, d'avoir accueilli mes pleurs et mes doutes. Tu vois maman, tu m'as toujours dit de viser la lune pour au moins retomber dans les étoiles, et aujourd'hui, j'ai l'impression d'avoir atteint mon objectif. Merci pour tout ce que vous avez fait et faites encore pour moi. Merci à ma petite sœur, Camille, qui a toujours eu les mots pour me remotiver, pour m'encourager à prendre soin de moi et qui a partagé mes midis au labo. Merci pour tout, tu es une des sources de ma motivation. Merci à ma mamie, qui est toujours super fière de moi, qui me demande toujours des nouvelles et qui est toujours prête à m'écouter parler de science.

Et enfin, merci à ma femme, Loriane. Il n'existe pas de mot assez puissant pour te remercier. Tu as toujours cru en moi, tu m'as relevée dans les moments les plus sombres, tu as vécu cette thèse avec moi. Je peux dire qu'on a réussi, parce que c'était en partie un travail d'équipe. Merci de croire en moi plus que personne ne peut le faire, merci d'être ma coach sportive de la motivation, merci de m'avoir soutenue avec cette force et cette énergie pendant autant d'années. Merci d'être à mes côtés même après cette épreuve digne d'un marathon. Je t'aime.

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Publications

- Marques A, Beze S, Lambert C, **Bonamy L**, de Chazeron I, Rieu I, Chiambaretta F, Durif F. Psycho-sensory modalities of visual hallucinations and illusions in Parkinson's disease. *Rev Neurol (Paris)*. 2021 Dec;177(10):1228-1236. doi: 10.1016/j.neurol.2021.04.007. Epub 2021 Jul 5. PMID: 34238577.
- Glangetas C, Guillaumin A, Ladevèze E, Braine A, Gauthier M, **Bonamy L**, Doudnikoff E, Dhellemmes T, Landry M, Bézard E, Caille S, Taupignon A, Baufreton J, Georges F. A population of Insula neurons encodes for social preference only after acute social isolation in mice. *Nat Commun*. 2024 Aug 21;15(1):7142. doi: 10.1038/s41467-024-51389-4. PMID: 39164260; PMCID: PMC11336167.
- Lebouc M, **Bonamy L**, Dhellemmes T, Scharnholtz J, Richard Q, Courtand G, Brochard A, Martins F, Landry M, Baufreton J, Garret M. Developmental alterations of indirect-pathway medium spiny neurons in mouse models of Huntington's disease. *Neurobiol Dis*. 2025 May;208:106874. doi: 10.1016/j.nbd.2025.106874. Epub 2025 Mar 14. PMID: 40090469.

Communications

Présentation de poster :

- **NeuroFrance – 2025** (*Montpellier, France*)
- **HOPE Meeting – 2025** (*Bordeaux, France*)
- **FENS Forum – 2024** (*Vienna, Austria*)
- **IBAGS – 2023** (*Stockholm, Sweden*)
- **Doctoral School Day – 2023** (*Bordeaux, France*)
- **Bordeaux Neurocampus Day – 2022** (*Bordeaux, France*)

Communications orales :

- **Doctoral School Day – 2025** (*Bordeaux, France*) –
Award: Best Talk of the Day
- **Network and Synapse Day – 2024** (*Bordeaux, France*)
- **Neurodegenerative disease Day – 2024** (*Bordeaux, France*)
- **IMN Seminar – 2024** (*Bordeaux, France*)

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

5-HT	5-hydroxytryptamine ou sérotonine
6-OHDA	6-hydroxydopamine
AAV	Virus adéno-associés
AC	Adénylate cyclase
ACh	Acétylcholine
AChE	Acétylcholine estérase
AHPmag	Amplitude de l'hyperpolarisation suivant le PA (<i>after hyperpolarization magnitude</i>)
AIM	<i>Abnormal involuntary movement scale</i> / échelle des mouvements involontaires
AMPA	Acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique
APamp	Amplitude du potentiel d'action
APhw	Temps pour atteindre la moitié de l'amplitude du potentiel d'action (<i>AP half-width</i>)
APth	Seuil de déclenchement du potentiel d'action (<i>AP threshold</i>)
ARKY	Neurones arkypallidaux
ARNm	Acide ribonucléique messager
BAC	Chromosome artificiel bactérien
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BNST	Noyau du lit de la <i>stria terminalis</i> (<i>bed nucleus of the stria terminalis</i>)
CALB	Calbindine
CaM	Calmoduline
CEA	Amygdale centrale
CGE	Éminence ganglionnaire caudale
ChAT	Choline acétyltransférase
ChR2	<i>Channel-rhodopsin2</i>
CIN	Interneurones cholinergiques
Cm	Capacitance membranaire
COMT	Cétachol-O-méthyltransférase
CPSI	Courants post-synaptiques inhibiteurs
CR	Calrétinine
CRF	Corticotropine
CS	Colliculus supérieur
CTL	Contrôle
CV	Coefficient de variation
cvs11G	<i>Challenge virus standard-11 glycoprotein</i>
D1	Récepteurs dopaminergiques de type 1
D2	Récepteurs dopaminergiques de type 2
D2L	Forme longue du récepteur dopaminergique D2
D2S	Forme courte du récepteur dopaminergique D2
DA	Dopamine

DAB	3,3'-Diaminobenzidine
d-AP5	Acide 2-amino-5-phospho-novalérique
DAPI	4',6-diamidino-2-phénylindole
DAT	Transporteur de dopamine
DBS	<i>Deep brain stimulation</i> – Stimulation cérébrale profonde
Dbx1	<i>Developing brain homeobox 1</i>
DIO	<i>Double floxed Inverse Open reading frame</i>
DIL	Dyskinésies induites par la L-DOPA
DLS	Striatum dorsolatéral
DMS	Striatum dorsomédial
dMSN	Neurones épineux moyens de la voie directe
DNQX	6,7-dinitro-quinoxaline-2,3-dione
DRN	Noyau du raphé dorsal
dSTR	Striatum dorsal
EF1α	<i>Human elongation factor-1 alpha</i>
ENK	Enképhaline
EPN	Noyau entopédonculaire
eYFP	<i>Enhanced yellow fluorescent protein</i>
FISH	Hybridation in situ à fluorescence
FLEX	<i>Flip-Excision</i>
FMT	Faisceau Median du Télencéphale
FoxP2	<i>Forkhead-box P2</i>
Fq	Fréquence
FSI	<i>Fast-Spiking Interneurons</i> (interneurones à décharge rapide)
GABA	Acide gamma-aminobutyric
GAT	Transporteur du GABA
GB	Ganglions de la base
GBZ	Gabazine
GFP	<i>Green fluorescent protein</i>
GP	Globus pallidus
GPe	Globus pallidus externe
GPI	Globus pallidus interne
GRIN Lens	Lentille à gradient d'indice
HFP	<i>High frequency pauser</i>
HRP	Peroxydase de raifort
hSyn	<i>Human Synapsin 1 gene promoter</i>
iMSN	Neurones épineux moyens de la voie indirecte
ISI	Intervalle inter-spike
KW	Test statistique de Kruskal-Wallis
L-DOPA	3,4-Di-hydroxy-L-phenylalanine
LB	Corps de Lewy (Lewy body)
LFB	<i>Low-Frequency Bursty neurons</i> (neurones bursty à basse fréquence)
LGE	Éminence ganglionnaire latérale
Lhx6⁺	<i>Lim homeobox 6</i>
LN	<i>Lewy neurites</i>
LoxP	<i>Locus of X-over of P1</i>

LTSI	<i>Low-Threshold-Spiking Interneurons</i> (interneurones à bas-seuil de décharge)
MAP2	<i>Microtubule-associated protein 2</i>
MAO-B	Monoamine oxydase de type B
MDS	<i>Movement disorder society</i>
MFB	<i>Medial forebrain bundle</i>
MGE	Éminence ganglionnaire médiale
MOp	Cortex moteur primaire
MOR	Récepteurs μ -opioïdes
MOs	Cortex moteur secondaire
MP	Maladie de Parkinson
MPP⁺	1-méthyl-4-phenyl-pyridinium
MPTP	1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine
MSN	Neurones épineux moyens
NAC	Noyau accumbens
NADPH-d	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate diaphorase</i>
NC	Noyau caudé
NDS	Sérum normal d'âne
NET	Transporteur de noradrénaline
NGS	Sérum normal de chèvre
Nkx2.1	<i>NK2 homeobox 1</i>
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
NOS	Oxyde nitrite synthase
Npas1	<i>Neuronal PAS domain protein 1</i>
NPY	Neuropeptide Y
NST	Noyau sous-thalamique
OA1	Gène de l'albinisme oculaire 1
OASIS	<i>Online Active Set method to Infer Spikes</i>
PA	Potentiel d'action
pARK	Neurone arkypallidal putatif
PBS	<i>Phosphate buffer saline</i>
Pf	Noyau parafasciculaire
PFA	Paraformaldehyde
PNH	Primate non-humain
PoA	Aire préoptique
PPE	Préproenképhaline
PPN	Noyau pédonculo-pontin
PPR	<i>Paired-pulse ratio</i>
pPRO	Neurone prototypique putatif
PRO	Neurones prototypiques
PV	Parvalbumine
PVN	Noyau paraventriculaire
Rm	Résistance membranaire
ROI	Région d'intérêt
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
SEM	Erreur standard à la moyenne

SERT	Transporteur de la sérotonine
SN	Substance noire
SNc	Substance noire <i>pars compacta</i>
SNC	Système nerveux central
SNE	Système nerveux entérique
SNr	Substance noire <i>pars reticulata</i>
SOM	Somatostatine
SP	Substance P
Stim	Stimulation
STR	Striatum
SUMA	Sumaninol
SV40	Virus simien 40
synEGFP	<i>Synaptophysin enhanced green fluorescent protein</i>
T2A	<i>Thosea asigna virus 2A</i>
TH	Tyrosine hydroxylase
TO	Tubercule olfactif
TRN	Noyau thalamique réticulaire
TSA	<i>Tyramide signal amplification</i>
TVA950	Récepteur cellulaire transmembranaire
UPDRS	<i>Unified parkinson's disease rating scale</i>
Vim	Thalamus ventral
Vm	Potentiel de membrane au repos
vSTR	Striatum ventral
WPRE	<i>Woodchuck hepatitis virus (whv) posttranscriptional regulatory element</i>
WSR	Test statistique de Wilcoxon (Wilcoxon Signed Rank)

LISTE DES ABRÉVIATIONS – ALLEN BRAIN ATLAS

ACC	Cortex cingulaire antérieur
AI	Cortex insulaire antérieur
APN	Noyau prétractal antérieur
AT	Noyau tegmental antérieur
AUD	Cortex auditif
BLA	Amygdale basolatérale
BMA	Amygdale basomédiale
CEA	Amygdale centrale
CLA	Clastrum
DORsm	Thalamus dorsal médian (partie médiale)
DR	Noyau du raphé dorsal
ENT	Cortex entorhinal
Eth	Noyau ethmoïde du thalamus
FRP	Cortex frontal
GPe	Globus pallidus externe

GPI	Globus pallidus interne
ITN	Noyau intralaminaire du thalamus
LA	Amygdale latérale
LAT	Noyau latéral du thalamus
LD	Noyau dorsal latéral du thalamus
LGN	Noyau géniculé latéral
LH	Habenula latérale
LHA	Aire latérale de l'hypothalamus
MED	Noyaux médians du thalamus
MEZ	Zone médiale de l'hypothalamus
MOp	Cortex moteur primaire
MOs	Cortex moteur secondaire
MRN	Noyau réticulaire du mésencéphale
MY	Moelle allongée (bulbe rachidien)
OLF	Bulbe olfactif
ORB	Cortex orbito-frontal
P	Pont
PAG	Substance grise périaqueductale
PERI	Cortex périrhinal
PIR	Cortex piriforme
PL	Cortex prélimbique
PPN	Noyau pédonculo-pontin
PRN	Noyau réticulo-pontin
PRT	Noyau prétectal
RN	Noyau rouge
RPF	Noyau rétroparafasciculaire
RR	Noyau du raphé rostral
RSP	Cortex rétrosplénial
SCm	Colliculus supérieur médian
SNC	Substance noire pars compacta
SNr	Substance noire pars reticulata
SSp	Cortex somatosensoriel
STN	Noyau sous-thalamique
STR	Striatum
TEa	Cortex temporal associatif
TU	Noyau tubéral
VIS	Cortex visuel
VISC	Cortex viscéral
VT	Thalamus ventral
VTA	Aire tegmentale ventrale
ZI	<i>Zona incerta</i>

LISTE DES FIGURES ET TABLES

- Figure 1** Les GB et les structures liées chez l'Homme
- Figure 2** Différentes afférences du striatum en fonction des sous-régions
- Figure 3** Modèle des GB : voie directe versus voie indirecte
- Figure 4** Mécanisme d'action des récepteurs dopaminergiques D1-*like* et D2-*like*
- Figure 5** Sélection des programmes moteurs via les trois voies des GB
- Figure 6** Evolution des symptômes de la MP
- Figure 7** Corps de Lewy
- Figure 8** Hypothèse de propagation de l' α -synucléine dans le SNC par Braak
- Figure 9** Les deux hypothèses d'apparition des lésions de la MP
- Figure 10** Synthèse de la dopamine
- Figure 11** Evolution de la survenue des DIL et des fluctuations au cours du temps
- Figure 12** Principe neurochirurgical de la stimulation cérébrale profonde
- Figure 13** Modèles "Firing rate" (A) et "Firing pattern" (B) expliquant la physiopathologie de la MP
- Figure 14** Schéma représentant les mécanismes des différents gènes et composés utilisés pour créer des modèles de la MP
- Figure 15** Classification moléculaire des neurones du GPe
- Figure 16** Activité des neurones PRO et ARKY enregistrés chez le primate et le rongeur
- Figure 17** Activité des neurones PRO et ARKY enregistrés chez le primate et le rongeur
- Figure 18** Afférences et efférences du GPe
- Figure 19** Caractéristiques des neurones ARKY

- Figure 20** Les neurones ARKY jouent-ils un rôle dans la physiopathologie de la MP ?
- Figure 21** Systèmes Cre-loxP et DIO
- Figure 22** Génération des souris transgéniques BAC
- Figure 23** Les différents types de dyskinésies
- Figure 24** Lentille surmontée d'une plaque
- Figure 25** Connectique permettant l'enregistrement et la visualisation de l'acquisition des signaux calciques en temps réel
- Figure 26** Analyses des données issues de l'imagerie calcique
- Figure 27** Plan expérimental du suivi longitudinal de l'activité des neurones ARKY dans les 3 conditions physiopathologiques
- Figure 28** Principe du marquage rétrograde monosynaptique utilisant des virus de la rage (rabies) modifiés
- Figure 29** Analyse de la capacitance
- Figure 30** Cartographie des afférences des neurones ARKY
- Figure 31** Cartographie des afférences des neurones PRO
- Figure 32** Caractérisation anatomique de deux populations neuronales distinctes dans le GPe de primates non-humains
- Figure 33** Caractérisation de l'activité en tranche des neurones du GPe chez le PNH
- Figure 34** Caractéristiques des potentiels d'action des neurones du GPe chez le PNH
- Figure 35** Validation histologique et comportementale du modèle 6-OHDA
- Figure 36** Validation histologique et comportementale du modèle de dyskinésies induites par la L-DOPA
- Figure 37** Mise en place de la technique d'imagerie calcique

- Figure 38** L'activité des neurones ARKY est maintenue après déplétion dopaminergique et traitement chronique à la L-DOPA
- Figure 39** Les neurones ARKY deviennent silencieux lors des dyskinésies induites par la L-DOPA
- Figure 40** Les neurones ARKY ont une activité intrinsèque modifiée en conditions pathologiques
- Figure 41** Les caractéristiques des potentiels d'action des neurones ARKY restent inchangées en conditions pathologiques
- Figure 42** L'excitabilité des neurones ARKY est diminuée en condition 6-OHDA et rétablie par le traitement chronique à la L-DOPA
- Figure 43** La L-DOPA n'a pas d'effet sur l'excitabilité des neurones ARKY en condition physiologique
- Figure 44** La L-DOPA diminue l'excitabilité des neurones ARKY chez des souris dyskinétiques
- Figure 45** Le récepteur D2 est présent dans le GPe, au contraire du récepteur D1
- Figure 46** Les récepteurs D2 sont exprimés majoritairement par les neurones ARKY au sein du GPe
- Figure 47** Le récepteur D2 est exprimé spécifiquement par les neurones ARKY chez les souris dyskinétiques
- Figure 48** L'agoniste des récepteurs D2 n'a pas d'effet sur l'excitabilité des neurones ARKY
- Figure 49** L'agoniste des récepteurs D2 entraîne une modification de conductance des neurones ARKY chez des souris dyskinétiques
- Figure 50** Le blocage des récepteurs D2 par le sulpiride empêche l'effet inhibiteur de la L-DOPA chez des souris dyskinétiques
- Figure 51** La connexion synaptique dMSN → ARKY est fortement diminuée en condition dyskinétique
- Figure 52** Les neurones ARKY sont innervés par les neurones PV⁺ au sein du GPe

Figure 53	La connexion synaptique PRO → ARKY tend à être diminuée en condition 6-OHDA et est rétablie en condition dyskinétique
Figure 54	Validation de la stratégie optogénétique
Figure 55	La transmission GPe-MSN est comparable entre les deux sous-populations striatales
Figure 56	Les neurones ARKY projettent préférentiellement sur le compartiment matriciel au niveau du DMS et du DLS
Figure 57	Validation de la stratégie optogénétique
Figure 58	La transmission ARKY-iMSN est comparable à la transmission ARKY-dMSN
Figure 59	La transmission synaptique ARKY-iMSN est augmentée en conditions pathologiques
Figure 60	Mécanisme hypothétique de l'action de la L-DOPA sur les neurones ARKY en condition dyskinétique
Figure 61	Hypothèse de remodelage du circuit des GB en condition dyskinétique
Tableau 1	Autres modèles utilisés pour étudier la MP
Tableau 2	Vecteurs viraux utilisés pour les injections stéréotaxiques
Tableau 3	Médicaments utilisés lors des chirurgies
Tableau 4	Molécules utilisées lors des enregistrements électrophysiologiques <i>ex-vivo</i>
Tableau 5	Sondes utilisées pour les expériences d'hybridation <i>in situ</i>
Tableau 6	Anticorps utilisés dans les différentes expériences
Tableau 7	Anticorps primaires et secondaires utilisés pour l'identification post-hoc des neurones enregistrés durant les expériences de patch-clamp
Tableau 8	Paramètres des potentiels d'action des neurones enregistrés chez le PNH

INTRODUCTION

I. Les ganglions de la base

1. Description des ganglions de la base

Les ganglions de la base (GB) sont un ensemble de noyaux sous-corticaux interconnectés à l'interface entre les informations reçues du cortex et celles envoyées au thalamus. Ce réseau est largement connu pour être responsable du contrôle moteur mais est également impliqué dans les fonctions cognitives, associatives et limbiques (Del Rey and García-Cabezas, 2023; Lanciego et al., 2012). Les GB ont été décrits pour la première fois dans les années 1600 par Thomas Willis dans son ouvrage intitulé "*Cerebri anatome*" (Willis, 1664). Cet ouvrage constitue les prémices des futures découvertes sur les noyaux composant les GB. Il a notamment décrit trois structures composant ce circuit : le noyau caudé et putamen, le pallidum et la substance noire (SN).

Les quelques trois cents années de recherche scientifique suivant cette description ont ensuite permis d'établir la composition exacte et détaillée des GB (**Figure 1**) :

- Le striatum (STR), composé du noyau caudé (NC) et du putamen (Put) ainsi que du Noyau Accumbens (NAc) et du Tubercule Olfactif (TO)
- Le pallidum, comprenant une partie externe (Globus Pallidus externe : GPe) et interne (Globus Pallidus interne : GPi)
- Le noyau sous-thalamique (NST)
- La SN, composée d'une partie réticulée (SNr) et d'une partie compacte (SNc).

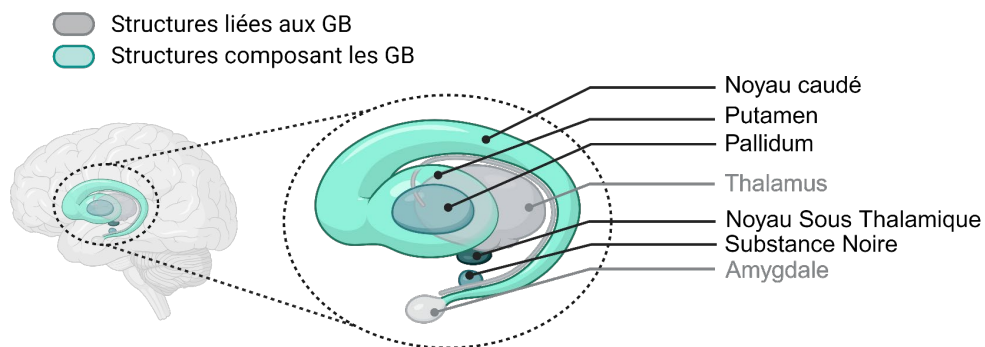


Figure 1 : Les Ganglions de la Base et les structures liées chez l'Homme.

Schéma des structures sous-corticales du cerveau, mettant en évidence les GB, le thalamus et l'amygdale. Ces régions jouent un rôle clé dans le contrôle moteur, les émotions et la modulation des fonctions cognitives. *Créée dans BioRender.com*

2. Le Striatum

Le STR est considéré comme la structure d'entrée des GB car il reçoit la majorité des afférentes corticales mais aussi du thalamus (Kitai et al., 1976), du raphé, de la SN, du NST, du globus pallidus (GP), du noyau pédonculo-pontin (PPN) et d'autres aires sous-corticales comme l'amygdale ou encore l'hippocampe (Nakano et al., 2000). Chez l'Homme et le primate, il est composé du NC et du Put dans sa partie dorsale correspondant au striatum dorsolatéral (DLS) et dorsomédian (DMS) chez le rongeur ainsi que du NAc et du TO composant la partie ventrale.

a. L'organisation anatomo-fonctionnelle du STR

Le STR est impliqué dans de nombreuses fonctions du cerveau. Il est en effet décrit comme une structure complexe qui peut être ségréguée en plusieurs ensembles spatialement distincts. La partie dorsale du STR (dSTR) participe aux fonctions cognitives telles que la prise de décision (sélection et initiation d'actions) et l'apprentissage par renforcement, l'initiation et la programmation des comportements d'habitude ainsi que le contrôle moteur volontaire. En revanche, la partie ventrale (vSTR) est impliquée dans la régulation des fonctions limbiques liées à la motivation,

la récompense et les émotions (Balleine et al., 2007; Burton et al., 2015; Gruber and McDonald, 2012).

Cette distinction spatiale entre le dSTR et le vSTR a été largement étudiée. Toutefois, la caractérisation spatio-fonctionnelle du STR repose principalement sur une organisation spécifique des afférences reçues par ses différentes sous-régions. En effet, chaque sous-région du STR reçoit des projections distinctes provenant de diverses structures cérébrales, ce qui permet une spécialisation fonctionnelle qui sous-tend des processus cognitifs et moteurs différenciés. Le STR est décomposé en trois régions fonctionnelles : sensorimotrice, associative et limbique. Cette organisation est conservée à travers les espèces (Homme, primate et rongeurs). Le DLS (rongeur) ou les régions dorsolatérales du NC et Put (Homme et primate) reçoivent majoritairement des connexions des cortex moteur et prémoteur, du cortex cingulaire et du cortex somatosensoriel et constitue ainsi le **STR sensorimoteur (Figure 2)**. Le DMS (rongeur) ou les parties dorsomédiales du NC et Put reçoivent des afférences des aires corticales associatives telles que les cortex préfrontal, temporal et pariétal et constitue le **STR associatif (Figure 2)**. Enfin, le vSTR (NAc principalement) reçoit des afférences des régions corticales limbiques (cortex piriforme, prélimbique, infralimbique) et d'aires sous-corticales telles que l'amygdale ou l'hippocampe et constitue ainsi le **STR limbique (Figure 2)** (Alexander et al., 1991; Liljeholm and O'Doherty, 2012; Nakano et al., 2000)

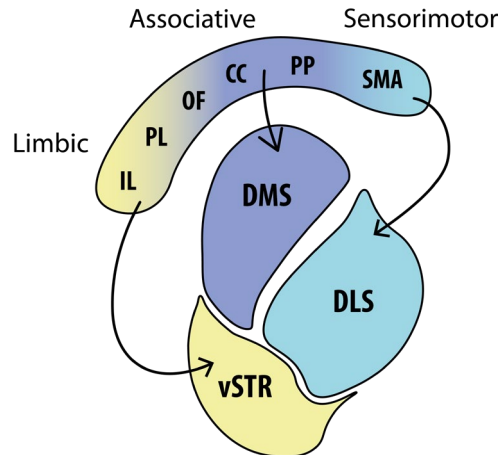


Figure 2 : Différentes afférences du striatum en fonction des sous-régions.

Schéma des connexions fonctionnelles entre différentes régions du cortex et les subdivisions du STR. Les régions dorsomédiale (DMS), dorsolatérale (DLS) et ventrale (vSTR) du striatum reçoivent des projections spécifiques des aires corticales impliquées dans la prise de décision, le contrôle moteur et les comportements motivationnels.

SMA : Aires somatosensorielles, PP : cortex pariétal, CC : cortex cingulaire, OF : cortex orbitofrontal, PL : cortex prélimbique, IL : cortex infralimbique.

Modifiée de Liljeholm and O'Doherty, 2012.

b. L'organisation compartimentée du STR

Plus récemment, de nombreuses études ont porté sur une organisation compartimentée du STR : les striosomes et la matrice. Ces deux compartiments sont retrouvés dans le dSTR et le vSTR, néanmoins, les striosomes sont en majorité présents dans le striatum dorsal et occupent entre 10 à 15% du volume striatal, le reste étant la matrice (Prager and Plotkin, 2019).

Ces compartiments ont été décrits pour la première fois en 1978 par Graybiel et Ragsdale (Graybiel and Ragsdale, 1978) lors d'une étude histochimique sur le cerveau de chat, de singe et d'humain. Les auteurs ont identifié deux compartiments distincts en utilisant un marquage de l'acétylcholinestérase (AChE) grâce auquel ils ont mis en évidence des îlots avec une faible activité AChE correspondant aux striosomes, compris dans une matrice à haute activité AChE. Cependant, les différences moléculaires de ces deux compartiments ne s'arrêtent pas à l'activité

AChE. Les striosomes sont enrichis en récepteurs μ -opioïdes (MOR), substance P (SP), dynorphine et enképhaline (Enk) alors que la calbindine (CALB) et la somatostatine sont plus abondantes dans la matrice (Prager and Plotkin, 2019). La classification de ces différents espaces striataux peut être plus approfondie. Il existe cinq types de striosomes basés sur leurs profils moléculaires contenant plus ou moins de MOR, SP et Enk. De plus, la répartition des striosomes au sein du striatum semble inégale : un domaine sans striosome est retrouvé dans le striatum dorsolatéral et le striatum caudal ne présente pas cette organisation compartimentale striosome/matrice (Miyamoto et al., 2018).

L'organisation en compartiments permet au striatum de traiter différents types d'informations en parallèle, contribuant à ses diverses fonctions dans le contrôle moteur, la cognition et la motivation. En effet, les striosomes seraient impliqués dans les comportements liés à la récompense et la motivation, l'apprentissage basé sur la valence et l'apprentissage par renforcement, la prise de décision ou encore les stéréotypies (Amemori et al., 2011; Friedman et al., 2015; Prager and Plotkin, 2019) alors que la matrice serait impliquée dans le contrôle moteur *via* la sélection d'action (Flaherty and Graybiel, 1994). Les différentes réponses comportementales associées à chacune de ces deux structures s'expliquent par leurs connexions distinctes. En effet les neurones présents dans les striosomes reçoivent des afférences des régions limbiques et projettent vers les neurones dopaminergiques de la SNc (en passant, ou non, par le GPe) alors que les neurones de la matrice sont connectés par des régions sensorimotrices et associatives et projettent vers le GPe et la SNr (Fujiyama et al., 2011; Lazaridis et al., 2024; McGregor et al., 2019)

c. L'organisation cellulaire du STR

En 1976, une étude anatomique des neurones striataux chez le singe révèle 6 types neuronaux différents (DiFiglia et al., 1976). Cette étude fait suite aux travaux menés par Kemp et Powell ayant abouti aux mêmes résultats chez le chat (Kemp and Powell, 1971). La composition neuronale du striatum semble donc conservée entre les espèces.

Parmi les 6 types neuronaux différents, 2 présentent des épines dendritiques caractéristiques qui donnent leur nom aux neurones épineux moyens (MSN). Ces neurones de projections représentent 90 à 95% de la composition neuronale du striatum. Ils sont GABAergiques (GABA : *gamma-aminobutyric acid*) et sont ségrégués en deux types : les neurones de la voie directe (dMSN) et ceux de la voie indirecte (iMSN) différenciés par leurs structures de projection, par l'expression différentielle de récepteurs dopaminergiques ainsi que par leur profil électrophysiologique (Bateup et al., 2010; Gertler et al., 2008; Valjent et al., 2019).

Les dMSN projettent directement à la SNr et au GPi, structures de sortie des GB. Ils expriment à la surface membranaire des récepteurs dopaminergiques de type 1 (D1). Les iMSN projettent au GPe et expriment à leur surface des récepteurs dopaminergiques de type 2 (D2) (Lanciego et al., 2012). Bien que l'expression des récepteurs dopaminergiques ait été longtemps décrite de manière totalement ségréguée, certains neurones présentent l'expression à la fois des récepteurs D1 et D2 mettant en lumière la complexité plus importante de la composition striatale (Bonnavion et al., 2024).

Les MSN sont aussi régulés par d'autres types de neurones (Gittis et al., 2010; Koos et al., 2004; Straub et al., 2016), les interneurones, qui représentent 5 à 10% de la composition neuronale du striatum chez le rongeur (et jusqu'à 20% chez le singe). Les interneurones striataux sont pour la plupart GABAergiques car seulement 1 à 2% sont cholinergiques. Les interneurones GABAergiques striataux peuvent exprimer la parvalbumine (PV⁺), la calrétinine (CR⁺), la tyrosine-hydroxylase (TH), le NADPH-d (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate diaphorase*), le neuropeptide Y, la somatostatine et l'oxyde nitrique synthase (NPY/SOM/NOS⁺) ou encore le récepteur à la sérotonine 5-HT_{3a} (Garma et al., 2024; Muñoz-Manchado et al., 2016; Petryszyn et al., 2018). Une étude a montré qu'ils pouvaient être regrouper selon 7 classes principales en fonction de leur expression de marqueurs moléculaires (Muñoz-Manchado et al., 2018). Cependant, ils sont souvent ségrégués en 3 classes selon leur profil électrophysiologique : les interneurones cholinergiques (Wilson et al., 1990), les interneurones à bas seuil de décharge (LTSI : *Low-*

Threshold-Spiking Interneurons) et les interneurones à décharge rapide (FSI : *Fast-Spiking Interneurons*) (Kawaguchi, 1993). Les FSI et LTSI exercent un contrôle inhibiteur important et sont même responsables d'une inhibition rétroactive (« *feedforward inhibition* ») sur les MSN (Johansson and Silberberg, 2020).

Les interneurones cholinergiques (CIN) sont caractérisés par un corps cellulaire très large, et malgré leur présence clairsemée au sein du STR, apparaissent très importants dans la régulation de la décharge des MSN (English et al., 2012).

3. Le Pallidum

Le GP est composé de deux parties : la partie externe latérale nommée GPe et la partie interne médiale nommée GPi chez l'Homme et le singe ou noyau entopédonculaire (EPN) chez le rongeur. Le GP tient son nom du latin « *Pale Globe* » pour son apparence pâle due aux axones myélinisés qui le traversent (Javed and Cascella, 2025).

Le GPi est, avec la SNr, la structure de sortie des GB. Il est constitué en majorité de neurones GABAergiques de projection qui inhibent les structures cibles telles que le thalamus en majorité mais aussi certaines du tronc cérébrale (PPN, Colliculus Supérieur (CS)) (Lanciego et al., 2012). Son intérêt dans le traitement de symptômes moteurs de certaines maladies telles que la MP ou la dystonie a été mis en lumière lors de la mise en place de la stimulation profonde (Benabid et al., 2001). Une partie des neurones qui le composent est glutamatergique et a été montré comme impliquée dans l'évaluation des résultats de l'action *via* une voie de projection vers l'habenula latérale (Stephenson-Jones et al., 2016).

Le GPe est située à la frontière avec le STR et constitue une structure relais de l'information au sein des GB. Il a longtemps été considéré comme simple relais, étant innervé par le STR et projetant essentiellement vers le NST au sein de la voie indirecte des GB. Cependant, durant les 20 dernières années, sa complexité

neuronale (Abdi et al., 2015; Mallet et al., 2012) et son rôle crucial dans le contrôle moteur (Aristieta et al., 2021) ont fait grandir l'intérêt pour cette structure.

4. Le Noyau Sous Thalamique

Le NST est une petite structure en forme de lentille localisée à la jonction entre le mésencéphale et le diencephale. Il est la seule structure excitatrice des GB, est constitué principalement de neurones de projections glutamatergiques qui projettent sur le GPi, la SNr et aussi le GPe. Il reçoit à la fois des afférences GABAergiques directement du GPe mais aussi des afférences glutamatergiques directement du cortex, formant ainsi une voie d'entrée alternative au STR, nommée voie hyperdirecte (Albin et al., 1989; Nambu, 2004).

Il a été très largement étudié depuis les années 1990 pour son intérêt dans le contexte de la maladie de Parkinson (MP) et le traitement des symptômes moteurs par la stimulation cérébrale profonde (Benabid et al., 2000).

5. La Substance Noire

La SN est localisée dans le mésencéphale et est composée de deux parties : la SNc et la SNr. La SN doit son nom à sa couleur noire due à la haute concentration de neuromélanine présente au sein des neurones dopaminergiques de la SNc chez l'Homme. Ce sont ces mêmes neurones qui projettent au STR et régulent ainsi l'activité des MSN *via* les récepteurs dopaminergiques présents à leur membrane (Lanciego et al., 2012).

La SNr est, avec le GPi, la structure de sortie des GB. Elle est constituée de neurones GABAergiques projetant principalement vers le thalamus (mais aussi vers le tronc cérébral) pour ensuite clore la voie cortico-GB-thalamo-corticale (Lanciego et al., 2012).

La SN est essentielle pour le contrôle moteur, le système de récompense et l'addiction ainsi que l'apprentissage (Delgado-Zabalza et al., 2023; Galaj et al., 2022; Martig and Mizumori, 2011; Salvatore, 2024). Cependant, elle a été largement étudiée pour son rôle dans la MP. En effet dans la MP, les neurones de SNc dégénèrent ce qui entraîne un manque de dopamine (DA) provoquant l'hypokinésie caractéristique de la maladie (Albin et al., 1989).

6. Fonctionnement physiologique des GB

Le STR, structure d'entrée des GB reçoit toutes les informations corticales qui sont intégrées au sein même de cette structure. Puis, les informations sont ensuite transmises aux structures de sortie des GB, le GPi et la SNr *via* deux voies distinctes mais complémentaires dénommées : "voie directe" et "voie indirecte" (Albin et al., 1989) (**Figure 3**). La voie directe transfère les informations directement aux deux structures de sortie des GB alors que la voie indirecte met en jeu deux structures relais : le GPe et le NST. Le GPi et la SNr exerce une inhibition tonique du thalamus qui sera soit levée par l'activation de la voie indirecte ce qui permettra l'initiation et l'exécution d'un mouvement, soit maintenue par l'activation de la voie indirecte ce qui entrainera une inhibition du mouvement.

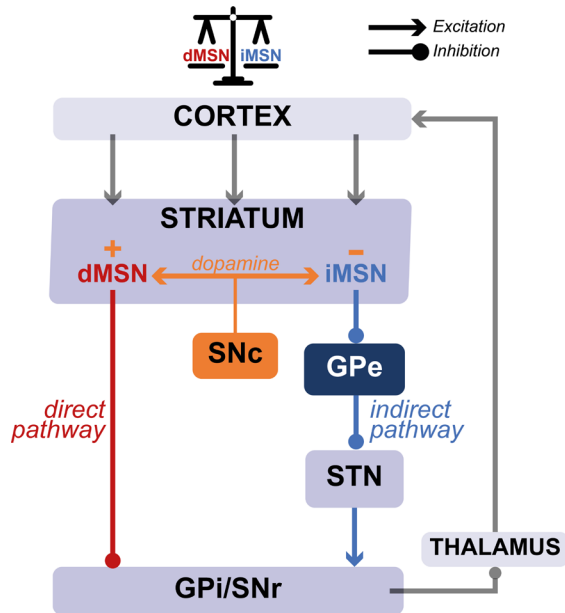


Figure 3 : Modèle des GB : voie directe versus voie indirecte

Schéma des circuits des GB, illustrant les voies directe et indirecte. La dopamine, libérée par la SNc, module ces voies en activant les récepteurs D1 pour faciliter le mouvement *via* la voie directe (en rouge) et en inhibant les récepteurs D2 pour réduire l'inhibition du mouvement *via* la voie indirecte (en bleu). Ces circuits influencent l'activité du thalamus et du cortex moteur afin de produire un mouvement volontaire adapté. *Adaptée de Albin et al. 1989.*

L'activation ou l'inhibition d'un mouvement sont décrites comme résultant d'un équilibre parfait entre les deux voies. Le maintien essentiel de cet équilibre est exercé par la DA relarguée au niveau du STR par les neurones à DA de la SNc.

Les récepteurs dopaminergiques sont constitués de 5 classes différentes de D1 à D5 et regroupés sous deux grandes catégories : les récepteurs D1-*like* (D1 et D5) et les récepteurs D2-*like* (D2, D3, D4) selon leur capacité à activer ou inhiber l'Adénylate Cyclase (AC) (**Figure 4**). En effet, chaque récepteur à la DA est un récepteur à sept domaines transmembranaires couplé à une protéine G. Les récepteurs D1-*like* sont couplés à une protéine intracellulaire Gs capable d'activer l'AC alors que les récepteurs D2-*like* sont liés à une protéine intracellulaire Gi qui inhibe l'AC (Jackson and Westlind-Danielsson, 1994). L'AC est le premier messenger d'une cascade de réactions intracellulaires entraînant l'activation ou l'inhibition des neurones exprimant à leur surface l'un ou l'autre des récepteurs à la DA.

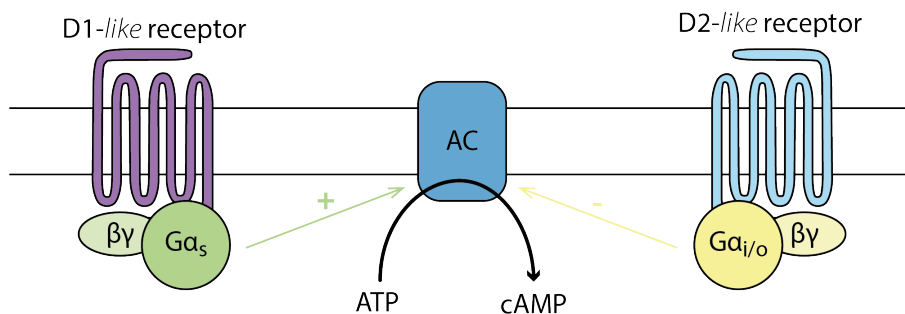


Figure 4 : Mécanisme d'action des récepteurs dopaminergiques D1-like et D2-like.

Le schéma représente la transduction du signal par les récepteurs de la dopamine de type D1 et D2, situés dans la membrane cellulaire : les récepteurs de type D1 (*D1-like receptor*) activent l'adénylate cyclase (AC) par la sous-unité $G\alpha_s$, entraînant une augmentation de la production d'AMPc (cAMP) à partir d'ATP ; les récepteurs de type D2 (*D2-like receptor*) inhibent l'adénylate cyclase (AC) par la sous-unité $G\alpha_{i/o}$, réduisant ainsi la production d'AMPc à partir d'ATP. D'après (Hedges, 2022).

Ainsi, les dMSN, exprimant à leur membrane des récepteurs D1-like seront activés par la DA alors que les iMSN, exprimant à leur membrane des récepteurs D2-like, seront inhibés par la dopamine.

Le modèle classique a été remis en question par les travaux de Mink (Mink, 1996) qui ont permis de comprendre comme les GB peuvent contrôler la sélection de programmes moteurs : le modèle « *Center-Surround* » ou « centre inhibiteur, contour excitateur ». Le concept de ce modèle repose sur le fait l'exécution d'un mouvement nécessite la suppression tous les programmes moteurs similaires ou compétitifs (McGregor and Nelson, 2019). Ainsi, la description d'une troisième voie au sein des GB a permis de réinterpréter le schéma du flux d'informations au sein de la boucle cortico-thalamo-corticale afin de produire un mouvement approprié. En effet, le NST reçoit des projections des cortex moteurs primaire et secondaire (Nambu et al., 1996) puis projette ensuite vers le GPi (Nambu et al., 2000). Le temps de conduction des informations du cortex au GPi est plus rapide *via* cette voie que par les deux voies classiques des GB ce qui le vaut son nom de « voie hyperdirecte ».

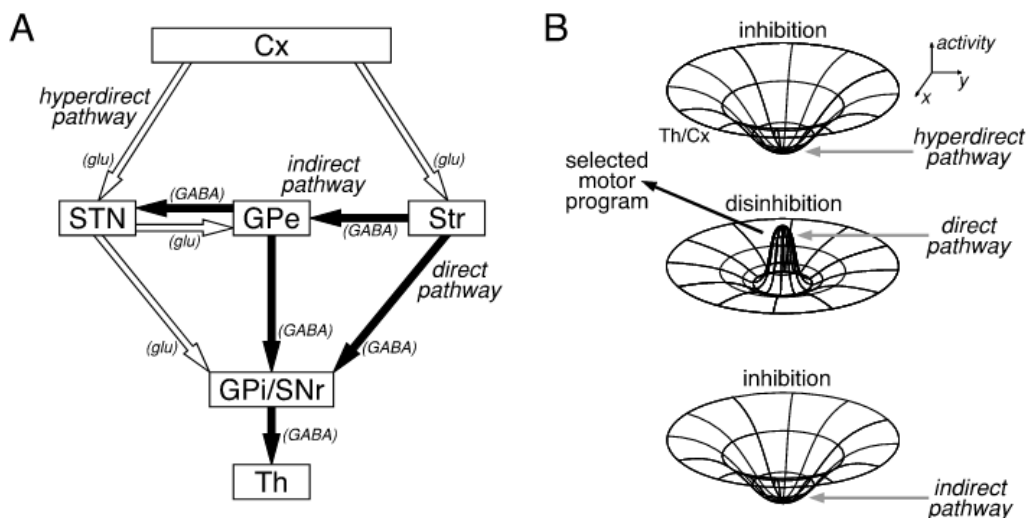


Figure 5 : Sélection des programmes moteurs via les trois voies des G.B

(A) Schéma des voies « hyperdirecte », « directe » et « indirecte ». Les flèches vides et pleines représentent respectivement les projections glutamatergiques (Glu) excitatrices et GABAergiques (GABA) inhibitrices. Cx, cortex cérébral ; GPe, globus pallidus externe ; GPI, globus pallidus interne ; SNr, substance noire *pars reticulata* ; NST, noyau sous-thalamique ; Str, striatum ; Th, thalamus.

(B) Modèle dynamique du fonctionnement des ganglions de la base expliquant les modifications d'activité dans le thalamus et/ou le cortex (Th/Cx) induites par des entrées successives via les voies hyperdirecte (haut), directe (milieu) et indirecte (bas). *D'après Nambu, 2004.*

Le modèle « *Center-Surround* » propose une action complémentaire des trois voies afin de sélectionner le bon programme moteur lors de la préparation, l'initiation et l'exécution d'un mouvement volontaire (Nambu, 2004).

- (1) Lors de l'activation des cortex moteur, la voie hyperdirecte permet un transfert rapide des informations corticales vers le GPI en passant par le NST permettant une inhibition rapide et massive du thalamus et du cortex afin de bloquer les programmes moteurs compétitifs (**Figure 5B, haut**).
- (2) Puis la voie directe entraîne la levée d'inhibition du thalamus permettant la sélection du bon programme moteur (**Figure 5B, milieu**).
- (3) Enfin, la voie indirecte active le GPI afin de rétablir l'inhibition du thalamus pour la mise en place du programme moteur (**Figure 5B, bas**).

II. La maladie de Parkinson

1. Développement de la maladie de Parkinson

a. Etiologie

La MP est définie selon la Société Internationale des Maladies de Parkinson et du Mouvement (*International Parkinson and Movement Disorders Society*) comme un « syndrome moteur (lors de l'examen clinique) nommé parkinsonisme accompagné de la neurodégénérescence de la SNc et d'un dépôt de synucléine » (Ben-Shlomo et al., 2024). Le diagnostic se fait uniquement selon des symptômes moteurs spécifiques car l'analyse anatomopathologique n'est possible que post-mortem.

La MP est considérée comme une maladie sporadique pour 95% des cas. En effet, seulement 5% sont des formes dites héréditaires ou monogéniques (Noyce et al., 2012). Néanmoins, réduire la MP à une origine strictement monogénique ou sporadique ne reflète pas la complexité de son déterminisme génétique. En réalité, un ensemble varié de mutations, avec des niveaux de pénétrance différents, met en évidence l'influence conjointe des facteurs génétiques individuels et de l'environnement. À une extrémité de ce spectre, des mutations à pénétrance élevée sont associées aux formes familiales de la maladie, tandis que des mutations à faible pénétrance ont été identifiées dans certaines formes sporadiques (Bogers et al., 2023).

De nombreuses études ont été menées sur les facteurs de risque du développement d'une MP. L'âge est un facteur de risque important : plus l'âge avance, plus le risque de développer une MP est augmenté. De plus, les hommes présentent une incidence, prévalence et mortalité plus forte que les femmes pour un ratio d'environ 1.4 homme pour 1 femme (Ben-Shlomo et al., 2024). L'exposition à des pesticides, la consommation d'eau non traitée ou encore la vie en milieu rural ont été décrites comme un risque accru de développer la MP. D'autres études ont montré que la

consommation de café, de tabac ou encore l'exercice avaient un effet protecteur (Noyce et al., 2012). Cependant, la causalité entre ces différents facteurs de risque ou facteurs de protection et le développement d'une MP n'a jamais été démontrée.

b. Symptômes

Les symptômes cliniques permettant le diagnostic de la MP correspondent de façon très similaire à ceux décrits en premier par James Parkinson au 19^{ème} siècle. Le symptôme moteur principal est la **bradykinésie**, caractérisée par un ralentissement de l'initiation d'un mouvement volontaire avec une diminution de la vitesse et de l'amplitude d'actions répétées qui doit être associée à un ou plusieurs des symptômes suivants : **rigidité musculaire ; tremblement au repos ; instabilité posturale** (Kalia and Lang, 2015).

En 1987, Fahn et Elton créent la *Unified Parkinson's Disease Rating Scale* (UPDRS) afin d'évaluer les symptômes moteurs de la MP (Fahn and Elton, 1987). Puis, le diagnostic de la MP a été standardisé au début des années 2000 par le Conseil Exécutif International de la *Movement Disorder Society* (MDS) et c'est ainsi qu'est créée l'échelle d'évaluation des symptômes de la MP utilisée par tous les neurologues à ce jour : la MDS-UPDRS qui inclut une meilleure évaluation des symptômes non moteurs, tels que les troubles cognitifs et psychiatriques en comparaison avec l'UPDRS originale (Disease, 2003).

La MDS-UPDRS se compose de quatre parties avec un total de 51 items. Chaque item est noté sur une échelle de 5 points, allant de 0 (pas de symptômes) à 4 (symptômes sévères). Il existe quatre grandes parties :

- Partie I : Évaluation des symptômes non moteurs (état mental, comportemental, thymique).
- Partie II : Activités de la vie quotidienne.
- Partie III : Évaluation motrice.
- Partie IV : Complications du traitement.

Bien que l'âge médian de diagnostic de la maladie soit compris entre 60 et 65 ans (Pagano et al., 2016; Raket et al., 2022; Twelves et al., 2003), l'apparition d'un ou plusieurs symptômes non-moteurs peut subvenir de nombreuses années auparavant. En effet, il a été décrit qu'une altération de l'olfaction, une constipation, des problèmes de sommeil et la survenue d'une dépression puissent précéder l'apparition des symptômes moteurs. Cette phase est nommée phase prodromale. De plus, les symptômes non-moteurs continuent à se développer et à se diversifier à la suite des premiers symptômes moteurs : fatigue, anxiété, douleur apparaissent chez de nombreux patients. Enfin, dans les stades plus avancés de la maladie, il n'est pas rare d'observer des altérations cognitives plus importantes (**Figure 6**, (Kalia and Lang, 2015)). Ces nombreux symptômes non-moteurs sont associés à une diminution importante de la qualité de vie des patients atteints de la MP.

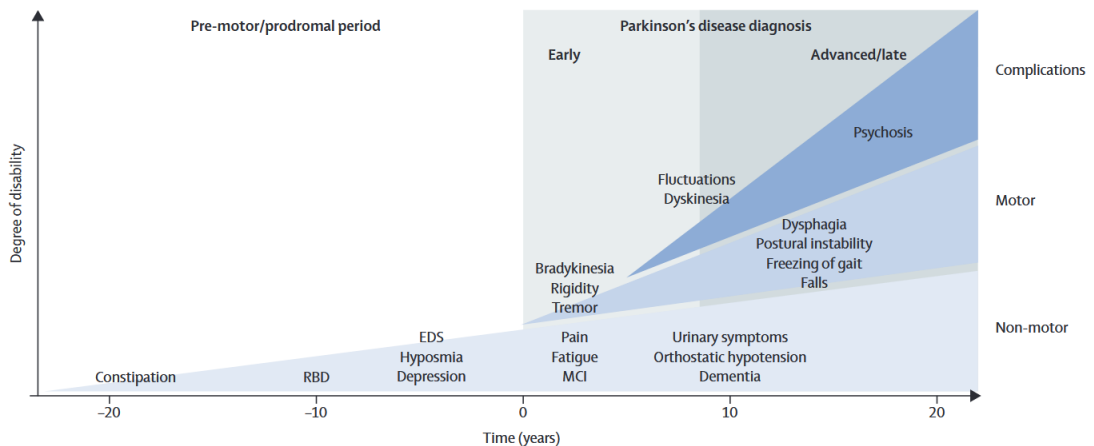


Figure 6 : Evolution des symptômes de la MP.

La phase prodromale correspond à la phase d'apparition de symptômes non-moteurs durant les 20 années avant le début des symptômes moteurs. Elle est suivie de deux phases : la phase précoce correspondant aux 10 premières années après le diagnostic durant lesquelles les symptômes moteurs de la MP sont bien corrigés par les traitements et la phase tardive durant laquelle apparaissent des effets secondaires liés au traitement mais aussi une aggravation des symptômes moteurs (instabilité posturale sévère avec forts risques de chute, blocage de la marche) et des symptômes non-moteurs (psychose, démence...).

EDS=Somnolence diurne excessive (*excessive daytime sleepiness*). MCI=Déficit cognitive léger (*mild cognitive impairment*). RBD=Trouble du comportement en sommeil paradoxal (*Rapid Eye Movement sleep behaviour disorder*). (Kalia and Lang, 2015).

L'évolution des symptômes moteurs, bien que ralentie par les traitements, entraîne une réduction importante de l'autonomie des patients notamment en augmentant le risque de chute qui accroît avec le temps et l'apparition du blocage de la marche. De plus, des effets secondaires liés à la prise de traitements à long-terme apparaissent avec le temps (Kalia and Lang, 2015).

c. Caractérisation des lésions cérébrales

Décrits pour la première fois par Friedrich Heinrich Lewy en 1912, les corps de Lewy (LB) forment les lésions cérébrales caractéristiques de la MP (Menšíková et al., 2022). Ils se présentent sous forme d'agrégats dont le composant principal est une protéine mal conformée : l' **α -synucléine**. La composition biochimique des LB a été décrite largement. Ces agrégats contiennent aussi de l'ubiquitine phosphorylée ou non, des neurofilaments ou encore des lipides et organites présents sous forme de fragments (Rocha Cabrero and Morrison, 2023).

C'est en 1997 que la protéine α -synucléine fut identifiée, à la suite de la découverte de la mutation de son gène SNCA présente chez certains patients avec une forme monogénique de la maladie (Spillantini et al., 1997). Les inclusions de protéines sont retrouvés dans les corps cellulaires (LB) ou les prolongements (LN : Neurites de Lewy) des neurones du système nerveux central (SNC) mais peuvent aussi se trouver au niveau du système périphérique (Kalia and Lang, 2015).

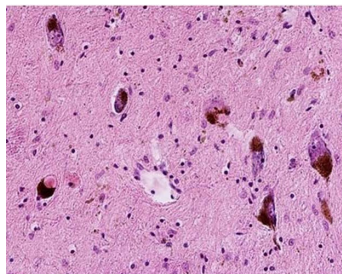


Figure 7 : Corps de Lewy

Corps de Lewy (brun) dans les neurones pigmentés de la SN après une coloration à l'hématoxyline et à l'éosine chez l'Homme (Menšíková et al., 2022).

d. Hypothèses du développement de la maladie

En 2003, Braak et ses collègues ont étudié la progression de la MP en analysant la propagation des LB dans le SNC (Braak et al., 2003). Ils ont ainsi proposé un modèle en six stades (**Figure 8**), qui semblent corrélés à l'apparition progressive des symptômes.

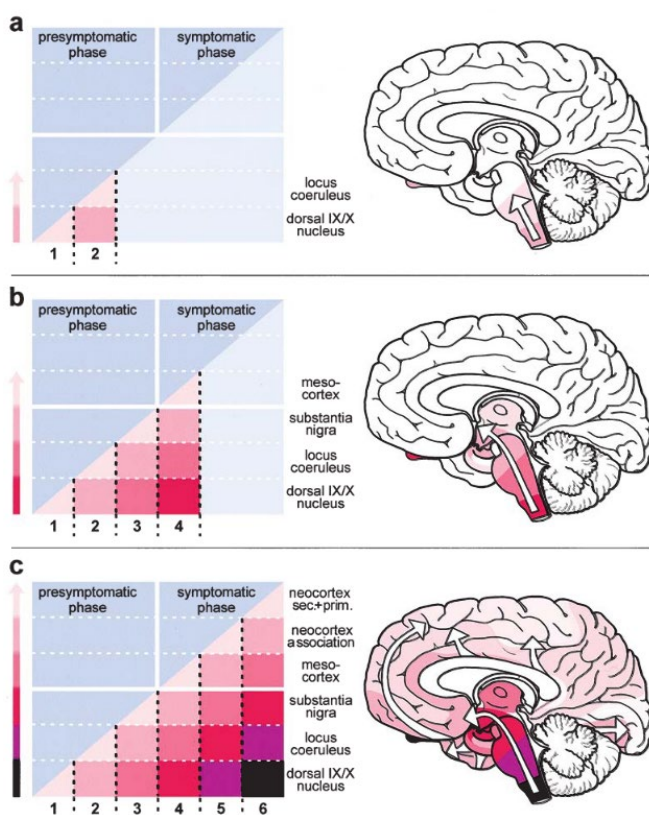


Figure 8 : Hypothèse de propagation de l'α-synucléine dans le SNC par Braak.

Il existe six stades d'évolution de la pathologie. (A) Les agrégats d'α-synucléine ou LB sont présents au niveau du bulbe olfactif et du noyau moteur du nerf vague : c'est le stade 1. Puis au stade 2, le locus coeruleus, le noyau réticulaire gigantocellulaire et les noyaux du raphé vont être atteints. (B) La propagation continue jusqu'à l'amygdale et la SNc au stade 3. Le stade 4 marque le début de la propagation au niveau du cortex cérébral (mésocortex). (C) Les aires associatives sont progressivement atteintes aux stades 5 et 6. *D'après Braak et al., 2003.*

A la suite du modèle de Braak, deux hypothèses ont émergées : « Le cerveau d'abord » (Brain-First) ou l'« Intestin d'abord » (Body-First) (Horsager and Borghammer, 2024). L'hypothèse « *Brain-First* » suggère que la MP débute dans le SNC, avec une atteinte précoce des structures olfactives. À l'inverse, l'hypothèse « *Body-First* » postule une origine périphérique, impliquant une première atteinte du système gastro-intestinal avant la propagation de la pathologie vers le cerveau. (Hawkes et al., 2007).

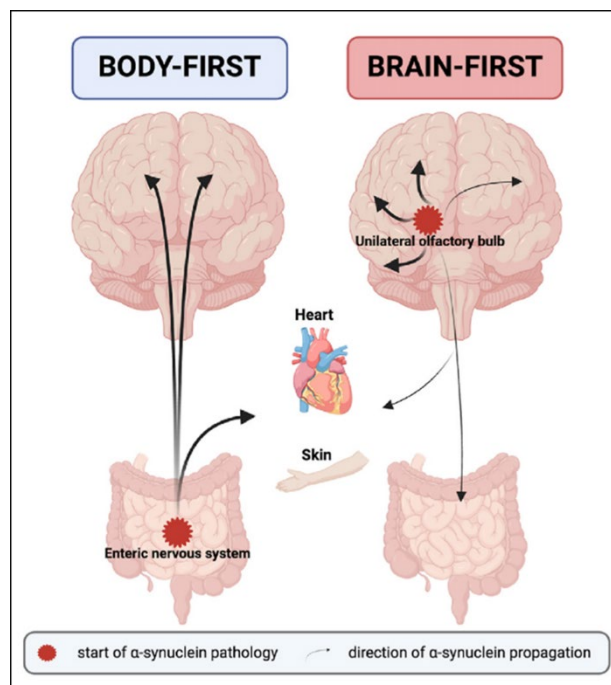


Figure 9 : Les deux hypothèses d'apparition des lésions de la MP.

Illustration simplifiée des trajectoires de propagation dans les modèles de la MP « *Body-First* » et « *Brain-First* ». Le modèle « *Body-First* » suggère un début de la MP au niveau du système nerveux entérique alors que le modèle « *Brain-First* » prône un départ de la propagation au niveau du bulbe olfactif dans le SNC. *D'après Horsager and Borghammer, 2024.*

D'une part, la perte d'odorat chez les patients, survenant bien avant l'apparition des troubles moteurs, ainsi que la présence d'agrégats d' α -synucléine dans le bulbe olfactif, ont été largement documentées (Horsager and Borghammer, 2024). Ces

observations appuient l'hypothèse d'un début de la maladie au niveau du système olfactif (Hawkes et al., 2007).

D'autre part, plusieurs éléments soutiennent l'hypothèse « *Body-First* ». Les dysfonctions du nerf vague, telles que la dysphagie et la sécheresse buccale, ainsi que les troubles gastro-intestinaux, notamment la constipation (Hawkes et al., 2007), sont présents dès la phase prodromale. Par ailleurs, un lien a été établi entre un déséquilibre du microbiote intestinal et la MP (Scheperjans et al., 2015). Enfin, la présence d'inclusions d' α -synucléine dans la paroi gastrique (Braak et al., 2006) suggère une possible origine périphérique de la maladie. La MP pourrait ainsi débuter dans le système nerveux entérique (SNE) avant de se propager de manière trans-synaptique au SNC *via* le nerf vague (Kalia and Lang, 2015). Selon cette hypothèse, les stades 1 et 2 correspondraient aux premiers signes non moteurs de la maladie, tandis que le stade 3 marquerait l'apparition des symptômes moteurs associés au diagnostic de la MP. Enfin, les stades 4 à 6 seraient caractérisés par l'aggravation des symptômes moteurs et l'émergence de troubles non moteurs plus invalidants, typiques des formes avancées de la maladie (Kalia and Lang, 2015).

2. Traitements & effets secondaires

a. La L-DOPA et ses effets secondaires

Le premier traitement visant à atténuer les symptômes de la MP fut élaboré à partir des recherches de Charcot dans les années 1860. Il découvrit que les alcaloïdes des solanacées pouvaient soulager certains patients, et l'arrivée de médicaments de synthèse mimant leur mode d'action dans les années 1950 permit d'établir une première thérapie standardisée.

Un tournant majeur eut lieu en 1957 avec les travaux d'Arvid Carlsson, qui mirent en évidence le rôle de la DA dans le contrôle du mouvement. Il parvint à mesurer directement la DA dans le cerveau et démontra qu'elle était particulièrement abondante dans le STR. Par ailleurs, des essais pharmacologiques utilisant le

précurseur de la DA, la DOPA (plus précisément son isomère L-DOPA (3,4-Di-hydroxy-L-phenylalanine) **Figure 10**), révélèrent que son administration permettait de restaurer les niveaux de DA dans le STR. Peu après, Oleh Hornykiewicz confirma cette hypothèse en mesurant les concentrations de DA dans le cerveau de patients atteints de la MP, mettant en évidence une déplétion marquée dans le STR. Cependant, ce n'est qu'en 1967 que le neurologue George Cotzias démontra que la L-DOPA pouvait être administrée de manière efficace et sécurisée, établissant ainsi les bases du traitement anti-parkinsonien toujours utilisé aujourd'hui (Fahn, 2015).

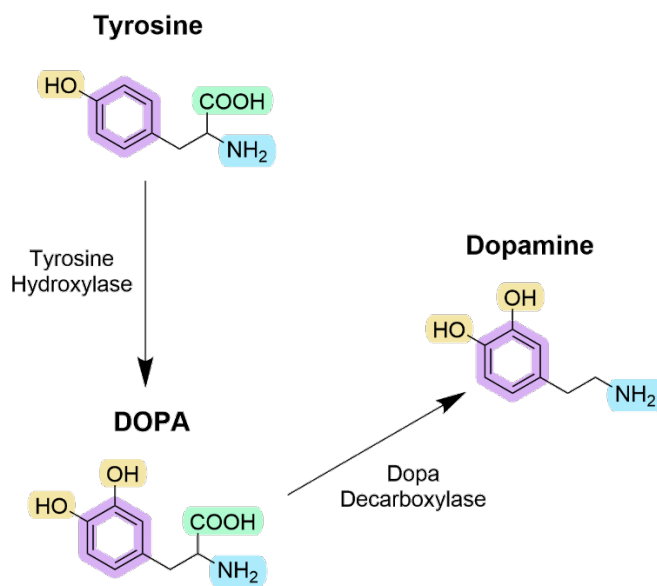


Figure 10 : Synthèse de la dopamine

La dopamine est synthétisée à partir de la tyrosine qui est convertie en DOPA par la tyrosine Hydroxylase. Puis la DOPA est convertie en Dopamine par le Dopa décarboxylase.

La L-DOPA, principal traitement des symptômes moteurs de la MP, entraîne cependant des effets secondaires indésirables. Après 5 à 10 ans de traitement, une majorité de patients développent des mouvements involontaires et incontrôlés appelés **dyskinésies induites par la L-DOPA** (DIL). D'abord modérées, ces dyskinésies peuvent devenir handicapantes et altérer significativement la qualité de vie des patients lorsqu'elles s'intensifient (**Figure 11**).

Les DIL se manifestent sous différentes formes de troubles du mouvement, parmi lesquels : la chorée (mouvements chaotiques, fluctuants, involontaires et non suppressibles), le ballisme (mouvements involontaires brusques, amples et violents), la dystonie (contractions musculaires involontaires et soutenues) et la myoclonie (contractions musculaires brèves et soudaines) (Pandey and Srivanitchapoom, 2017).

Elles peuvent être classées en trois catégories selon leur mode d'apparition :

- Les dyskinésies à dose maximale (80% des DIL) surviennent au pic d'efficacité du traitement.
- Les dyskinésies en période off (30% des DIL) apparaissent avant la première prise de traitement de la journée.
- Les dyskinésies diphasiques, qui se manifestent lors des transitions entre les phases « on » et « off » du traitement, c'est-à-dire dans les premières 15 minutes après la prise du traitement et dans les dernières minutes avant la prise d'une nouvelle dose.

Ces catégories se distinguent par le moment de leur survenue, mais aussi par les parties du corps impliquées (*pour une analyse plus détaillée, voir la revue de (Pandey and Srivanitchapoom, 2017)*).

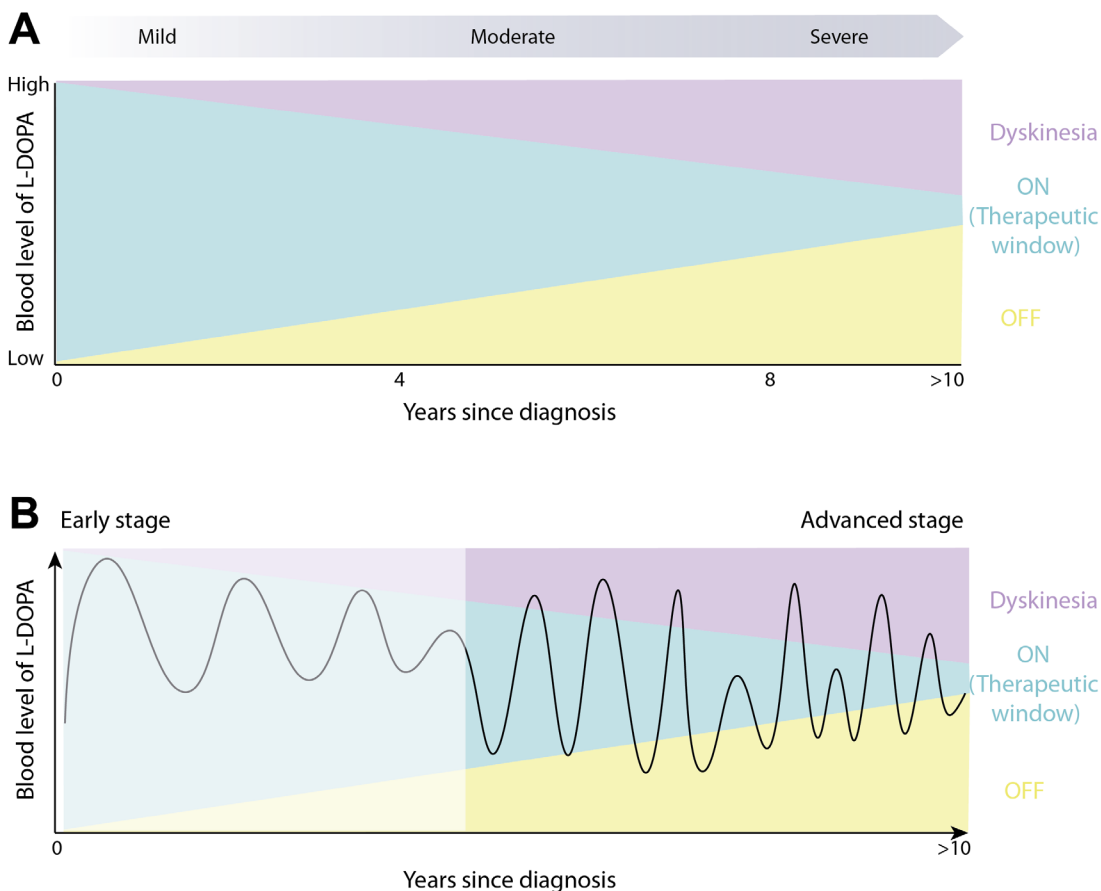


Figure 11 : Evolution de la survenue des DIL et des fluctuations au cours du temps

A. Durant les premières années de traitements, la fenêtre thérapeutique « ON » est large : les patients ont une réponse au traitement élevée et les symptômes moteurs de la MP sont contrôlés. Au contraire, les périodes « OFF » : périodes lors desquelles le traitement ne fonctionne plus correctement et où les symptômes moteurs de la MP reviennent, sont très courtes. Les périodes de dyskinesies : périodes lors desquelles les patients développent des mouvements involontaires et incontrôlés sont inexistantes durant les premières années de traitement. Après 5 ans, la réponse au traitement est de moins en moins adaptée : la fenêtre thérapeutique diminue et laisse place à des périodes « OFF » et de dyskinesies plus importantes. Des quantités insuffisantes de L-DOPA dans le sang entraînent la réapparition des symptômes de la MP (= périodes « OFF ») alors que des quantités trop importantes résultent en l'apparition de dyskinesies. **B.** Exemple hypothétique des fluctuations des niveaux de L-DOPA dans le sang entraînant des fluctuations motrices. Les patients vivent ainsi des périodes « OFF » au réveil, suivies d'une période « ON » après la prise du traitement qui se transforme en période dyskinétiq ue lorsque les niveaux de L-DOPA dans le sang sont au maximum. *Adaptée d'après Teymourian et al., 2022.*

Outre les dyskinésies, le traitement à long terme est également associé à des fluctuations motrices (**Figure 11**). La fenêtre thérapeutique tend à se réduire, entraînant des épisodes « OFF » et des temps avec DIL plus longs. En conséquence, les patients doivent non seulement augmenter le nombre de leurs prises médicamenteuses, mais ils subissent aussi des limitations motrices significatives durant la majeure partie de la journée, la fenêtre thérapeutique étant d'environ 1.5 heures (Olanow et al., 2006).

Le traitement à base de L-DOPA est aujourd'hui le plus efficace pour améliorer les symptômes moteurs de la MP. Cependant, les patients présentent également de nombreux symptômes non moteurs qui altèrent leur qualité de vie. Ainsi, la L-DOPA est souvent associée à d'autres médicaments afin de prendre en charge ces manifestations non motrices (Tenchov et al., 2025).

b. Autres traitements pharmacologiques

D'autres traitements pharmacologiques ont été développés pour compléter les effets de la L-DOPA, notamment les agonistes dopaminergiques et les inhibiteurs de la dégradation de la DA. Les agonistes dopaminergiques (agoniste des récepteurs D2/D3 : le ropinirole ; agoniste D2/3/4 : le pramipexole ; agoniste D1/2 : l'apomorphine), utilisés seuls pour mimer l'action de la DA ou en association avec la L-DOPA, présentent toutefois une efficacité limitée sur la réduction des symptômes moteurs et peuvent induire des effets secondaires psychiatriques chez de nombreux patients (Teymourian et al., 2022).

Les inhibiteurs de la dégradation de la DA agissent en bloquant des enzymes telles que la monoamine oxydase de type B (MAO-B) ou la catéchol-O-méthyltransférase (COMT). Ces molécules sont généralement utilisées en monothérapie aux premiers stades de la maladie ou en association avec la L-DOPA aux stades plus avancés, afin d'optimiser l'effet thérapeutique de cette dernière (Tenchov et al., 2025). Un des avantages majeurs de ces traitements (agonistes dopaminergiques ou inhibiteurs de recapture) réside dans leur capacité à réduire les fluctuations motrices.

c. Stimulation cérébrale profonde

La stimulation cérébrale profonde (DBS : *Deep Brain Stimulation*) consiste en l'implantation d'électrodes (**Figure 12**) dans des régions cérébrales spécifiques, telles que le NST ou le GPi. Cette technique permet de délivrer en continu des impulsions électriques à haute fréquence, modulant ainsi l'activité anormale des neurones et contribuant à atténuer les symptômes moteurs de la MP.

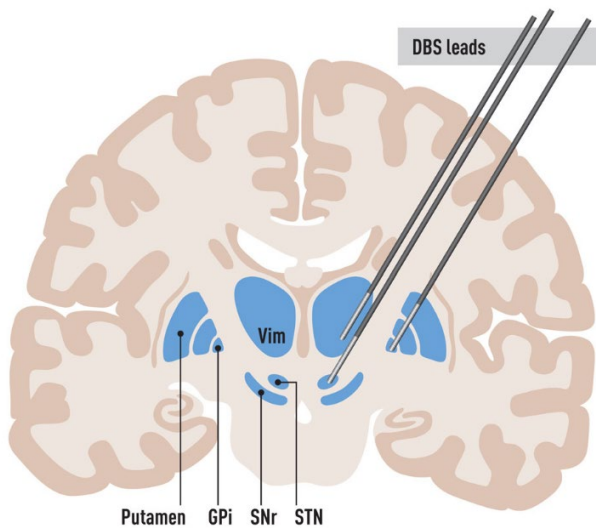


Figure 12 : Principe neurochirurgical de la stimulation cérébrale profonde

Schéma des GB et du thalamus avec les trois électrodes de stimulation placées dans trois régions différentes (NST, Thalamus et GPi) pour diminuer les symptômes moteurs de la MP. Abréviations : DBS : Stimulation cérébrale profonde ; GPi, Globus Pallidus interne ; SNr, substance Noire réticulée ; NST, Noyau sous-Thalamique ; Vim, Noyau ventral intermédiaire du Thalamus. *D'après Hariz and Blomstedt, 2022.*

En 1987, les neurochirurgiens A.L. Benabid et P. Pollak ont réalisé une avancée majeure en appliquant pour la première fois des stimuli électriques à haute fréquence au niveau du thalamus ventral (Vim). Cette technique a conduit à l'arrêt total du tremblement chez le patient en cours d'opération, sans engendrer d'effets secondaires négatifs (Hariz and Blomstedt, 2022).

A la suite de plusieurs études chez le primate (Benazzouz et al., 1993; Bergman et al., 1990), il fut démontré que la stimulation continue à haute fréquence du NST permettait de réduire l'akinésie, la rigidité, les fluctuations motrices mais aussi les tremblements. Ainsi, en 1995, les trois premiers patients atteints de la MP étaient

implantés avec des électrodes au niveau du NST afin de bénéficier du traitement (Limousin et al., 1995).

Aujourd'hui, trois régions d'implantation sont ainsi concernées, avec chacune leur principale cible thérapeutique (Hariz and Blomstedt, 2022) :

- Le Vim : pour réduire les tremblements
- Le GPi : pour les patients à un stade avancé de la maladie présentant des dyskinésies importantes
- Le NST : pour les patients à un stade avancé de la maladie.

Cependant, les critères d'inclusion des patients pour bénéficier de cette thérapie sont extrêmement restrictifs. Ainsi, seulement 5% des patients sont éligibles à la chirurgie (Morgante et al., 2007).

Des études récentes ont mis en évidence que des protocoles de stimulation cérébrale très ciblés pouvaient agir non plus sur des régions entières du cerveau — comme cela est classiquement le cas — mais directement sur des circuits neuronaux spécifiques, permettant ainsi une modulation plus fine et sélective. En tirant parti des propriétés synaptiques distinctes de deux populations neuronales du GPe, les neurones PV⁺ et Lhx6⁺ (*LIM Homeobox 6*), les chercheurs ont réussi à stimuler sélectivement les neurones PV⁺ tout en inhibant simultanément les neurones Lhx6⁺ (Spix et al., 2021). Cette approche a induit des effets thérapeutiques plus durables que ceux observés avec la DBS classique. Ces résultats innovants ouvrent la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant précisément des sous-populations neuronales.

3. Fonctionnement des GB en condition pathologique

Une dégénérescence progressive des neurones dopaminergiques de la SNc entraîne une diminution progressive de la libération de DA au niveau du STR. Le début des symptômes moteurs de la maladie semblent commencer lorsque 50 à 60% des neurones dopaminergiques de la SNc ont dégénéré, et qu'environ 80% de la DA

striatale est déplétée (Bernheimer et al., 1973; Dauer and Przedborski, 2003; Fearnley and Lees, 1991).

Le traitement pharmacologique à base de L-DOPA, bien qu'efficace dans un premier temps, entraîne après plusieurs années des DIL dont la physiopathologie n'a pas encore trouvé consensus.

De multiples études ont pu montrer que la difficulté à produire un mouvement en condition parkinsonienne et que la genèse de mouvements involontaires et incontrôlés (les DIL) pouvait reposer sur des changements d'activité de populations de neurones spécifiques. Deux hypothèses majeures ont émergé :

- Le modèle « *firing-rate* »
- Le modèle « *firing-pattern* »

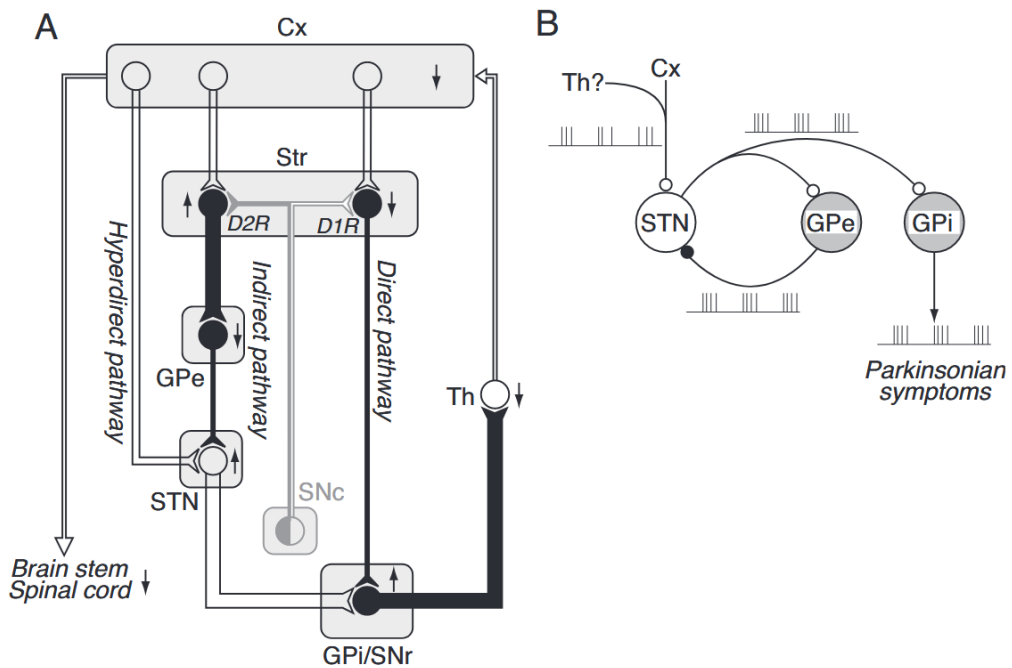


Figure 13 : Modèles « *Firing rate* » (A) et « *Firing pattern* » (B) expliquant la physiopathologie de la MP

A. Le modèle « *Firing Rate* » repose sur la modification de fréquence des certains groupes neuronaux. Ainsi, les modifications de connexions au sein des GB dans la MP sont représentées par la largeur ou la finesse des flèches. Les afférences excitatrices sont représentées en flèches vides et inhibitrices en flèches pleines. **B.** Le modèle « *Firing Pattern* » repose sur une modification du *pattern* de décharge de groupes neuronaux. Ainsi les structures regroupant ces groupes de neurones sont représentées par des ronds et les connexions les liant *via* le code (excitateur/inhibiteur) décrit en A. *Abréviations* : Cx, Cortex; D1R, D2R, récepteurs dopaminergiques de type 1 et 2 ; GPe and GPi, globus pallidus externe et interne; SNc and SNr, substance noire compacte et réticulée; NST, noyau sous-thalamique; Str, striatum; Th, thalamus. *D'après Nambu et al., 2015.*

a. Le modèle « *Firing-Rate* »

Le modèle « *Firing-Rate* » (**Figure 13**) propose que la modification de fréquence de décharge de certains neurones entraîne une dérégulation des GB. Des études menées sur des modèles rongeurs ou primates de la MP (*voir Modèles de la maladie*) ont montré une modification de l'activité des MSN (Parker et al., 2018; Ryan et al., 2018), une diminution de l'activité du GPe (Boraud et al., 1997; Fillion and Tremblay, 1991), une augmentation de l'activité du NST (Bergman et al., 1994) ainsi que du GPi (Boraud et al., 1996) et de la SNr (Delgado-Zabalza et al., 2023). Ce modèle est en accord avec les prédictions du modèle classique des GB de Albin et al. (**Figure 13A**) (Albin et al., 1989) selon lequel l'hyperactivité des structures de sortie conduit à une sur-inhibition du thalamus et du cortex, ce qui, cliniquement, se traduit par une difficulté à initier les mouvements.

De la même façon, le modèle « *Firing Rate* » suggère que la genèse des DIL résulterait d'une diminution de la fréquence de décharge moyenne des structures de sortie des GB (Boraud et al., 1997; Ryan et al., 2018).

Cependant, ce modèle a été remis en question par plusieurs études ayant manipulé l'activité des GB, montrant que la seule modification de la fréquence de décharge des neurones ne pouvait expliquer les symptômes moteurs observés en condition parkinsonienne (*pour plus de détails voir les revues de McGregor and Nelson, 2019; Nambu et al., 2015*).

b. Le modèle « Firing-Pattern »

Le modèle « *Firing-Pattern* » suggère que les symptômes de la MP seraient dus à une modification du mode de décharge (*pattern*) de certains neurones, entraînant une synchronisation accrue de l'activité neuronale au sein du circuit (McGregor and Nelson, 2019). Les salves de décharge (*bursts*) ou oscillations (*pattern* rythmiques ou répétitifs) ont été enregistrées dans les GB chez des rongeurs et des primates modèles de la MP ainsi que chez l'Homme atteint de cette pathologie (Bergman et al., 1994; Boraud et al., 1998; Delgado-Zabalza et al., 2023; Magill et al., 2001; Starr et al., 2005).

La première description d'une activité oscillatoire dans les GB de primates modèles de la MP a été réalisée par Bergman et ses collègues en 1994 (Bergman et al., 1994). Ils ont observé une augmentation significative du nombre de neurones présentant des oscillations dans le NST et le GPi chez des singes après une lésion des neurones dopaminergiques. De nombreuses études ont ensuite mis en évidence une activité oscillatoire excessive au sein des GB, notamment dans la gamme de fréquence β (12-20 Hz), aussi bien chez des modèles animaux de la MP que chez des patients (Alonso-Frech et al., 2006; Brown et al., 2001; Kühn et al., 2006; Mallet et al., 2008; Wichmann and Soares, 2006).

Le NST et le GPe semblent jouer un rôle clé dans la propagation de ces oscillations à travers les GB (**Figure 13B**). En effet, ces structures agiraient comme des « *pacemakers* » générateurs d'oscillations (Plenz and Kital, 1999), entraînant non seulement le GPi et la SNr mais aussi le cortex moteur (Goldberg et al., 2004; Sutton et al., 2013) ou encore le striatum (Sharott et al., 2017). La généralisation des oscillations β dans les GB seraient alors responsables d'une perturbation des informations au sein du circuit pouvant amener aux déficits moteurs caractéristiques de la MP.

Le traitement à base de L-DOPA permet de réduire l'activité oscillatoire β . Cependant, les DIL pourraient aussi être induites par l'apparition d'oscillations dans une gamme de fréquence comprise entre 4 et 10 Hz (Alonso-Frech et al., 2006).

D'autres études menées chez des modèles animaux de la MP ont montré que la genèse des DIL était corrélée à des oscillations γ de haute fréquence (60-80 Hz) dans le cortex (Güttler et al., 2021; Halje et al., 2012) mais aussi dans le GPi et le NST, structures dans lesquelles ces oscillations semblent être synchronisées (Brown et al., 2001).

À ce jour, le mécanisme sous-jacent à l'apparition des oscillations reste indéterminé. Il n'est pas encore clair si ces oscillations sont la cause, la conséquence ou un mécanisme compensatoire des symptômes moteurs de la maladie.

4. Modèles de la MP

Le manque de traitements efficaces pour soigner ou même retarder l'apparition de la MP a conduit à de nombreuses recherches précliniques. Ainsi, divers modèles de la MP ont été développés pour répondre aux questions scientifiques soulevées, et qui demeurent encore pertinents aujourd'hui. Aucun modèle ne parvient à reproduire parfaitement la pathogénèse de la maladie, mais chacun présente des avantages et des limites qui permettent d'étudier les différents mécanismes et symptômes, qu'ils soient à l'origine ou la conséquence de la MP.

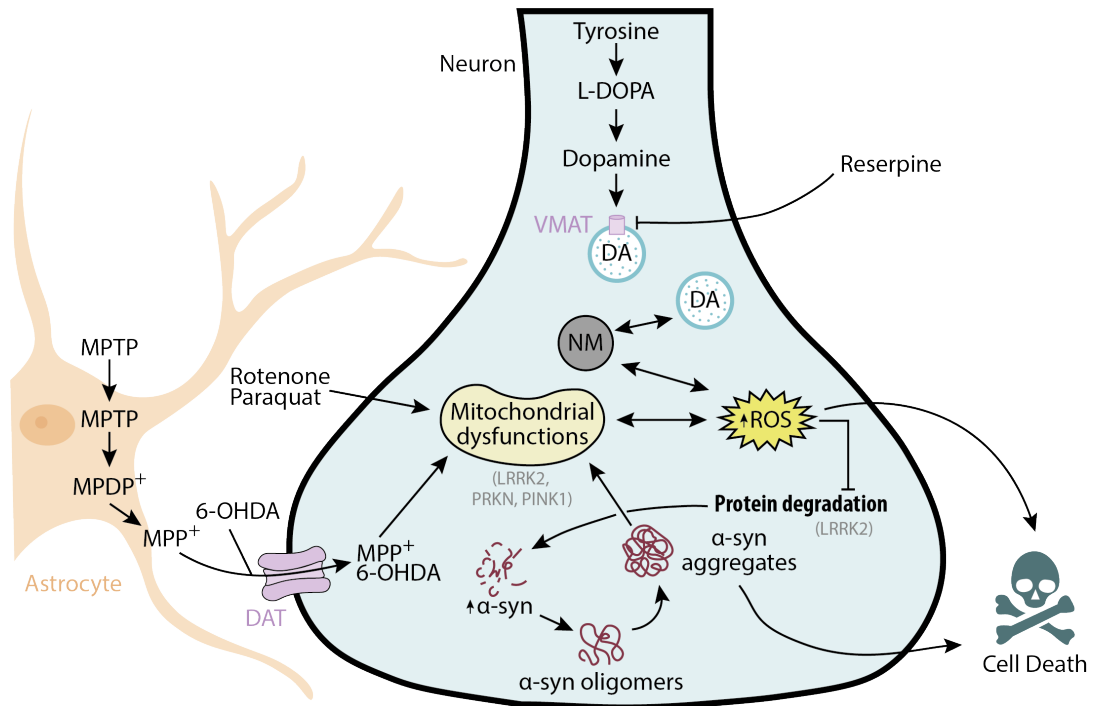


Figure 14 : Schéma représentant les mécanismes des différents gènes et composés utilisés pour créer des modèles de la MP.

La mort des neurones dopaminergiques peut être due à des dysfonctions mitochondriales, la dégradation de protéines ou encore l'agrégation d' α -syn causées par les agents neurotoxiques (rotenone, paraquat, MPTP, 6-OHDA, Réserpine) ou des altérations génétiques (sur les gènes LRRK2, PRKN, PINK1 par exemple). *Abréviations* : DA : dopamine ; DAT : transporteur de la dopamine ; NM : neuromélanine ; VMAT : transporteur vésiculaire des monoamines. *D'après Dovonou et al., 2023.*

Le **modèle MPTP** (1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) est le modèle le plus utilisé et décrit aujourd'hui pour la MP. Cette neurotoxine a été découverte en 1982 lorsque des jeunes consommateurs de drogues s'administraient de façon intraveineuse de l'héroïne synthétique contenant du MPTP et développaient des symptômes parkinsoniens (Langston et al., 1983). Le MPTP a la capacité de passer facilement la barrière hémato-encéphalique (BHE) et d'être ensuite transformé, après l'action d'enzymes et de réactions en chaîne, en MPP⁺ (1-méthyl-4-phenylpyridinium). Ce composé est capté par le transporteur de DA (DAT) et le transporteur de noradrénaline (NET) dans les neurones DA et noradrénergiques ce qui entraîne

la genèse d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) à l'origine de la mort de ces neurones par auto-toxicité (**Figure 14**). (Nicklas et al., 1987; Ramsay and Singer, 1986; Takahashi et al., 1997).

Ce modèle reproduit presque tous les symptômes moteurs de la MP : le tremblement au repos, la rigidité, la bradykinésie, l'instabilité posturale et enfin le blocage de la marche (Porras et al., 2012). Il est surtout utilisé chez le primate et les souris car les rats sont résistants au MPTP. Le composé est administré *via* injection intrapéritonéale (Jackson-Lewis and Przedborski, 2007) en plusieurs doses chez les souris et par voie intramusculaire, sous-cutanée, intraveineuse, ou encore intracérébrale chez le primate (Porras et al., 2012). L'injection de MPTP cause la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la SNc à plus de 50% et une diminution des niveaux de DA au niveau du STR, à l'origine des symptômes moteurs observés chez les animaux modèles (Ding et al., 2008; Porras et al., 2012).

Le **modèle 6-OHDA** (6-hydroxydopamine) a été utilisé pour la première fois chez le rat en 1975 par Mendez et Finn (Mendez and Finn, 1975). Par une injection stéréotaxique unilatérale de 6-OHDA dans la SNc, ils ont observé une dégénérescence des neurones nigrostriés, affectant à la fois les corps cellulaires et leurs terminaisons, ainsi qu'une réponse des rats au traitement dopaminergique. Des études ultérieures ont confirmé que la lésion des neurones dopaminergiques de la SNc entraîne des symptômes moteurs marqués, tels qu'une hypokinésie de la patte antérieure ipsilatérale à la lésion, des rotations ipsilatérales et des asymétries motrices (Ungerstedt, 1968). Ainsi, le modèle ne reproduit pas les LB ou encore l'agrégation d' α -synucléine mais reste un modèle très intéressant pour étudier les symptômes moteurs de la MP et les DIL. Ce modèle mime un stade tardif de la MP avec une perte importante des neurones dopaminergiques de la SNc (>90%).

La 6-OHDA, isolée par Senoh et Witkop en 1959 (Senoh and Witkop, 1959), est un analogue structurel de la DA. Contrairement au MPTP, elle ne traverse pas la BHE, rendant son injection intracérébrale nécessaire. Cette toxine présente une forte affinité pour le DAT et le NET. Afin de préserver les neurones noradrénergiques et de cibler spécifiquement les neurones dopaminergiques, une injection

intrapéritonéale d'un inhibiteur du NET, la désipramine, est administrée 30 minutes avant l'injection intracérébrale de 6-OHDA (Roberts et al., 1975). Une fois internalisée par le DAT, la 6-OHDA induit plusieurs effets toxiques intracellulaires : elle génère des ROS et altère la machinerie mitochondriale (**Figure 14**), notamment les complexes I et IV de la chaîne respiratoire ; entraînant ainsi la mort des neurones dopaminergiques.(Glinka and Youdim, 1995; Kumar et al., 1995; Lotharius et al., 1999).

Trois principaux modèles d'induction de la MP par la 6-OHDA se distinguent selon le site d'injection : la SNc, le STR ou le Faisceau Médian du Télencéphale (FTM, *mais on gardera l'acronyme de la traduction anglaise MFB*). Le modèle striatal permet d'étudier la progression des symptômes parkinsoniens, la déplétion des corps cellulaires nigrostriés atteignant 50% après 16 semaines et celle des terminaisons dopaminergiques 50% après une semaine (Sauer and Oertel, 1994). En comparaison, les lésions de la SNc ou du MFB induisent une dégénérescence plus rapide, avec une perte de 50% des corps cellulaires en une semaine et de 80% des terminaisons dans le même laps de temps (Rentsch et al., 2019).

Au-delà des symptômes moteurs, le modèle 6-OHDA reproduit également des altérations non motrices caractéristiques de la MP, telles que des troubles cognitifs (anxiété, dépression, agressivité, perturbations des interactions sociales), des dysfonctionnements gastro-intestinaux (ralentissement du péristaltisme et troubles de la propulsion) ainsi qu'une hypersensibilité à la douleur (Branchi et al., 2008; Charles et al., 2018; Colucci et al., 2012).

D'autres modèles sont utilisés pour étudier la MP, les principales étant récapitulés dans le **Tableau 1**.

TYPE DE MODÈLES (EXEMPLES)	HÔTE	AVANTAGES DES MODÈLES	DÉSAVANTAGES DES MODÈLES
Toxine (réserpine)	Singe, Rat, Souris, Zebrafish, Drosophile (Goldstein et al., 1975; Santos et al., 2013)	Apparition graduelle des déficits moteurs Troubles mémoire Dégénérescence nigrostriatale (corps cellulaires SNc + ↓TH STR)	Arrêt injections réserpine : ↓ déficits moteurs ↑TH STR, troubles mémoire =
Agrochimique Pesticides (Roténone)	Rat, Souris, Drosophile, <i>C. Elegans</i> (Betarbet et al., 2000; Cicchetti et al., 2010, 2005; Greenamyre et al., 2010; Inden et al., 2007; Manning-Bog et al., 2002)	<u>Roténone</u> : = MP humaine : exposition ↑ risque Agrégation α-syn SNc Dégénérescence nigrostriatale (corps cellulaires SNc + terminaisons) Déficits moteurs Etude traitements	Variabilité inter-individuelle -> reproductibilité difficile Non-spécificité des symptômes périphériques Non-reproduction des symptômes non-moteurs et périphériques
Génétique (RKN, PINK1, LRRK2)	Souris, Drosophile, <i>C. elegans</i> (Beccano-Kelly et al., 2015; Clark et al., 2006; Noda et al., 2020; Xiong et al., 2018; Yue et al., 2015)	Dégénérescence, altérations synaptique, ↓transmission DA, déficits comportementaux (LRRK2) Dysfonctions mitochondriales, neuroinflammation (PRKN, PINK1, LRRK2)	Pas de formation de LBs, d'agrégats d'α-synucléine Déficits moteurs moyennement récapitulés et tardivement
α-syn (Virus α-syn, PFF)	Singe, Rat, Souris (Björklund et al., 2022; Chung et al., 2009; Decressac et al., 2012; Ip et al., 2017; Izco et al., 2021)	Etudier propagation α-syn Formation de LBs Dégénérescence progressive Déficits moteurs Neuroinflammation	Variabilité des effets selon les modèles (en fonction de l'âge, la lignée, le sexe, l'espèce)
In vitro (Neuroblastomes humains, neurones/fœtus de rongeurs, computationnel)	Lignées et culture cellulaires, Cultures organotypiques, Organoïdes, « <i>Organ-on-a-ship</i> », Intelligence artificielle <i>Voir la revue</i> (Lal et al., 2024)	Modifications génétiques plus simples Pas problème éthique, ↓expérimentation animale Etudier agrégation α-syn, stress oxydatif, manipulation génétique, effets de traitements	Impossibilité d'évaluer les déficits moteurs et non-moteurs de la maladie Les cellules sont étudiées en dehors de leurs circuits fonctionnels ou les circuits fonctionnels sont reproduits en limitant la complexité cérébrale

Tableau 1 : Autres modèles utilisés pour étudier la MP

III. Le Globus Pallidus Externe

L'implication du GPe dans le contrôle moteur est bien établie en raison de sa position centrale au sein des GB. Toutefois, de nombreuses études ont également mis en évidence son rôle dans de multiples fonctions non motrices. Il a notamment été associé aux réponses émotionnelles telles que le comportement de peur, le stress et l'anxiété (Giovanniello et al., 2020; Lee et al., 2020; Sztainberg et al., 2011), les troubles psychiatriques comme l'addiction ou la dépression (Baker et al., 2023; Beier et al., 2017; Gos et al., 2024; Griffiths et al., 2015; Kang et al., 2025) ou encore la

prise de décision (Kubota et al., 2024) et le sommeil (Yuan et al., 2017; Zheng et al., 2023).

Au cours des vingt dernières années, les recherches sur le GPe ont profondément remis en question sa conception traditionnelle comme simple relais d'information dans la voie indirecte des GB. Sa complexité cellulaire et sa connectivité bidirectionnelle en font un centre d'intégration majeur au sein des GB. Le GPe jouerait ainsi un rôle clé dans les mécanismes de sélection motrice, bien au-delà de la vision initialement linéaire de son fonctionnement.

1. Composition cellulaire

Le GPe est composé à 95% de neurones GABAergiques et contient une petite proportion de neurones cholinergiques (**Figure 15**) (Abdi et al., 2015). De plus, chez le rat et le primate, quelques neurones (<1%), considérés comme interneurons putatifs, exprimeraient la CR et certains neurones de projection (<2%) exprimeraient la CALB (Cooper and Stanford, 2002; Fortin and Parent, 1994).

Les **neurones cholinergiques** expriment la choline acétyltransférase (ChAT) et relargue, au niveau de leurs structures cibles, de l'acétylcholine (ACh). Des études récentes ont montré que ces neurones co-relarguent aussi du GABA (Saunders et al., 2015) et que la plupart coexpriment le facteur de transcription Nkx2.1 (*NK2 homeobox 1*) (Abdi et al., 2015). Ces neurones sont localisés dans la partie rostrale du GPe et s'étendent le long de sa bordure, en continuité avec les autres structures descendantes des GB (Guo et al., 2016). Ils possèdent un soma volumineux et une arborisation axonale étendue et présentent une signature électrophysiologique distincte. Ils deviennent actifs spontanément à la maturité sexuelle et leur activité se caractérise par de larges potentiels d'action (PA) et une fréquence de décharge relativement basse, autour de 4 Hz. Contrairement aux autres neurones du GPe, ils ne présentent pas de courant I_H (Saunders et al., 2015).

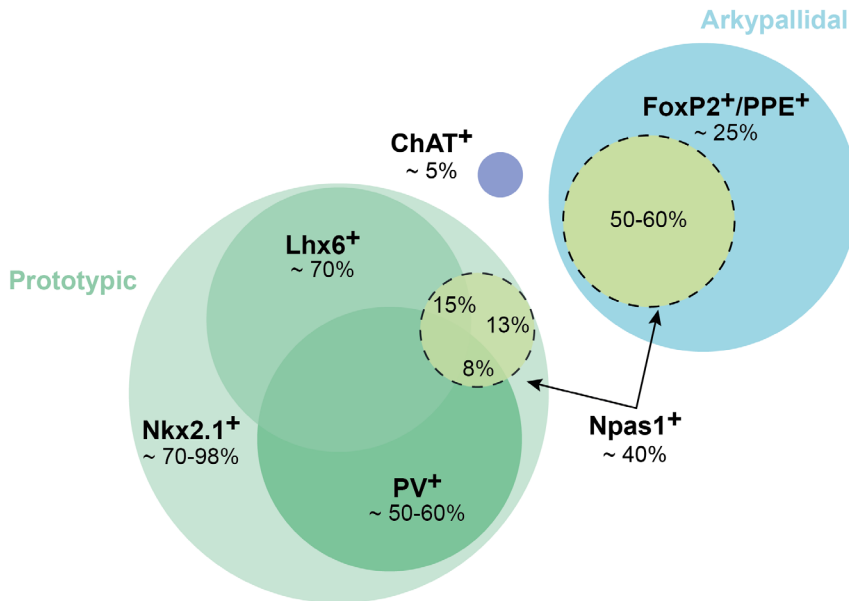


Figure 15 : Classification moléculaire des neurones du GPe

5% des neurones du GPe sont cholinergiques, la majorité (95%) est GABAergique. Deux sous-populations GABAergiques sont présentes dans le GPe. Les neurones PRO (70-98%) et les neurones ARKY (25%) qui se distinguent par l'expression de marqueurs moléculaires spécifiques. Alors que les neurones ARKY expriment le facteur de transcription FoxP2 et le précurseur PPE (pré-pro-énképhaline), les neurones PRO expriment le facteur de transcription Nkx2.1. D'autres marqueurs peuvent être utilisés mais correspondent à des sous-populations de neurones PRO : la protéine PV est exprimée par 50 à 60% des neurones PRO alors que le facteur de transcription Lhx6 est exprimé par 70% des neurones PRO. Ces deux marqueurs colocalisent chez certains neurones PRO. Une sous-population du GPe regroupe une partie des neurones ARKY et des neurones PRO et représente environ 40% des neurones du GPe : ce sont les neurones Npas1⁺. *Modifiée de Guilhemsang and Mallet, 2024.*

Les **neurones GABAergiques** peuvent être sous-divisés en deux grandes populations : les neurones prototypiques (PRO) et les neurones arky pallidaux (ARKY), dichotomie mise en évidence par les travaux de Mallet et collègues en 2012 (Mallet et al., 2012). Ces deux types neuronaux se distinguent par leurs caractéristiques moléculaires (**Figure 15**), électrophysiologiques et de connectivité. Cependant, les deux sous-populations sont réparties de manière uniforme dans le GPe le long des axes antéro-postérieur et rostro-caudal (Abdi et al., 2015; Abecassis et al., 2020).

Les neurones PRO représentent 60 à 70% des neurones GABAergiques du GPe (Abdi et al., 2015; Abecassis et al., 2020; Dodson et al., 2015). Bien qu'ils expriment plusieurs marqueurs moléculaires, ils partagent tous l'expression du facteur de transcription Nkx2.1, qui constitue un marqueur commun. Environ 70 % d'entre eux coexpriment également le facteur de transcription Lhx6 (*LIM Homeobox 6*), et 50 à 60 % expriment la protéine PV (Abdi et al., 2015; Mallet et al., 2012).

Les neurones ARKY, quant à eux, constituent environ 25 % des neurones GABAergiques du GPe. Ils se caractérisent par un profil moléculaire distinct, non chevauchant avec celui des neurones PRO. Le facteur de transcription FoxP2 (*Forkhead-box P2*) est exprimé par l'ensemble des neurones ARKY, lesquels coexpriment également, pour la quasi-totalité, la pré-pro-énképhaline (PPE), un précurseur de la protéine énképhaline (Abdi et al., 2015; Mallet et al., 2012). D'après les travaux de Hoover et Marshall (Hoover and Marshall, 2004), les neurones PPE⁺ du GPe exprimeraient aussi le récepteur D2 dopaminergique. Cependant, la coexpression PPE/D2 par les neurones ARKY n'a pas été démontrée depuis.

Par ailleurs, une sous-population neuronale exprimant le facteur de transcription Npas1 (*Neuronal PAS domain protein 1*) inclut 70-80% des neurones ARKY (FoxP2⁺) ainsi qu'environ 35 % des neurones PRO (Abdi et al., 2015; Abecassis et al., 2020). Ces neurones présentent la particularité de projeter vers le STR (*cf. Introduction-III.2.a*).

La distinction entre les neurones PRO et ARKY trouve son origine dans leur développement embryonnaire. La majorité des neurones du GPe provient de l'éminence ganglionnaire médiale (MGE), où l'expression de Nkx2.1 est observée (Flandin et al., 2010). Cependant, environ un quart des neurones pallidiaux sont générés en dehors du domaine Nkx2.1⁺ de la MGE (Nóbrega-Pereira et al., 2010). En complément, les travaux de Dodson (Dodson et al., 2015) ont montré que les neurones exprimant FoxP2 proviennent de l'éminence ganglionnaire latérale (LGE) et de l'éminence ganglionnaire caudale (CGE) (Dodson et al., 2015).

Nkx2.1 est également exprimé au niveau de l'aire préoptique (PoA) et des études ont montré que quelques neurones pallidaux provenaient de cette région (Nóbrega-Pereira et al., 2010).

Des travaux menés sur des lignées de souris transgéniques *Dbx1-cre* (*Developing Brain Homeobox 1*) ont par ailleurs révélé qu'une partie des neurones PV-géataifs (PV-) du GPe proviennent de la PoA et dérivent de progéniteurs *Dbx1*⁺ (Abecassis et al., 2020; Gelman et al., 2011; Nóbrega-Pereira et al., 2010).

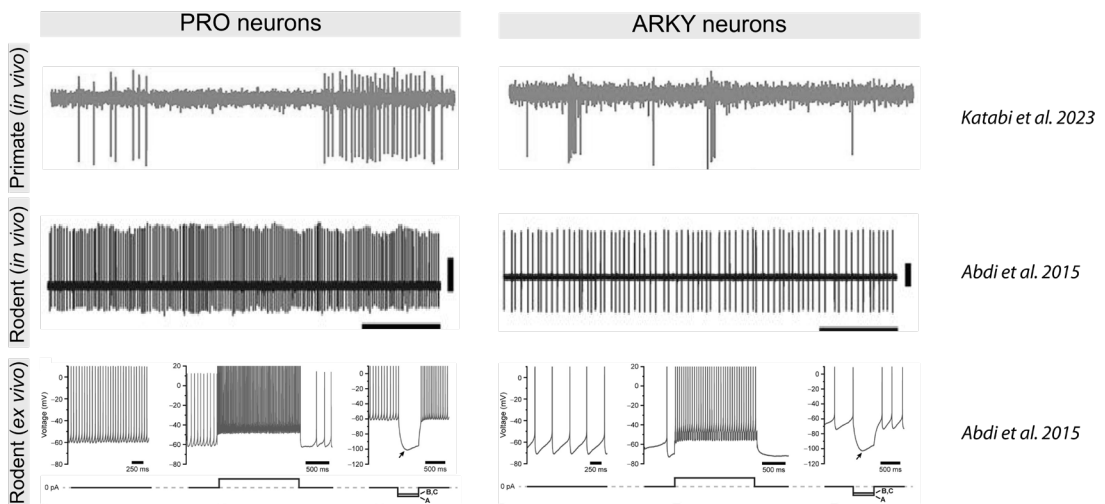


Figure 16 : Activité des neurones PRO et ARKY enregistrés chez le primate et le rongeur.

L'activité spontanée des neurones pallidaux a pu être enregistrée chez différentes espèces et dans différents modèles (*in vivo* ou *ex vivo*). La différence principale entre les deux types de neurones, qui est commune à chaque espèce/modèle est liée à la fréquence de décharge qui est plus élevée chez les neurones PRO que chez les neurones ARKY. Les neurones ARKY présentent une activité sous forme de bouffée chez le primate, qui n'est pas retrouvée chez le rongeur, chez qui ils présentent plutôt une activité irrégulière comparée à celle des neurones PRO. *Modifiée de Abdi et al., 2015; Katabi et al., 2023; Mallet et al., 2012.*

Les neurones PRO et ARKY se distinguent également par des caractéristiques électrophysiologiques spécifiques (**Figure 16**).

Les neurones PRO présentent une fréquence de décharge élevée comprise entre 15 et 50 Hz chez le rongeur et atteignant 70 à 80 Hz chez le primate. Leur activité est régulière et souvent qualifiée d'activité « *pacemaking* » (Abdi et al., 2015; Filion and

Tremblay, 1991; Katabi et al., 2023; Kovaleski et al., 2020; Mallet et al., 2012) due à l'expression de canaux sodiques voltage-dépendants médiant un courant sodique persistant I_{NaP} (Chan et al., 2004).

A l'inverse, les neurones ARKY présentent une fréquence de décharge plus basse, généralement comprise entre 0 et 15 Hz chez le rongeur comme chez le primate et même, semblerait-il, chez l'Homme (Hutchison et al., 1994). Leur activité est irrégulière, voire « *bursty* » *in vivo*. Des enregistrements *ex vivo* ont montré que les neurones ARKY sont moins excitables que les neurones PRO car ils présentent une fréquence de décharge induite inférieure (Abdi et al., 2015; Fillion and Tremblay, 1991; Katabi et al., 2023; Mallet et al., 2012).

Enfin, les neurones ne constituent pas l'unique type cellulaire présent dans le GPe. La glie y est abondante, en particulier les astrocytes, qui jouent un rôle crucial dans la régulation de la transmission synaptique. Des études récentes suggèrent que ces cellules gliales interviennent notamment dans la modulation des récepteurs métabotropiques du glutamate au niveau des synapses striatopallidales (Chazalon et al., 2018; Cui et al., 2016; Lange et al., 1976). D'autres travaux ont démontré que les rôles complémentaires des astrocytes pallidaux et des neurones PRO, sont cruciaux pour l'optimisation, la flexibilité et l'adaptation des comportements de recherche de récompense (Kang et al., 2025, 2023; Yang et al., 2025).

2. Connectivité

a. Afférences

Afférences excitatrices

De récentes études ont mis en évidence l'existence des **connexions cortico-pallidales** principalement issues des cortex moteurs et somatosensoriels. Ces projections représenteraient 10% des afférences totales du GPe (Abecassis et al., 2020) et leur force synaptique, sur des préparations *ex-vivo*, serait comparable à celle des connexions cortico-sous-thalamiques (Karube et al., 2019). Les neurones pyramidaux des cortex moteurs primaires (MOp) et secondaires (MOs), situés majoritairement dans les couches 5 et 6, innervent les deux principales sous-populations du GPe avec une préférence significative pour les neurones ARKY (Karube et al., 2019). Le MOs contribuerait majoritairement à cette innervation, comme en témoigne une densité de boutons axonaux plus élevée comparée à celle issue du MOp (Karube et al., 2019).

Par ailleurs, des études anatomiques ont révélé l'existence de **connexions thalamo-pallidales** chez le rat et le primate. Chez ce dernier, le traçage antérograde d'un neurone du thalamus parafasciculaire (Pf), projetant à la fois vers le STR et le cortex, a mis en évidence une collatérale dirigée vers le GPe (Parent and Parent, 2005). Chez le rat, le traçage antérograde des neurones du Pf et du noyau centrolatéral du thalamus a révélé la présence de boutons axonaux au sein du GPe médian ainsi que dans le STR dorsolatéral à dominance sensorimotrice (Yasukawa et al., 2004).

L'afférence glutamatergique principale provient du **NST**. Chez le primate, le traçage antérograde des neurones du NST a mis en évidence des connexions directes avec le GPe (environ 10 %), ainsi que des collatérales de neurones projetant vers le GPI ou la SNr (Fumi Sato et al., 2000). Toutefois, la spécificité d'innervation des deux sous-populations du GPe ne fait pas consensus. Certaines études indiquent que la stimulation du NST induit des réponses post-synaptiques excitatrices chez les neurones ARKY et PRO, avec un biais en faveur des neurones PRO (Aristieta et al.,

2021; Ketzef and Silberberg, 2021). En revanche, d'autres travaux menés *in vivo* montrent que l'optoactivation du NST génère des réponses opposées chez ces deux sous-populations (Aristieta et al., 2021; Johansson and Ketzef, 2023) : les neurones PRO étant fortement activés tandis que la majorité des neurones ARKY présentent une inhibition marquée de leur activité en réponse à la stimulation du NST.

Afférences inhibitrices

Le STR constitue l'une des deux principales sources d'afférences inhibitrices du GPe. Dans le modèle classique des GB, les iMSN innervent le GPe (Albin et al., 1989). Toutefois, des études récentes ont mis en évidence la présence de collatérales issues des dMSN vers le GPe. Celles-ci représenteraient une densité synaptique supérieure à la moitié de celle observée au niveau de la SNr (Cazorla et al., 2014; Labouesse et al., 2023). L'optoactivation des dMSN induit une inhibition de l'activité basale des neurones du GPe, quoique cette inhibition soit moins marquée que celle provoquée par l'activation des iMSN (Cazorla et al., 2014). Il a également été suggéré que l'excitabilité des iMSN, modulée par les récepteurs D2, est suffisante pour influencer la croissance des collatérales des dMSN (Cazorla et al., 2014).

Des études fonctionnelles ont pu montrer que les iMSN inhibent à la fois les neurones ARKY et PRO, avec un biais en faveur des neurones PRO. En effet, leur optoactivation entraîne une inhibition marquée des neurones PRO et une inhibition plus modérée des neurones ARKY (Johansson and Ketzef, 2023; Ketzef and Silberberg, 2021). Il a aussi été montré que les iMSN peuvent induire une désinhibition des neurones ARKY (Aristieta et al., 2021; Ketzef and Silberberg, 2021). À l'inverse, les dMSN projettent également sur les deux sous-populations du GPe, mais avec une préférence pour les neurones ARKY. L'optoactivation des dMSN provoque une forte inhibition des neurones ARKY et une inhibition plus faible, moins homogène, des neurones PRO (Cui et al., 2021a; Johansson and Ketzef, 2023; Ketzef and Silberberg, 2021).

D'autres études se sont intéressées à l'organisation spatiale des projections striatales au sein du GPe. Il a été montré que les iMSN et dMSN partagent une zone de projection commune dans le GPe, ce qui suggère une potentielle coopération

fonctionnelle entre les deux types de neurones dans cette région (Okamoto et al., 2020).

Au cours des deux dernières décennies, plusieurs études se sont intéressées à la répartition des projections selon les compartiments striataux - matrice et striosomes. Les voies canoniques directe et indirecte sont issues des dMSN et iMSN de la matrice (Lazaridis et al., 2024). Une étude anatomique a révélé que les neurones des striosomes projettent vers la SNc et émettent également des collatérales en direction du GPe (Fujiyama et al., 2011). Des études fonctionnelles ultérieures ont confirmé l'existence ces connexions. L'expression différentielle des récepteurs D1 et D2 dans les neurones des striosomes conditionne leur rôle sur la modulation dopaminergique : les neurones D1 inhibent les neurones dopaminergiques de la SNc, réduisant ainsi la libération de dopamine dans le STR, tandis que les neurones D2 favorisent cette libération (Lazaridis et al., 2024). Anatomiquement, les projections des neurones D2 des striosomes transitent par une zone centrale du GPe avant d'atteindre la SNc suggérant l'existence de collatérales fonctionnelles de ces neurones vers le GPe, contrairement aux projections plus directes des neurones D1. Cependant, une sous-population de neurones striataux coexprimant les récepteurs D1 et D2 projette spécifiquement vers le GPe, bien que la nature de leurs connexions avec les neurones PRO et ARKY reste encore peu explorée (Bonnavion et al., 2024).

Les **collatérales locales GPe-GPe** constituent la seconde afférence inhibitrice majeure du GPe. La mise en évidence des deux sous-populations neuronales par Mallet et collègues (Mallet et al., 2012) a permis de démontrer que les neurones PRO développent de longues collatérales locales (Sadek et al., 2007) riches en boutons axonaux, environ cinq fois plus que celles des neurones ARKY (Mallet et al., 2012). L'existence fonctionnelle de ces collatérales a été démontrée à plusieurs reprises. Bugaysen et ses collègues ont enregistré pour la première fois des potentiels postsynaptiques inhibiteurs unitaires issus des connexions GABAergiques locales entre les neurones du GPe et ont montré qu'elles sont capables de moduler de façon continue la fréquence de décharge des neurones postsynaptiques du GPe

(Bugaysen et al., 2013). De plus d'autres enregistrements, en patch-clamp perforé, ont permis de montrer qu'un seul neurone du GPe peut générer une inhibition suffisamment puissante pour perturber de manière significative la régularité de l'activité d'autres neurones pallidiaux (Jones et al., 2023).

Anatomiquement, les boutons axonaux des neurones PRO et ARKY contactent les somas et les dendrites proximales des neurones PV+ (Mallet et al., 2012). Sur le plan fonctionnel, plusieurs études ont montré que les connexions PRO→ARKY sont plus fréquentes que les connexions ARKY→PRO (Aristieta et al., 2021; Ketzef and Silberberg, 2021) et à ce jour, aucune preuve fonctionnelle n'a permis de démontrer l'existence de connexions entre neurones ARKY.

Afférences neuromodulatrices

Plusieurs études ont mis en évidence la libération de neuromodulateurs au niveau du GPe. Chez l'humain, le primate et les rongeurs, des projections **dopaminergiques** issues de la SNc ont été décrites (Anaya-Martinez et al., 2006; Debeir et al., 2005; Jan et al., 2000). La reconstruction de neurones dopaminergiques provenant du A8 et A9 (SNc) ont démontré l'existence anatomique de cette voie (Jan et al., 2000). Une autre étude a aussi démontré l'existence de libération de dopamine au niveau de « points chauds » au sein du GPe, renforçant ainsi la nature fonctionnelle de cette innervation dopaminergique (Meszaros et al., 2018). Par ailleurs, l'injection intrapallidale de 6-OHDA chez le rongeur entraîne une dégénérescence neuronale au niveau de la SNc confirmant l'existence d'une voie SNc→GPe (Anaya-Martinez et al., 2006; Debeir et al., 2005).

D'autres travaux ont mis en évidence des projections de neurones exprimant le facteur de libération de la **corticotropine** (CRF) vers le GPe. Ces afférences, en provenance de l'amygdale centrale (CEA), de l'hypothalamus (noyau paraventriculaire PVN) et du BNST (noyau du lit de la *stria terminalis*), pourraient jouer un rôle dans les circuits liés à l'apprentissage de la peur (Giovanniello et al., 2020; Hunt et al., 2018).

La présence d'une innervation **sérotoninergique** a également été démontrée. Des études anatomiques ont révélé des projections issues du noyau du raphé dorsal (DRN) vers le GPe (Charara and Parent, 1994). La détection de varicosités axonales exprimant le transporteur de la sérotonine (SERT) renforce l'hypothèse d'une libération active de sérotonine dans cette région (Gagnon et al., 2018).

Enfin, une étude anatomique chez le primate, alliant microscopie optique et électronique a permis d'identifier une innervation **cholinergique** provenant du PPN (Eid et al., 2016).

b. Efférences

Efférences au sein des GB

Le **STR** représente la seule cible des neurones ARKY. Cette spécificité anatomique leur confère un rôle central dans la régulation du contrôle moteur, rôle qui sera détaillé ultérieurement (*cf. Introduction-IV.1*). Ainsi, les projections du GPe vers d'autres structures que le STR, abordées dans les sections suivantes, sont exclusivement assurées par les neurones PRO.

Le STR constitue l'une des principales cibles efférentes du GPe. Chez le singe, il a été démontré qu'un neurone pallidal projetant vers le STR ne possède pas d'autres cibles (F. Sato et al., 2000). Les neurones pallido-striataux expriment tous le même facteur de transcription, *Npas1*, qui regroupe l'ensemble des neurones ARKY ainsi qu'environ un tiers des neurones PRO (**Figure 15**) (Glajch et al., 2016).

Sur le plan anatomique, les projections spécifiques des deux sous-populations neuronales ont été décrites chez le rongeur en 2012 par Mallet et ses collègues à la suite de la reconstruction de neurones pallidaux marqués à la biocytine. Les neurones PRO projettent vers le striatum, qu'ils innervent de manière modérée, avec environ 500 boutons axonaux pour un neurone PRO (Mallet et al., 2012). En

revanche, les neurones ARKY émettent un axone principal qui se ramifie en de nombreuses collatérales, permettant une innervation très étendue du striatum. Un seul neurone ARKY peut ainsi former jusqu'à environ 10 000 boutons axonaux dans cette région (Fujiyama et al., 2016; Mallet et al., 2012). Ces neurones ciblent principalement le DLS, une zone considérée comme « motrice » (Mallet et al., 2012; Mastro et al., 2014). Par ailleurs, il a été montré que les connexions pallido-striatales sont spatialement organisées : les neurones pallidiaux situés dans les régions CALB⁺ ou CALB⁻ projettent préférentiellement vers les régions striatales CALB⁺ ou CALB⁻ correspondantes (Fujiyama et al., 2016).

Les neurones du GPe ciblent à la fois les MSN et les interneurones striataux (Bevan et al., 1998; Mallet et al., 2012; Mastro et al., 2014). L'optoactivation des neurones pallidiaux produit des réponses post-synaptiques inhibitrices chez les FSI ainsi que chez les LTSI mais pas chez les interneurones ChAT⁺ (Glajch et al., 2016; Saunders et al., 2016). Par ailleurs, les dMSN et iMSN reçoivent également des réponses inhibitrices, les iMSN présentant des réponses post-synaptiques d'amplitude significativement plus élevée que celles observées chez les dMSN (Glajch et al., 2016).

Le NST constitue la principale cible des neurones PRO, représentant l'efférence du GPe la plus étudiée, notamment en raison de son rôle central dans la voie indirecte canonique décrite par Albin et ses collègues (Albin et al., 1989). Cette projection a été largement démontrée sur le plan anatomique, aussi bien chez le primate que chez le rongeur (Bevan et al., 1998; F. Sato et al., 2000). Un neurone unique du GPe peut établir jusqu'à six terminaisons synaptiques directement apposées au soma et aux dendrites proximales d'un seul neurone du NST (Baufreton et al., 2009).

La spécificité de la connexion PRO→NST a été établie tant anatomiquement (Fujiyama et al., 2016; Mallet et al., 2012) que fonctionnellement. En effet, il a été montré que les neurones PV⁺ constituent la principale source d'innervation pallidale du NST (Glajch et al., 2016; Kang et al., 2025).

Les structures de sortie des GB, le **GPI** et la **SNr**, reçoivent également des projections en provenance du GPe. Des études combinant des reconstructions neuronales chez le primate et le rongeur, ainsi que des images de microscopie optique et électronique, ont clairement mis en évidence l'innervation de ces deux régions par le GPe (Bevan et al., 1998; Mallet et al., 2012; F. Sato et al., 2000). Les projections PRO→GPI et PRO→SNr ont été démontrées anatomiquement (Fujiyama et al., 2016; Mastro et al., 2014). Par ailleurs, une étude chez la souris utilisant l'imagerie calcique *in vivo* a révélé que la voie PRO→SNr joue un rôle fonctionnel dans le contrôle de la locomotion (Lilascharoen et al., 2021).

Enfin, une innervation de la **SNc** par les neurones PRO du GPe a été mise en évidence dans une étude anatomique récente. Il a été montré que les projections axonales issues du GPe vers la SNc sont plus concentrées que celles dirigées vers la SNr. De plus, les neurones PRO impliqués dans cette projection expriment majoritairement le facteur de transcription Lhx6 (Mastro et al., 2014).

Efférences en dehors des GB

Comme mentionné précédemment, le **cortex** innerve les deux sous-populations du GPe (*cf. Introduction-III.2.a*). Il a également été démontré que le GPe établit des connexions réciproques avec le cortex, formant ainsi une boucle cortico-pallido-corticale, susceptible de participer à la régulation de l'activité motrice (Giossi et al., 2024b). Deux populations du GPe projettent vers le cortex : les neurones PRO et les neurones cholinergiques.

Les neurones cholinergiques présentent une arborisation très dense dans le cortex, s'étendant des couches 1 à 6, avec une innervation particulièrement marquée dans les couches superficielles 1 à 3. Cette répartition les distingue des neurones pallidaux non cholinergiques, dont l'arborisation corticale est absente de la couche 1 et plus dense dans les couches profondes 5 et 6 (Abecassis et al., 2020; Saunders et al., 2015).

Des études anatomiques utilisant des approches virales antérogrades et rétrogrades ont montré que les axones des neurones PRO projettent principalement au niveau des cortex moteurs (MOp et MOs), prémoteur et somatosensoriel (Abecassis et al., 2020; Chen et al., 2015; Muñoz-Castañeda et al., 2021). Des enregistrements électrophysiologiques sur tranches ont montré que l'activation optogénétique des neurones PRO induit des réponses post-synaptiques inhibitrices rapides et de grande amplitude chez les neurones corticaux (Abecassis et al., 2020; Chen et al., 2015). Ces projections ciblent préférentiellement les interneurones et plus faiblement les neurones pyramidaux (Chen et al., 2015).

Le **thalamus** est une des structures innervées par les neurones PRO. La voie a tout d'abord été mise en évidence anatomiquement : les neurones PRO PV⁺ projettent massivement vers le noyau thalamique réticulaire (TRN) (Mastro et al., 2014). Puis, les propriétés de la connexion synaptique PRO→TRN ont été étudiées en tranches : l'optoactivation des neurones PRO entraîne des réponses post-synaptiques inhibitrices importantes chez la plupart des neurones du TRN (Abecassis et al., 2020). De plus, la voie PRO→Pf a été étudiée *in vivo* en imagerie calcique. Il a été montré que l'activité de cette voie était augmentée lors de l'apprentissage par inversion (« *reversal learning* ») mais n'était pas impliquée dans le contrôle moteur (Lilascharoen et al., 2021).

Enfin, les neurones PRO semblent aussi innerver le **DRN** et projeter spécifiquement aux neurones sérotoninergiques du DRN. Une étude anatomique a utilisé une stratégie rétrograde afin de mettre en évidence les neurones connectés de manière monosynaptique aux neurones sérotoninergiques du DRN dans le cerveau entier de souris : des neurones du GPe ont ainsi été identifiés (Pollak Dorocic et al., 2014).

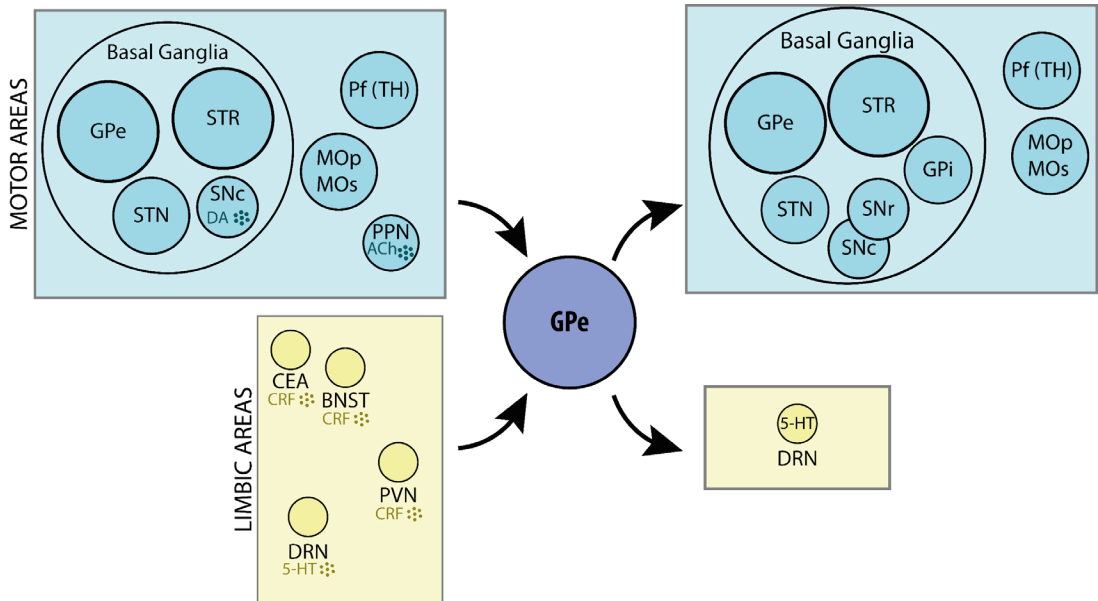


Figure 17 : Afférences et efférences du GPe

Schéma récapitulatif des connexions afférentes et efférentes du GPe. Le GPe est impliqué dans des fonctions motrices et limbiques. Il reçoit ainsi des afférences de régions motrices (bleues) et limbiques (jaune), et projette également vers ces deux types de régions. Au niveau moteur, les GB (STR, GPe et NST) projettent massivement au GPe. Le cortex (MOp et MP) ainsi que le thalamus (Pf) constituent aussi des régions afférentes motrices du GPe. Deux de ces régions y relarguent également des neuromodulateurs : le GPe reçoit de la DA *via* la SNc et de l'ACh *via* le PPN. La majorité des régions motrices afférentes du GPe sont aussi ses cibles (STR, GPe, NST, SNc, MOp, MP, Pf), mais deux régions, la SNr et le GPi, sont uniquement des régions efférentes du GPe. Au niveau limbique, le GPe reçoit de nombreuses afférences neuromodulatrices. La CEA, le BNST et le PVN établissent des connexions avec le GPe et libèrent du CRF, tandis que le DRN y relargue de la (sérotonine) 5-HT. Le GPe projette vers peu de régions limbiques, à l'exception des neurones sérotoninergiques du DRN.

3. Implication dans la MP

Depuis le début des années 2000, l'implication du GPe dans la genèse des symptômes moteurs de la MP fait l'objet d'un intérêt croissant. Des patients présentant des lésions bilatérales de la portion latérale du GPe manifestent des altérations motrices similaires à celles observées dans la MP, notamment des temps de réaction comparables lors de tâches comportementales évaluant la préparation et l'exécution du mouvement (Kuoppamaki et al., 2005). Par ailleurs, chez des PNH

modèles de la MP, l'ablation ciblée de la région sensorimotrice du GPe entraîne une aggravation des symptômes moteurs parkinsoniens (Zhang et al., 2006). Ces observations convergent vers l'hypothèse selon laquelle des altérations fonctionnelles du GPe pourraient contribuer de manière significative aux déficits moteurs caractéristiques de la MP.

Ces résultats sont appuyés par des études menées aussi bien chez des modèles animaux de la MP que chez des patients, dans lesquelles la stimulation du GPe induit une amélioration des symptômes moteurs. Chez l'humain, la stimulation électrique à haute fréquence (<100Hz) du GPe permet une amélioration significative de la bradykinésie (Vitek et al., 2004) ainsi que de la rigidité (Yelnik et al., 2000). Chez un modèle murin unilatéral 6-OHDA, l'activation du GPe réduit les rotations ipsilatérales, atténue l'akinésie de la patte et augmente la vitesse de locomotion (Di Bisceglie Caballero et al., 2023). Par ailleurs, dans un modèle murin bilatéral 6-OHDA, une stimulation par *bursts* de sous-populations neuronales spécifiques du GPe induit une amélioration des déficits moteurs qui persiste plusieurs heures après l'arrêt de la stimulation (Spix et al., 2021).

Ces données renforcent l'hypothèse d'un rôle central du GPe dans les troubles moteurs parkinsoniens, et positionnent cette structure non seulement comme un acteur clé des circuits moteurs altérés dans la MP, mais également comme une cible thérapeutique prometteuse.

a. Le GPe : un noyau central dans la genèse des oscillations β

De nombreuses études ont approfondi l'investigation des altérations du GPe dans la MP. Chez des PNH modèles de la MP, les neurones pallidiaux présentent une diminution de leur fréquence de décharge, accompagnée d'une plus grande irrégularité de leur activité ainsi que d'une augmentation de la fréquence et de la durée des *bursts* (Filion and Tremblay, 1991). Ces altérations ont également été observées chez des modèles rongeurs de la MP. En particulier, une augmentation de l'activité sous forme de *bursts*, une diminution de l'activité *pacemaker* régulière

des neurones du GPe, ainsi qu'une réduction globale de la fréquence de décharge ont été rapportées (Chan et al., 2011; Cruz et al., 2011; Mallet et al., 2008) .

Par ailleurs, une activité oscillatoire anormalement élevée a été mise en évidence au sein du réseau pallidal, caractérisée, dans un état cortical activé, par une synchronisation pathologique des décharges neuronales dans la bande de fréquence β (13–30 Hz) (Mallet et al., 2008), similaire à celle observée au niveau du NST et du cortex moteur (*cf. Introduction-II.3.b*). Sur la base de leurs résultats, Mallet et ses collègues suggèrent que les neurones pallidaux pourraient jouer un rôle central dans la genèse et le maintien de cette activité oscillatoire pathologique au sein du NST et, plus largement, dans les circuits cortico-GB (Crompe et al., 2020).

Le réseau pallido-sous-thalamo-pallidal a été largement étudié dans le contexte de la MP. Plusieurs travaux ont mis en évidence des altérations des connexions GPe-NST et NST-GPe. L'activité oscillatoire anormale observée dans plusieurs structures du réseau cortico-GB pourrait être soutenue par des séquences rythmiques d'excitation/inhibition se produisant au sein du réseau pallido-sous-thalamo-pallidal (Mallet et al., 2008). Chez le rat parkinsonien, le transfert d'informations bidirectionnel entre ces deux structures semble accru (Cruz et al., 2011). Ces observations concordent avec une étude montrant une augmentation du nombre de synapses dans la voie GPe-NST après déplétion dopaminergique (Fan et al., 2012). Toutefois, les résultats concernant ces connexions restent hétérogènes : une autre étude menée chez un modèle murin 6-OHDA rapporte une diminution de la connectivité NST-GPe, en particulier avec les neurones PRO (PV⁺) du GPe (Pamukcu et al., 2020).

L'altération d'autres connexions impliquant le GPe contribue également aux dysfonctionnements du circuit en réponse à la déplétion dopaminergique. La voie striato-pallidale iMSN-GPe semble contribuer à l'activité oscillatoire anormale du GPe, l'inhibition des iMSN réduisant son activité anti-phasique (Kovaleski et al., 2020). Par ailleurs, la connexion GPe-STR pourrait également participer aux symptômes moteurs observés dans la MP, comme le suggère l'augmentation de la

transmission synaptique entre le GPe et les iMSN/dMSN dans un modèle murin 6-OHDA (Glajch, 2016). De plus, la connexion GPe(PV⁺)-SNr semble impliquée dans la modulation de ces symptômes, puisque son activation sélective améliore les performances motrices (Lilascharoen, 2021).

Récemment, les connexions locales GPe-GPe ont suscité un intérêt croissant. Plusieurs études suggèrent qu'elles pourraient contribuer à l'émergence du *pattern* de décharge anormal observé dans le GPe en condition parkinsonienne et jouer un rôle central dans la genèse des oscillations β (Chen et al., 2023; Crompe et al., 2020; Jones et al., 2023).

b. Hypothèses sur la dérégulation du GPe dans la MP

Plusieurs pistes de recherche ont été explorées pour mieux comprendre les mécanismes impliqués dans l'altération du GPe consécutive à la dégénérescence des neurones dopaminergiques.

Parmi les hypothèses explorant les mécanismes de dérégulation du GPe, une étude a examiné la possibilité d'une perte de neurones PV⁺ dans un modèle de MP (Fernández-Suárez et al., 2012), bien que cette altération n'ait jamais été observée chez l'Homme (Hardman and Halliday, 1999). D'autres travaux ont mis en évidence des modifications des récepteurs glutamatergiques exprimés par les neurones PV⁺ : l'infusion intrapallidale d'un agoniste ciblant la sous-unité GluN2C du récepteur NMDA améliore les symptômes moteurs (Liu et al., 2021). Enfin, l'implication des cellules gliales, en particulier des astrocytes, a été suggérée, mais nécessite des investigations supplémentaires (Liu et al., 2023).

En complément des observations précédentes, deux mécanismes principaux sont actuellement explorés pour expliquer la dérégulation des neurones du GPe dans la MP : l'implication du GABA et de la DA.

Le GABA joue un rôle majeur dans la modulation de la fréquence de décharge des neurones du GPe : une augmentation de sa concentration dans cette région entraîne

une diminution de l'activité neuronale (Galvan et al., 2005). Plusieurs données tendent à démontrer que les niveaux de GABA sont altérés dans le GPe chez des modèles animaux de la MP. En particulier, l'application de GBZ, un antagoniste des récepteurs GABA_A, provoque une augmentation significative de la fréquence de décharge des neurones du GPe, avec un effet environ deux fois plus marqué chez des souris modèles de la MP que chez des souris témoins (Chen et al., 2013). Par ailleurs, une étude s'est intéressée au rôle du GABA dans la génération des oscillations β . Le blocage des transporteurs de GABA, responsables de sa recapture, induit une élévation de ses niveaux dans le GPe, ce qui s'accompagne d'une diminution de la puissance moyenne des oscillations β dans le cortex moteur (Villalobos et al., 2022). Ces résultats soutiennent l'idée que le GABA contribue à la modulation de l'activité neuronale du GPe en lien avec la genèse des oscillations β . Des travaux menés au laboratoire ont aussi montré l'existence d'une inhibition tonique au niveau des neurones du GPe due à une réduction de l'expression de GAT-3 (transporteur du GABA), un transporteur astrocytaire du GABA (Chazalon et al., 2018). Comme décrit précédemment (cf. *Introduction-III.1*), d'anciennes études ont mis en évidence la présence de récepteurs à la DA dans le GPe, en particulier des récepteurs D2 dont l'ARNm (Acide ribonucléique messenger) est exprimé dans les cellules exprimant également l'ARNm de la PPE (Hoover and Marshall, 2004, 2002). De plus, ils ont également démontré que l'application de sulpiride dans le GPe entraînait l'activation de Fos, suggérant que l'innervation dopaminergique dans cette structure agissait *via* les récepteurs dopaminergiques D2-like et pouvait contrôler l'expression de gènes de neurones pallidiaux (Marshall et al., 2001). Des études anatomiques *post-mortem*, menées sur des cerveaux de patients atteints de la MP, ont révélé une diminution de 82 % des niveaux de DA dans le GPe par rapport à ceux observés chez des sujets témoins (Rajput et al., 2008). Dans des modèles animaux de la MP, l'injection intrapallidale de 6-OHDA induit une augmentation significative du nombre de neurones du NST présentant un *pattern* de décharge en *burst* accompagnée de l'apparition de symptômes parkinsoniens, tels qu'une réduction de l'activité locomotrice et une utilisation altérée de la patte contralatérale à la lésion (Abedi et al., 2013), ce qui coïncide avec les effets

akinétiques observés lors de l'infusion d'antagonistes des récepteurs DA (D1 ou D2) dans le GPe de rats (Hauber and Lutz, 1999). Toujours chez des modèles animaux, l'administration intrapallidale de DA permet une restauration partielle des capacités motrices, avec une amélioration d'environ 50 % (Galvan et al., 2011), comparable à celle observée après transplantation de cellules dopaminergiques dans le GPe (Bartlett and Mendez, 2005).

c. Implication du GPe dans la genèse des DIL

L'altération du système dopaminergique dans le GPe au cours de la MP suggère une possible implication de cette structure dans la genèse des DIL. Des études cliniques ont montré que la stimulation du GPe chez des patients parkinsoniens pouvait induire des DIL (Vitek et al., 2004; Yelnik et al., 2000). Chez des PNH modèles de la MP, des enregistrements intracérébraux ont révélé une réduction de la fréquence de décharge des neurones du GPe, ainsi qu'une augmentation de leur activité sous forme de *bursts* (Boraud et al., 1998). Par ailleurs, une déplétion dopaminergique ciblée dans le GPe chez des rats modèles de la MP a permis de réduire les DIL, suggérant que la DA dans cette structure contribue à leur émergence (Marin et al., 2020).

Plus récemment, une étude a apporté des éléments clés sur le rôle du GPe dans les DIL. L'identification de neurones pallidaux activés spécifiquement durant les dyskinésies a permis de démontrer que leur inhibition atténue les DIL, tandis que leur activation les exacerbe. Ces neurones expriment le facteur de transcription Nkx2.1, les caractérisant comme des neurones PRO du GPe (Shen et al., 2024).

Cependant, une discordance subsiste entre ces observations et les données antérieures (Hoover and Marshall, 2004), qui indiquent que les récepteurs à la DA dans le GPe sont principalement exprimés par les neurones PPE⁺, c'est-à-dire les neurones ARKY. Ce constat complique l'interprétation du lien direct entre la perte de DA dans le GPe et l'implication spécifique des neurones PRO dans les DIL. Ainsi, des études supplémentaires sont nécessaires pour élucider les circuits et mécanismes cellulaires précis impliqués dans la genèse des DIL.

IV. Les neurones arkypallidaux

Les caractéristiques moléculaires, électrophysiologiques et la connectivité des neurones ARKY ont été décrites précédemment (*cf. Introduction-III*) et sont résumés dans la **Figure 18**. Le présent chapitre vise à approfondir leur rôle au sein du circuit des GB et à examiner les altérations qu'ils subissent suite à une déplétion dopaminergique, dans le contexte de la MP.

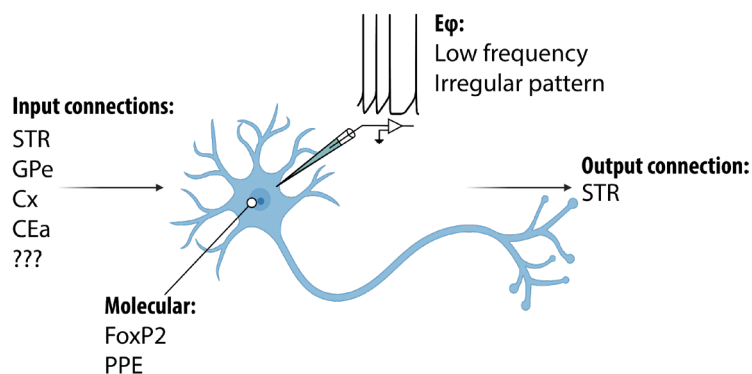


Figure 18 : Caractéristiques des neurones ARKY

Ce schéma résume les profils moléculaire et électrophysiologique, ainsi que la connectivité des neurones ARKY. *Eφ* : électrophysiologie.

1. Rôle dans les GB

Depuis leur identification en 2012 (Mallet et al., 2012), les neurones ARKY ont fait l'objet d'un intérêt croissant pour mieux comprendre leur rôle dans la physiologie des GB et leur implication potentielle dans la MP. Leur projection dense, massive et unique vers le STR leur confère une position singulière au sein des circuits des GB. Ne s'inscrivant dans aucune des voies canoniques – directe, indirecte ou hyperdirecte – les neurones ARKY sont l'acteur central d'un microcircuit unique impliqué dans le contrôle moteur.

Au cours des cinq dernières années, plusieurs études utilisant l'optogénétique ont démontré que l'activation sélective des neurones ARKY induit un arrêt immédiat de

la locomotion (Aristieta et al., 2021; Cui et al., 2021b; Glajch et al., 2016; Pamukcu et al., 2020). D'autres travaux, ont montré que leur activité précède l'initiation du mouvement (Dodson et al., 2015) et permet l'inhibition rapide et sélective d'actions inappropriées (Mallet et al., 2016), facilitant ainsi la sélection d'une réponse motrice adaptée. Ces observations sont renforcées par des modèles computationnels, qui intègrent les neurones ARKY en tant qu'acteur des mécanismes de sélection de l'action (Bogacz et al., 2016; Gioffi et al., 2024a).

La rapidité et la spécificité du traitement de l'information par les neurones ARKY reposent sur une connectivité unique. Contrairement aux neurones PRO, les ARKY reçoivent peu d'afférences issues de la voie indirecte, mais sont majoritairement innervés par des collatérales des neurones de la voie directe. Ils reçoivent, *via* ces collatérales, des copies des signaux moteurs envoyés par les dMSN vers la SNr. Actives pendant l'initiation et l'exécution du mouvement, ces collatérales modèleraient l'activité des neurones ARKY afin d'affiner la sélection d'action. De plus, leur stimulation améliore les performances motrices chez la souris, soulignant leur rôle fonctionnel clé (Labouesse et al., 2023). Cette voie striato-pallidale a été qualifiée de « voie GO » par les auteurs de cette étude.

Par ailleurs, la projection massive des neurones ARKY vers le STR permettrait la transmission d'un signal inhibiteur fort, nécessaire pour stopper efficacement une action en cours. Mallet et ses collègues (Mallet et al., 2016), à l'aide d'une tâche comportementale spécifique, ont montré que les neurones ARKY sont activés rapidement et sélectivement en réponse à un signal d'arrêt, contrairement aux autres neurones des GB qui s'activent préférentiellement en réponse à un signal « Go ». Ils proposent un modèle en deux étapes : (1) lors de la préparation de l'action, une pause transitoire de l'activité de la voie NST–SNr permet (2) l'activation des ARKY, qui envoient un signal STOP au STR, entraînant la suppression de l'action. Ces recherches soulignent le rôle essentiel des neurones ARKY pour l'adaptabilité comportementale.

Ainsi, la mise en évidence du rôle central des neurones ARKY dans le contrôle moteur remet en question le modèle classique des GB et ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques pour les pathologies motrices telles que la MP.

2. Leurs altérations dans la MP

a. Altérations de leur activité

Bien avant leur identification formelle sous le terme de « ARKY », ces neurones avaient déjà été décrits chez le primate sous l'appellation de neurones *bursty* à basse fréquence (ou LFB pour *Low-Frequency Bursty neurons*).

Dans un modèle MPTP de PNH, Filion et Tremblay (Filion and Tremblay, 1991) ont observé une augmentation de la fréquence et de la durée des *bursts*, ainsi qu'un doublement de la fréquence de décharge des neurones LFB, passant de 15 à 30 Hz. En revanche, des enregistrements *ex vivo* ont révélé une diminution de cette fréquence en condition parkinsonienne (Pamukcu et al., 2020), suggérant des altérations à la fois intrinsèques et dépendantes du réseau dans la MP.

Par ailleurs, après une lésion dopaminergique chez le rat, les circuits pallidaux présentent une hyper-synchronisation sélective des oscillations β . Les neurones du même type (PRO/PRO ou ARKY/ARKY) ont tendance à se synchroniser entre eux, tandis que les paires de types différents (PRO/ARKY) restent désynchronisées et affichent des taux de décharge inversement corrélés (Mallet et al., 2008).

Ces observations suggèrent que les neurones ARKY subissent des altérations fonctionnelles majeures dans la MP, reflétant à la fois des modifications cellulaires et une réorganisation de leur connectivité.

b. Altérations des connexions synaptiques

La connectivité des neurones ARKY reste encore peu explorée, en particulier dans des contextes pathologiques. Une étude menée sur les neurones Npas1⁺ du GPe - une population comprenant l'ensemble des neurones ARKY ainsi qu'une fraction des neurones PRO - a révélé que la transmission entre le NST et les neurones Npas1⁺ n'était pas altérée dans un modèle murin 6-OHDA de la MP, à l'inverse de celle entre le NST et les neurones PV⁺ qui était significativement réduite dans les mêmes conditions (Pamukcu et al., 2020).

À ce jour, les données les plus avancées concernant l'altération de la connectivité des neurones ARKY après déplétion dopaminergique proviennent d'une étude computationnelle. Les modèles développés par Bahuguna et ses collaborateurs ont mis en évidence que les réseaux des GB intégrant des neurones ARKY (GPe-TA) hyperactivés - pour mimer la condition parkinsonienne -, inhibent moins efficacement l'activité du GPI, contribuant ainsi à l'akinésie. Selon ces modèles, les neurones ARKY participeraient à une boucle STR-ARKY-STR qui, par des rétroactions positives, amplifierait les oscillations neuronales (Corbit et al., 2016). Cette dynamique réduirait la capacité de suppression du GPI, participant au maintien de l'état akinétique (Bahuguna et al., 2017).

c. Implications thérapeutiques

Si les connaissances actuelles sur les altérations de l'activité et de la connectivité des neurones ARKY restent limitées, les données concernant leur potentiel thérapeutique pour atténuer les symptômes moteurs de la MP sont encore plus rares. Toutefois, une étude récente a démontré que la modulation ciblée de certaines sous-populations neuronales du GPe pouvait significativement réduire les symptômes moteurs associés à la MP (Mastro et al., 2017). Les chercheurs ont ciblé les neurones PV⁺ (représentant environ 70 % des neurones PRO) ainsi que les neurones Lhx6⁺ (incluant environ 30 % des neurones ARKY et 40 % des neurones PRO), qu'ils ont soumis à des protocoles d'optostimulation ou d'optoinhibition. Ils ont observé que

l'activation des neurones PV⁺, associée à l'inhibition des neurones Lhx6⁺, permet de restaurer la motricité chez des souris modèles de la MP, effet qui n'est pas observé lors de la stimulation non spécifique du GPe. Cette restauration est durable et se maintient plusieurs heures après l'arrêt de la stimulation (Spix et al., 2021).

Ces résultats soulignent l'implication fonctionnelle différenciée des diverses sous-populations neuronales du GPe. En particulier, ils mettent en évidence la nécessité d'approfondir l'étude des neurones ARKY - une population qui, rappelons-le, n'est affiliée à aucune des voies canoniques des GB - afin de mieux comprendre leur rôle potentiel dans la physiopathologie de la MP et d'envisager des stratégies thérapeutiques ciblées.

HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS

Depuis la mise en évidence d'une dichotomie organisationnelle au sein du GPe (Mallet et al., 2012), la vision traditionnelle de cette structure comme simple relais de l'information a été profondément remise en question. Les neurones PRO et ARKY ont été décrits selon leurs profils moléculaires, électrophysiologiques et leur connectivité distincte (Abdi et al., 2015; Cazorla et al., 2014; Dodson et al., 2015; Katabi et al., 2023), soulignant l'importance fonctionnelle du GPe au sein des GB.

Le GPe reçoit des afférences issues à la fois de la voie indirecte, ciblant préférentiellement les neurones PRO, et de la voie directe, qui émet des collatérales vers les neurones ARKY (**Figure 19A**). Ces derniers, reçoivent également des informations de collatérales locales des neurones PRO les plaçant au cœur d'un microcircuit récemment mis en évidence, potentiellement crucial pour le contrôle moteur. En plus de cette convergence d'informations issues du STR, les neurones ARKY projettent spécifiquement et massivement vers le STR, où ils transmettent un signal STOP fort, impliqué dans l'arrêt de l'action en cours (Mallet et al., 2016) (**Figure 19A**). Ces éléments suggèrent un rôle fonctionnel majeur des ARKY dans la modulation du mouvement.

L'implication du GPe dans les symptômes moteurs de la MP et dans les DIL a été largement étudiée chez l'Homme et dans des modèles animaux. Il a été montré que le GPe participe à la génération et à la propagation des oscillations β pathologiques dans les GB (Crompe et al., 2020). Par ailleurs, les voies directe et indirecte qui le connectent présentent des altérations spécifiques selon les états : hyperactivité de la voie indirecte en condition « parkinsonienne », et hyperactivité de la voie directe dans les DIL (Ryan et al., 2018). Le déséquilibre qui apparaît entre ces deux voies, entraîne à la fois des difficultés à initier et exécuter le mouvement volontaire mais aussi l'apparition des dyskinésies.

Ainsi, le GPe apparaît comme un acteur central du contrôle moteur et une structure clé pour comprendre la physiopathologie de la MP. Pourtant, l'implication spécifique des neurones ARKY dans les symptômes moteurs de la MP et dans la genèse des DIL reste peu explorée. Quelques études rapportent des altérations de cette sous-population dans des modèles animaux parkinsoniens, sans en élucider le rôle fonctionnel. Par ailleurs, le GPe reçoit une innervation dopaminergique, et certains de ses neurones (dont potentiellement les ARKY, du moins les PPE⁺) expriment des récepteurs à la DA.

Les neurones ARKY pourraient ainsi jouer un rôle non négligeable dans la physiopathologie de la MP. De ce fait, nous émettons l'hypothèse que **les neurones ARKY pourraient être impliqués à la fois dans les symptômes moteurs de la MP et dans l'apparition des DIL (Figure 19B).**

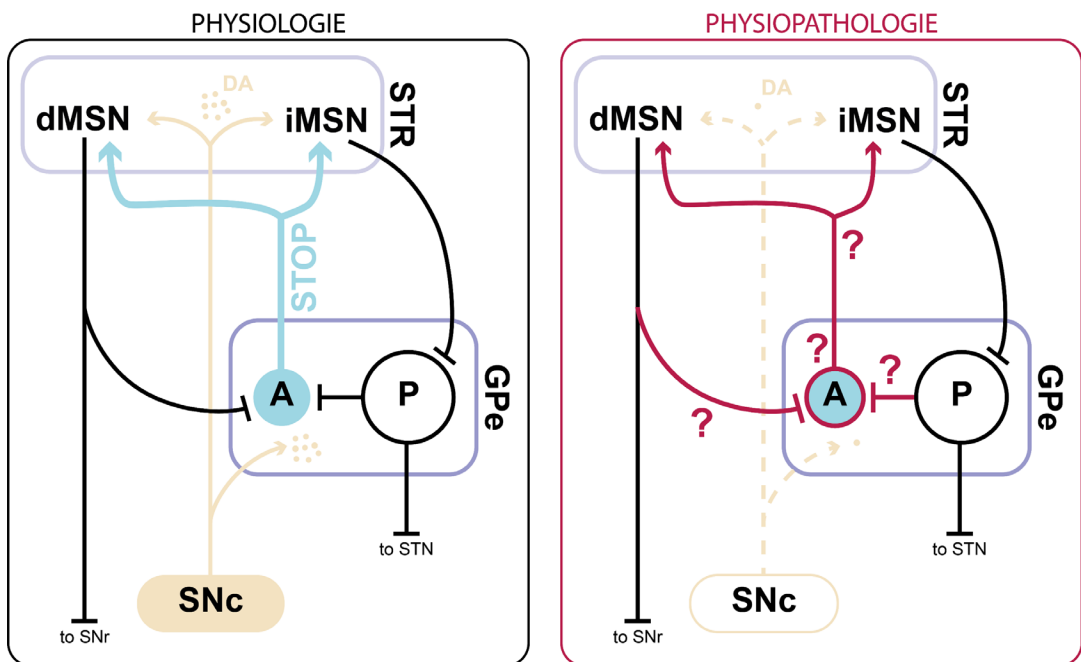


Figure 19 : Les neurones ARKY jouent-ils un rôle dans la physiopathologie de la MP ?

A : Schéma du réseau striato-pallidal en condition physiologique en l'état actuel des connaissances. **B :** Même schéma mais en situation physiopathologique (MP/DIL) qui place les neurones ARKY et leurs connexions afférentes et efférentes comme acteurs potentiels dans l'expression des symptômes moteurs de la MP.

Le premier objectif de ce travail de thèse a tout d'abord été d'approfondir les connaissances sur les neurones pallidiaux en décrivant très largement leurs connexions afférentes grâce à des techniques de marquage rétrograde monosynaptique. Puis, nous avons décrit anatomiquement et fonctionnellement les neurones ARKY chez le primate non-humain (PNH) grâce à des techniques histologiques et d'enregistrements en patch-clamp *ex vivo*.

Le deuxième objectif a été d'étudier le rôle des neurones ARKY dans la physiopathologie de la MP et d'observer les altérations de ceux-ci en conditions pathologiques chez un modèle parkinsonien et dyskinétique. Pour cela, nous avons couplé des techniques *in vivo* consistant en l'imagerie calcique et *ex vivo* par des enregistrements en patch-clamp. De plus, nous avons souhaité proposer un mécanisme hypothétique mettant en jeu les neurones ARKY dans la genèse des DIL en associant de la pharmacologie, de l'optogénétique et des hybridations *in situ* en fluorescence.

Enfin, le dernier objectif a été de décrire la voie arkypallido-striatale en condition physiologique avant d'étudier ses possibles altérations fonctionnelles en condition pathologiques, chez un modèle parkinsonien et dyskinétique. Pour cela, nous avons réalisé des marquages synaptiques ainsi que des enregistrements en patch-clamp *ex vivo*.

MATÉRIELS & MÉTHODES

I. Animaux

Toutes les procédures expérimentales ont été réalisées sur des souris obtenues auprès de l'animalerie EOPS du centre Broca conformément à la législation européenne de protection des animaux utilisés à des fins scientifiques (directive 2010/63/UE) et en accord avec les directives du CNRS et du comité d'éthique local de Bordeaux (n° d'autorisation #APAFIS 37555). Les souris étaient hébergées collectivement (au moins 2 animaux par cage) dans des conditions artificielles de lumière (cycle lumière/obscurité de 12h), de température ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) et d'humidité ($50 \pm 10\%$), avec un accès à l'eau et à la nourriture *ad libitum*.

1. Souris transgéniques

a. Le système Cre-LoxP

Le système Cre-LoxP, largement utilisé, est composé d'une protéine recombinase Cre de 38-kDa produite par le gène *cre* du bactériophage P1. Cette protéine reconnaît un site de 34-bp appelé *loxP* (*locus of X-over of P1*), opère une recombinaison entre deux sites *loxP* résultant à une délétion spécifique de la séquence d'ADN située entre ces deux sites si les sites *loxP* (Sauer, 1998) (**Figure 20A**) ou à une inversion de la séquence d'ADN située entre les deux sites *loxP* (Sabatini, 2012) : si la séquence d'ADN a une orientation sens, alors elle est excisée ; cependant, si la séquence d'ADN a une orientation antisens, alors elle est inversée. Cette particularité de la Cre-recombinase a été utilisée afin de construire des vecteurs viraux capables de transfecter des populations cellulaires spécifiques. L'insertion d'un DIO (*Double floxed Inverse Open reading frame*) dans la construction d'un vecteur viral permet l'expression d'une protéine par une population neuronale d'intérêt de façon très spécifique *via* l'intégration de deux types de séquences *lox* (Sohal et al., 2014) (**Figure 20B**). Ces vecteurs viraux ont donc été utilisés afin d'infecter les neurones chez différentes lignées transgéniques.

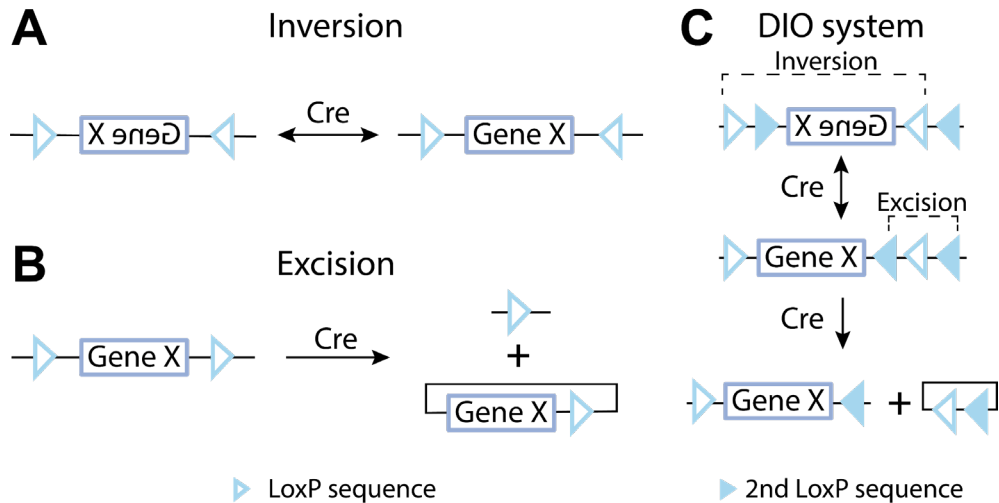


Figure 20 : Systèmes Cre-loxP et DIO

A. Le Cre recombinase reconnaît deux séquences loxP anti-sens et inverse le sens de la séquence du gène compris entre les deux séquences. **B.** La Cre recombinase reconnaît deux séquences loxP dans le même sens et excise entre les deux séquences loxP. **C.** Le système DIO (*Double floxed Inverse Open reading frame*) utilise à la fois la capacité d'inversion et d'excision de la Cre recombinase en associant deux séquences loxP anti-sens ce qui permet à la Cre d'inverser la séquence du gène compris entre les deux et deux séquences loxP sens afin d'exciser une des séquences loxP, comprise entre les deux séquences sens. *Adapté de De La Crompte et al., 2020.*

b. Lignée transgénique FoxP2-Cre

Les souris FoxP2-Cre expriment la protéine recombinase Cre dans les neurones exprimant le facteur de transcription FoxP2 (RRID:IMSR_JAX:030541 ; Roussou et al., 2016) . Associée à des approches virales, cette lignée de souris nous a permis de cibler spécifiquement les neurones ARKY du GPe en utilisant le système Cre-LoxP.

c. Lignée transgénique Drd1-Cre

Les souris Drd1-Cre expriment la protéine recombinase Cre dans les neurones exprimant le récepteur dopaminergique D1 (RRID:IMSR_JAX:030329 ; Lemberger

et al., 2007). Associée à des approches virales, cette lignée de souris nous a permis de cibler spécifiquement les neurones D1 du STR (ou dSPN) en utilisant le système Cre-LoxP.

d. Lignée transgénique PV-Cre

Les souris PV-Cre expriment la protéine recombinase Cre dans les neurones exprimant la protéine PV (RRID:IMSR_JAX:008069 ; Hippenmeyer et al., 2005). Associée à des approches virales, cette lignée de souris nous a permis de cibler spécifiquement les neurones PV⁺ du GPe (neurones PRO) en utilisant le système Cre-LoxP.

*e. Lignée transgénique D1-GFP::*FoxP2*-Cre*

Les souris D1-GFP::*FoxP2*-Cre (GFP : *green fluorescent protein*) sont issues d'un croisement opéré à l'animalerie EOPS du Centre Broca. Ce croisement a été effectué entre les souris *FoxP2*-Cre (décrites au-dessus) et les souris D1-GFP (RRID:MMRRC_000297-MU ; Delzor et al., 2012). Ces dernières expriment la protéine fluorescente GFP dans les neurones exprimant le récepteur dopaminergique D1. Afin de faire exprimer la protéine fluorescente, une lignée transgénique BAC a été générée. Le Chromosome Artificiel Bactérien (BAC), qui contient plusieurs milliers de paires de bases de l'ADN génomique de souris, a été modifié en utilisant un vecteur, par recombinaison homologue dans la bactérie *Escherichia coli*. Puis le BAC modifié est injecté dans des ovocytes fertilisés et intégré de façon aléatoire dans l'ADN chromosomique. Les œufs sont ensuite transplantés dans l'oviducte d'une femelle (Valjent et al., 2009)(**Figure 21**).

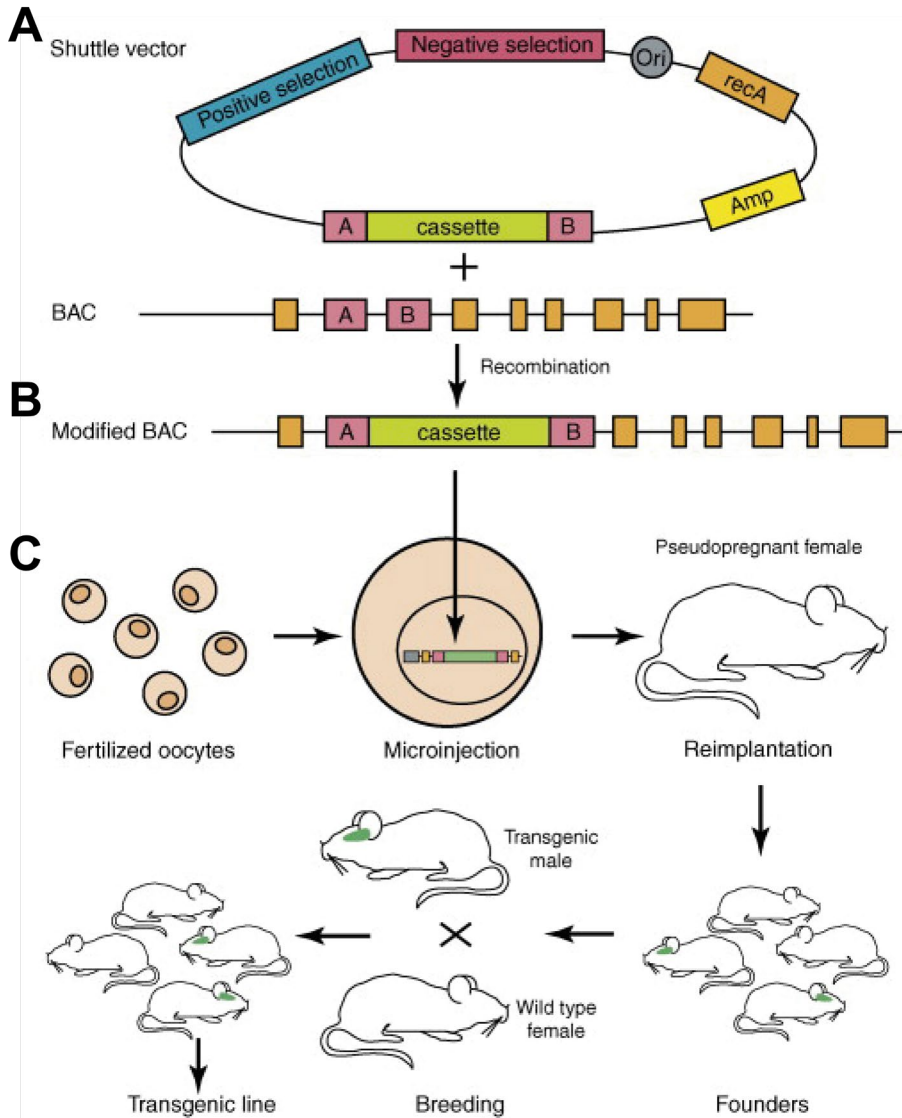


Figure 21 : Génération des souris transgéniques BAC.

A. Un vecteur navette est utilisé pour modifier le BAC par recombinaison homologue dans *Escherichia coli*. Typiquement, ce vecteur contient une origine de réplication conditionnelle (Ori), un gène *recA* pour favoriser la recombinaison, des gènes de sélection positive et négative, ainsi qu'une cassette de recombinaison comportant deux courtes régions d'homologie A et B encadrant une cassette de modification qui porte les éléments à insérer dans le BAC. **B.** Le BAC modifié est injecté dans des ovocytes fécondés et s'intègre de manière aléatoire dans l'ADN chromosomique. **C.** Les œufs micro-injectés sont ensuite transplantés dans l'oviducte d'une femelle pseudogestante. Le transgène est porté par 20 à 30 % de la descendance, communément appelés les « fondateurs ». Pour établir des lignées de souris transgéniques, les fondateurs sont croisés avec des souris de type sauvage, et 50 % de la descendance hériteront du BAC. *Adapté de Vajent et al., 2009.*

2. Modèle 6-OHDA de la MP

Deux modèles de la MP ont été utilisés. Les deux modèles consistent en un modèle neurotoxique unilatéral utilisant la 6-OHDA. La 6-OHDA est une molécule capable d'être transportée par les DAT et NAT grâce à sa structure analogue aux catécholamines. Elle est classiquement utilisée en tant que neurotoxine causant une altération de l'homéostasie cellulaire des neurones dans lesquels elle s'accumule (Simola et al., 2007). Cette molécule permet donc une dégénérescence sélective des neurones dopaminergiques et noradrénergiques.

Les deux modèles utilisés diffèrent par le site d'injection de la 6-OHDA. Le modèle 1 consiste en une injection au niveau du MFB (*Medial Forebrain Bundle*) alors que le modèle 2 consiste en une injection dans la SNc.

L'injection unilatérale de 6-OHDA dans l'une ou l'autre zone entraîne un déséquilibre fonctionnel des systèmes nigrostriataux résultant en un ralentissement moteur (*akinésie parkinson-like*) et une rotation ipsilatérale des animaux lésés (Simola et al., 2007). L'injection dans la SNc entraîne les mêmes symptômes moteurs mais a été utilisée comme second modèle en raison d'une impossibilité d'injecter la 6-OHDA dans le MFB chez les animaux implantés avec le miniscope.

Afin d'évaluer le degré de déficience motrice produite par la dégénérescence des neurones à dopamine, le test du cylindre a été utilisé (Lundblad et al., 2002). Le test a été réalisé deux semaines après l'injection de 6-OHDA, temps nécessaire pour s'assurer de la stabilisation de la déplétion dopaminergique. Il consiste à placer l'animal pendant 5 minutes dans un cylindre et de compter le nombre de rotations ipsilatérales à la lésion.

3. Induction des dyskinésies chez les souris modèles de la MP

Deux semaines après l'injection de 6-OHDA, un traitement chronique à la L-DOPA a été mis en place.

La L-DOPA (6 mg/kg) associée à de la benserazide (12.5 mg/kg) ont été injectés en intrapéritonéal, une fois par jour pendant 10 à 15 jours. Nous avons utilisé l'échelle des mouvements involontaires (AIM = *Abnormal Involuntary Movement Scale*) pour définir les différentes catégories de dyskinésies ainsi que d'évaluer leurs sévérités (Cenci and Lee, 1998). Les mouvements ont été considérés comme dyskinétiques lorsqu'ils suivaient ces critères :

- Ils étaient induits par la L-DOPA
- Ils affectaient le côté controlatéral à la lésion
- Ils étaient répétitifs, sans but et ne ressemblaient à aucun comportement normal

Les dyskinésies ont été classifiées en trois catégories différentes selon leur distribution topographique (**Figure 22**) :

- Les dyskinésies axiales : posture du cou et du haut du corps tordu vers le côté controlatéral à la lésion.
- Les dyskinésies des membres antérieurs : saccades rythmiques et répétitives ou posture dystonique des membres antérieurs controlatéraux, et/ou mouvements d'attrape de la patte controlatérale.
- Les dyskinésies orofaciales : mouvements stéréotypés de la mâchoire et protrusion controlatérale de la langue.

Enfin, la sévérité de chaque catégorie de dyskinésie a été évaluée de 0 à 4 comme suit :

- 1 : occasionnel
- 2 : fréquent
- 3 : continu mais interrompu avec une distraction sensorielle
- 4 : continu mais non interrompu par une distraction sensorielle

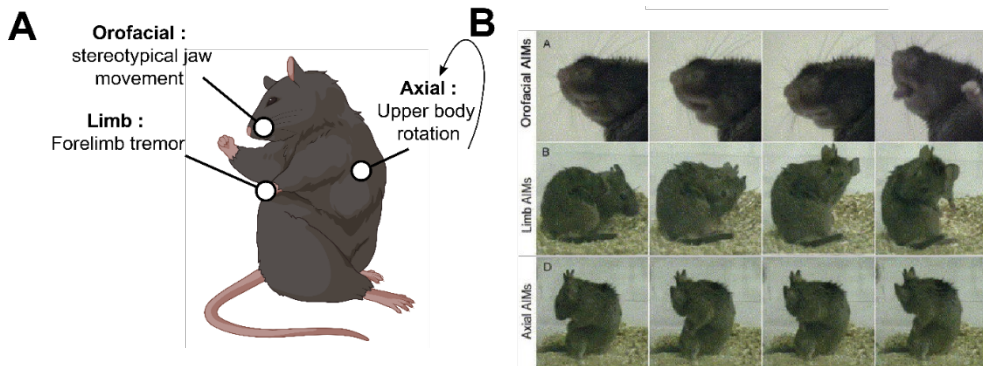


Figure 22 : Les différents types de dyskinésies

A. Schéma représentatif des différents types de dyskinésies chez la souris. **B.** Photographies de souris prises durant les trois types de dyskinésies. Les dyskinésies sont de plus en plus marquées lorsqu'on lit de la gauche vers la droite. En haut, dyskinésies orofaciales ; au milieu, dyskinésies de la patte ; en bas, dyskinésies axiales. *Adapté de Pavón et al., 2006.*

Les dyskinésies ont été évaluées au neuvième jour du traitement chronique à la L-DOPA. Les animaux ont été placés dans un *open-field* individuellement pendant 5 minutes toutes les 20 minutes et ce pendant une période de 2h. Durant les 5 minutes dans l'*open-field*, une vidéo d'1 minute et 30 secondes a été enregistrée. Le score pour chaque dyskinésie a été fait à posteriori en visualisant les vidéos. Ainsi, une courbe des scores de dyskinésies au cours du temps a pu être réalisée.

II. Chirurgies

1. Injections stéréotaxiques

Les animaux ont été préparés 20 minutes avant l'injection stéréotaxique. Des souris mâles et femelles (7-12 semaines) ont été anesthésiées avec 5% d'isoflurane (Tem-Sega Inc. Pessac) et ont reçu deux analgésiques (Buprenorphine et Meloxicam : 0.1mg/kg et 20 mg/kg respectivement) par voie sous-cutanée. Les souris ont ensuite été placées sur un cadre stéréotaxique avec un adaptateur spécifique aux souris (David Kopf Instruments avec Console Digital Display) et ont été maintenues à 1,5-2% d'isoflurane. Un tapis chauffant a été positionné en dessous de l'animal pour

maintenir une température corporelle à 38°C et un gel oculaire a été utilisé pour prévenir la déshydratation des yeux. Après désinfection à la bétadine, la peau a été ouverte au scalpel puis une craniotomie a été réalisée aux coordonnées stéréotaxiques (**Tableau 2**). Les injections stéréotaxiques ont été réalisées à l'aide d'un Picospritzer (Parker Hannifin) relié à une pipette en verre pour s'assurer de la bonne délivrance de la molécule. Après chaque injection, la pipette d'injection a été maintenue pendant 5 minutes pour permettre la bonne diffusion de la molécule injectée. La peau a ensuite été refermée avant de laisser l'animal dans une cage posée sur une tapis chauffant jusqu'à son réveil.

Les vecteurs viraux adéno-associés (AAV) utilisés pour les injections stéréotaxiques étaient pour la plupart Cre-dépendants et ont été injectés unilatéralement chez des souris *Drd1-Cre* pour infecter spécifiquement les dMSN, chez des souris *PV-Cre* pour infecter spécifiquement les neurones exprimant la protéine PV (= neurones PRO) ou encore chez des souris *FoxP2-Cre* et *D1-GFP::FoxP2-Cre* pour infecter spécifiquement les neurones ARKY. Le **Tableau 2** référence les différents vecteurs viraux, leur volume d'injection ainsi que les coordonnées stéréotaxiques auxquelles ils ont été injectés.

Les animaux ont ensuite été pesés et observés afin de s'assurer de leur rétablissement durant les deux jours post-opératoires.

Pour les injections stéréotaxiques de 6-OHDA, les animaux ont reçu une injection intrapéritonéale de désipramine (25mg/kg) 30 minutes avant l'injection afin de protéger les neurones noradrénergiques de la toxine. La 6-OHDA a été dissoute dans une solution de NaCl (Chlorure de Sodium) 0.9% contenant 0.02% d'acide ascorbique afin d'atteindre une concentration finale de 6-OHDA de 4mg/mL. L'injection de 1 µL de 6-OHDA a été réalisée unilatéralement dans le MFB (AP = -1.3mm, ML = -1.2mm, DV = -4.75mm par rapport au bregma).

Virus	Titre	Références	Coordonnées	Volume
AAV5-EF1a-DIO-eYFP	$\geq 1 \times 10^{13}$ vg/mL	Addgene 27056-AAV5	GPe : AP = -0.5mm ; ML = -2.2mm ; DV = -3.9mm	120 nL
AAV5-EF1a-DIO-ChR2-dTomato	N/A	N/A	dSTR : AP = +0.3/+0.75 mm ML = -2.2/-1.75 mm DV = -2.7/-2.6 mm	2*400 nL
AAV2.5-hSyn-DIO-Chrimson-tdTomato	7,8x10 ¹² E12/mL	UNC vector core	GPe : AP = -0.5mm ; ML = -2.2mm ; DV = -3.9mm	15-30 nL
AAV9-Syn-Flex-GCaMP6s-WPRE-SV40	2.4x10 ¹² E13/mL	Addgene 100845	GPe : AP = -0.5mm ; ML = -2.2mm ; DV = -3.9mm	200 nL
AAV-hSyn-Flex-tdTomato-T2A-sypEGFP	4.5x10 ¹² E12 vg/mL	Addgene 51509-AAV1	GPe : AP = -0.5mm ; ML = -2.2mm ; DV = -3.9mm	30 nL
AAV1-EF1a-DIO-TVA950-T2A-cvs11G-WPRE		IMN VectorCore 1.2 x 10E13 gcp/mL	GPe : AP = -0.5mm ; ML = -2.2mm ; DV = -3.9mm	30 nL
BRVenvA-2D	10E8 pp/mL	Charité ViralCore PN-2046 BRenvA-2	GPe : AP = -0.5mm ; ML = -2.2mm ; DV = -3.9mm	60 nL

Tableau 2 : Vecteurs viraux utilisés pour les injections stéréotaxiques

Les coordonnées stéréotaxiques sont données par rapport au bregma.

AAV : *adeno-associated virus*, EF1a : *Human elongation factor-1 alpha*, DIO : *Double floxed Inverted Open reading frame*, eYFP : *Enhanced Yellow Fluorescent Protein*, ChR2 : *Channel-Rhodopsin2*, tdTomato : *Tandem Dimer fluorescent protein*, hSyn : *Human Synapsin 1 gene promoter*, Flex : *FLip-EXcision*, GCaMP6s : fusion synthétique entre la GFP (*green fluorescent protein*), la calmoduline (CaM) et M13 (séquence peptidique de *Myosin light-chain kinase*), WPRE : *Woodchuck Hepatitis Virus (WHV) Posttranscriptional Regulatory Element*, SV40 : *Virus Simien 40*, T2A : *thosea asigna virus 2A*, sypEGFP : *Synaptophysin Enhanced Green Fluorescent Protein*, TVA950 : récepteur cellulaire transmembranaire, cvs11G : *Glycoprotéine*, BRV : *Blue River virus*.

Le suivi post-opératoire des animaux a été réalisé durant les deux semaines suivant la chirurgie car les animaux suivant le protocole 6-OHDA nécessitent une surveillance accrue. Durant les 4 premiers jours, les animaux ont reçu une injection intrapéritonéale de Meloxicam (20mg/kg). De plus, une injection intra-péritonéale quotidienne de solution stérile de glucose 5% (dilution dans solution de NaCl 0.9%) a été réalisée et une injection quotidienne de solution saline (NaCl 0.9%) et ce jusqu'à une reprise du poids 3 jours consécutifs. Enfin, comme les souris présentent des difficultés à se nourrir durant la première semaine post-injection stéréotaxique, du fromage ainsi que de la nourriture liquéfiée leur a été proposés et les souris étaient manipulées afin de leur présenter la nourriture.

Nom	Posologie	Temps d'action	Durée d'action	Voie d'administration
Buprenorphine (0,3mg/mL)	0,1-0,5mg/kg	20min	4-6h	Sous-cutanée
Meloxicam (5mg/mL)	20mg/kg	20min	24h	Sous-cutanée
Lidocaïne 5%		5min	30-60min	Locale
Désipramine (2,5mg/mL)	25mg/kg	30min	1h	Intrapéritonéale

Tableau 3 : Médicaments utilisés lors des chirurgies

La buprénorphine est un antalgique, agoniste morphinique partiel. Le Meloxicam est un anti-inflammatoire non-stéroïdien ayant des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques. La lidocaïne est un anesthésique local. La désipramine est une substance empêchant la déplétion des neurones noradrénergiques.

2. Implantations

Les animaux ont tout d'abord été injectés unilatéralement avec un AAV-Syn-Flex-GCaMP6s-WPRE-SV40 dans le GPe. Deux semaines après l'injection stéréotaxique, les animaux ont subi une seconde chirurgie pour l'implantation d'une lentille (GRIN lens, Ø500µm) (**Figure 23**) surmontée d'une plaque, base d'un

miniscope miniature (nVista, Inscopix) ainsi que l'implantation d'un double-guide canule réalisée par nous-même.

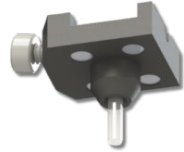


Figure 23 : Lentille surmontée d'une plaque

Les lentilles fournies par Inscopix® ont été implantée intracérébralement et fixée au crâne par du ciment dentaire.

La préparation des animaux et la procédure expérimentale est la même que celle présentée pour les injections stéréotaxiques. Deux craniotomies ont été réalisées, la première aux coordonnées spécifiques du GPe (AP : -0.5mm, ML : -2.2mm, DV : -3.9mm par rapport au bregma) et la deuxième aux coordonnées de la SNc (AP = -4,45mm, ML= 1.4mm, DV = -4.25mm par rapport au bregma, avec un angle de 20°). Pour chacune des craniotomies un premier chemin d'injection a été fait en utilisant une aiguille 20G. Dans la première craniotomie, la lentille était lentement implantée avant d'appliquer du Kwik-Sil™ autour de celle-ci et au-dessus de tout le cerveau exposé pour le protéger. Enfin, du ciment dentaire était appliqué pour fixer la plaque au crâne. Dans le deuxième, le double guide canule a été implanté et du Kwik-Sil™ a été appliqué. Puis le guide canule a été fixé avec du ciment dentaire.

III. Electrophysiologie ex-vivo

1. Préparations des tranches

Les animaux ont reçu une injection intrapéritonéale d'un mélange kétamine/xylazine (40mg/kg; 15mg/kg) pour l'anesthésie. Une thoracotomie, suivie d'une perfusion intracardiaque de 10mL ont été réalisées. La solution de glucose oxygénée pour la

perfusion contenait (en mM) : KCl 2.5; NaH₂PO₄.H₂O 1.25; CaCl₂.2H₂O 0.5; NaHCO₃ 26; MgSO₄.7H₂O 10; Glucose 10; Sucrose 250. Cette étape, non obligatoire, permet d'augmenter la qualité des tranches. Le cerveau a été rapidement extrait après décapitation et transféré dans une solution de sucrose oxygénée d'environ 0°C. Des tranches aiguës de 300 µm d'épaisseur ont ensuite été réalisées en utilisant un vibratome (Leica VT 1200S) avant d'être placées pendant 1h à 35°C dans une solution aCSF (*artificial Cerebrospinal Fluid*) oxygénée contenant (en mM) : NaCl 126 ; KCl 2.5 ; NaH₂PO₄.H₂O 1.25 ; CaCl₂.2H₂O 2 ; NaHCO₃ 2 ; MgSO₄.7H₂O 2 and D-Glucose 10.

2. Matériels et visualisation

Les tranches de cerveau ont été placées dans une chambre d'enregistrement pourvue d'un microscope optique (AxioExaminer Z1 ; Zeiss) et perfusées en continu, à l'aide d'une pompe péristaltique, avec la solution d'aCSF oxygénée (décrite précédemment) à température ambiante. Les corps cellulaires des neurones ont été observés grâce à une illumination de contraste différentiel interférentiel (DIC) ou d'un système d'épifluorescence (HXP120 ; Kubler), dans un premier avec un objectif 10X puis avec un objectif à immersion à eau 63X (APO-CHROMAT ; Zeiss). La détection d'image se faisait à l'aide d'une caméra (AxioCam, Zeiss). Des micropipettes d'enregistrements de 5 à 8 MΩ étaient fabriquées à partir de capillaires en verre borosilicate (GC150F-10, Phymep) sur une étireuse horizontale (P97, Sutter instrument).

Les signaux électrophysiologiques ont été amplifiés et filtrés avec un filtre passe-bas à 4KHz grâce à un amplificateur Multiclamp 700B (Molecular Devices) puis digitalisées à 20kHz (Digidata 1550B, Molecular Devices) au moyen du logiciel Clampex 10.7 (Molecular Devices).

3. Enregistrements électrophysiologiques

Les enregistrements électrophysiologiques ont été réalisés en configuration cellule attachée ou cellule entière. Dans le premier cas, la cellule est attachée de façon hermétique à la micropipette d'enregistrement ce qui permet d'enregistrer l'activité spontanée du neurone. Ces enregistrements sont considérés comme "plus proches" de l'activité physiologique de la cellule qu'en configuration cellule entière. Cette dernière est obtenue en cassant la membrane de la cellule après l'application de petites aspirations à l'aide d'une seringue. Ceci permet d'accéder au milieu intracellulaire du neurone. Cette configuration permet ensuite d'enregistrer l'activité du neurone dans deux modes d'acquisition à savoir le mode "potentiel imposé" et le mode "courant imposé". Le mode potentiel imposé permet de mesurer le courant global médié par les différents canaux présents à la membrane alors que le mode courant imposé permet la mesure du potentiel de membrane qu'il est possible de faire varier afin de manipuler l'activité du neurone.

Nom	Abréviation	[C]	Action	Ref
Acide 2-amino-5-phospho-novalérique	D-AP5	50 μ M	Antagoniste sélectif des récepteurs NMDA	Tocris 0106
6,7-dinitro-quinoxaline-2,3-dione	DNQX	20 μ M	Antagoniste compétitif des récepteurs AMPA	Tocris 2312
SR-95531 hydrobromide	GBZ	2 μ M	Antagoniste des récepteurs GABAA	Tocris 1262
Sumanriole maleate	SUMA	30 μ M	Agoniste hautement sélectif des récepteurs D2 dopaminergiques	Tocris 2773
3,4-Di-hydroxy-L-phenylalanine	L-DOPA	10 μ M	Précurseur de la dopamine	Sigma D9628
QX 314 bromide	QX314	2 mM	Bloqueur des canaux sodiques voltage-dépendants	Tocris 1014

Tableau 4 : Molécules utilisées lors des enregistrements électrophysiologiques ex-vivo.

a. Excitabilité des neurones ARKY

Pour les expériences d'excitabilité, les micropipettes ont été remplies avec une solution intracellulaire mimant le milieu intracellulaire neuronal (in mM) : K-Gluconate 135, NaCl 3.8, MgCl₂.6H₂O 1, HEPES 10, EGTA 0.1, Na₂GTP 0.4, et Mg1.5ATP 2. A cette solution a été ajoutée de la biocytine (2mg/mL) et l'osmolarité et le pH ont été ajustés respectivement à 291 mOsm et 7.4. Durant ces expériences, plusieurs antagonistes ont été ajoutés au milieu extracellulaire afin de bloquer les courants glutamatergiques (AP5 antagoniste des récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate) et DNQX antagoniste des récepteurs AMPA (acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique) **Tableau 4**) d'une part et les courants GABAergiques (GBZ antagoniste des récepteurs GABA_A **Tableau 4**) d'autre part. De plus, d'autres drogues ont été utilisées en fonction des expériences : de la L-DOPA ou encore un agoniste ou antagonistes des récepteurs D2 dopaminergiques (sumanirol ; sulpiride ; **Tableau 4**).

L'activité spontanée des neurones ARKY a été enregistrée en configuration cellule attachée.

En configuration cellule entière, les deux modes d'acquisition ont été utilisés : en mode potentiel imposé, les neurones étaient maintenus à -50mV correspondant au potentiel de membrane au repos des neurones ARKY. Des créneaux de potentiels de 5mV étaient appliqués afin de mesurer la Capacitance membranaire (C_m) et la Résistance membranaire (R_m) des neurones.

En mode courant imposé, l'activité spontanée des neurones a été enregistrée puis des créneaux de courants hyperpolarisants et dépolarisants d'une durée de 1s allant de -100 pA à +275pA ou +300pA ont été appliqués. Ces enregistrements ont permis de mesurer plusieurs paramètres du sag (ratio, amplitude) ainsi que l'amplitude de l'hyperpolarisation lors de l'injection des créneaux dépolarisants et la fréquence de décharge pour chaque valeur de courant dépolarisant injecté.

b. Transmission synaptique

Pour les expériences de transmission synaptique, deux solutions intracellulaires ont été utilisées : soit la solution à base de K-gluconate (décrite ci-dessus), soit une solution à base de Césium-Chlore (in mM) : CsCl 135, NaCl 3.8, MgCl₂·6H₂O 1, HEPES 10, EGTA 0.1, Na₂GTP 0.4, et Mg_{1.5}ATP 2. Du QX314 a été ajouté afin de bloquer les canaux sodiques potentiel-dépendants pour empêcher la genèse de potentiels d'action. Ces deux solutions contiennent aussi de la biocytine (2mg/mL) et ont une osmolarité de 291 mOsm et un pH de 7.4. Durant ces expériences, des antagonistes des récepteurs AMPA et NMDA (DNQX, AP5 **Tableau 4**) ont été ajoutés à la solution extracellulaire afin d'enregistrer uniquement les courants post-synaptiques inhibiteurs. Lors de quelques expériences, de la GBZ (**Tableau 4**) a été ajoutée afin de bloquer les courants post-synaptiques inhibiteurs (CPSI) afin de s'assurer de leur nature GABAergique.

Trois expériences différentes ont été menées : l'étude de la connexion synaptique entre les neurones dMSN et les neurones pallidaux, entre les neurones PRO et les neurones ARKY et enfin entre les neurones ARKY et les MSN. Dans les trois expériences, la technique d'optogénétique a été associée au patch-clamp afin de stimuler respectivement les neurones dMSN, les neurones PRO et les neurones ARKY. Les stimulations optogénétiques ont été réalisées à l'aide d'une fibre optique (\varnothing 500 μ m) placée sur la tranche et connectée à une diode laser d'une puissance de 100mW émettant une lumière d'une longueur d'onde de 450-465 nm (bleu) ou 610-630 nm (rouge) en fonction de l'opsine utilisée (Optogenetics LED Dual, Primatix). Le protocole de stimulation consiste en des pulses de lumière, simples ou doubles ou sous forme de train de stimulation de 10 pulses à une fréquence de 10Hz.

En configuration cellule attachée, l'activité spontanée des neurones pallidaux a été enregistrée puis des trains de stimulation lumineuse (10 pulses, 10 Hz, 1ms) étaient appliqués afin de stimuler les neurones dMSN.

En configuration cellule entière, les deux modes d'acquisition ont été utilisés : en mode potentiel imposé, les neurones étaient maintenus à -50mV afin d'amplifier l'amplitude des CPSI GABAergiques en s'éloignant du potentiel d'inversion du chlore (~ - 83 mV). Des stimulations lumineuses (double ou train de 10 pulses) ont été utilisées afin d'enregistrer les CPSI. Plusieurs paramètres ont ensuite été analysés : le *paired-pulse ratio* (PPR), l'amplitude des courants, le *decay time* et le *rise time* et la latence.

En mode courant imposé, l'activité spontanée des neurones a été enregistrée puis des trains de stimulation lumineuse (10Hz, 10 pulses, 1ms) ont été appliqués afin de tester leur impact sur l'activité de décharge des neurones enregistrés.

4. Traitement post-enregistrement des tranches

A la suite des enregistrements en patch-clamp, les tranches ont été post-fixées avec du paraformaldéhyde (PFA) 4% durant une nuit à 4°C. Puis, elles ont été rincées trois fois avec du PBS 1X (*Phosphate Buffer Saline*) avant d'être conservées dans du PBS-Azide 0.3% dans l'attente du traitement immunohistochimique.

IV. Imagerie calcique *in vivo*

Afin de mesurer les variations de signaux calciques de neurones individuels, un miniscopie miniature (Inscopix Inc.) connecté à une lentille à gradient d'indice (GRIN Lens : Ø500µm, longueur : 6.1mm) a été utilisé. Deux à trois semaines après l'implantation de la lentille, l'habituation, des souris étant reliées à un microscope miniature (Inscopix Inc.) *via* la plaque, a été effectuée dans un *open-field*. Les souris ont été maintenues doucement afin de retirer le couvercle protégeant la plaque et connectées au microscope miniature maintenu à la plaque grâce à un système associant aimants et vis. Le microscope miniature était relié à la boîte d'acquisition des données (nVista, Inscopix Inc.), elle-même connectée à un ordinateur (**Figure**

26). Le niveau de fluorescence a été enregistré à 20 images par secondes, une intensité de diode entre 1 et 2 mW et un gain compris entre 1 et 7.

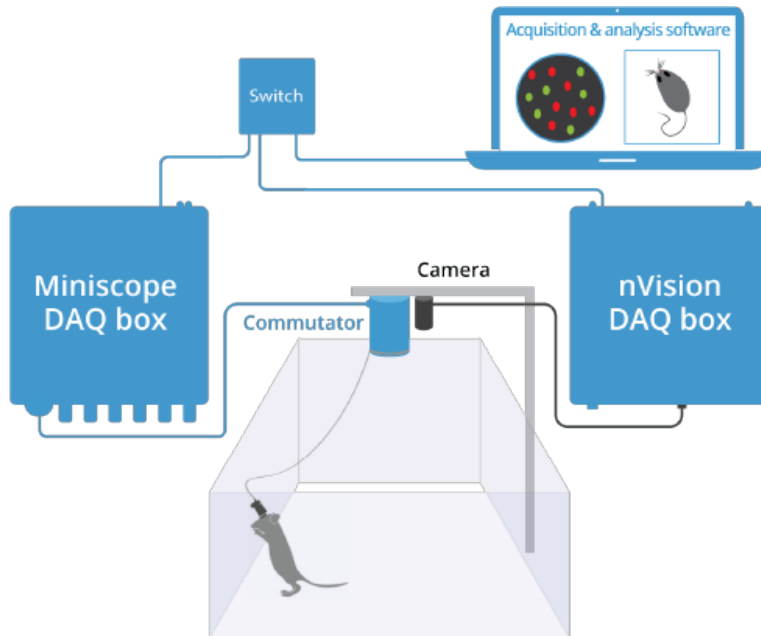


Figure 24 : Connectique permettant l'enregistrement et la visualisation de l'acquisition des signaux calciques en temps réel.

Le miniscope est relié, *via* un commutateur rotatif, à la boîte d'enregistrement des données (Miniscope DAC Box). Une caméra est reliée à la boîte d'enregistrement des données vidéo (nVision DAC Box). Les deux systèmes sont connectés et appariés *via* un switch qui relie un ordinateur pour la visualisation des signaux calciques et de la vidéo comportementale simultanément. Source : Inscopix Inc.

Les signaux calciques ont été extraits en utilisant le logiciel de traitement de données Inscopix. Les données brutes ont été coupées, sous-échantillonnées et filtrées spatialement, le mouvement corrigé. Les neurones individuels ont été manuellement identifiés grâce à l'option ROI (région d'intérêt) manuels et les traces des signaux calciques ont été déconvolutionnées en utilisant la méthode OASIS (*Online Active Set method to Infer Spikes*) (**Figure 25**).

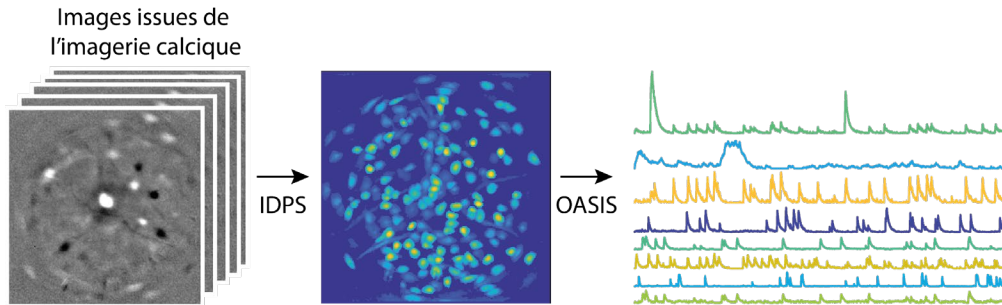


Figure 25 : Analyses des données issues de l'imagerie calcique

Les images issues de l'imagerie calcique sont prétraitées dans IDPS (Inscopix) afin de pouvoir isoler chaque neurone. La méthode OASIS permet la déconvolution des signaux calciques afin d'obtenir les traces des évènements calciques pour chaque neurone identifié.

Afin de comparer l'activité des neurones ARKY dans les trois conditions physiopathologiques, leur activité calcique a été enregistrée longitudinalement au cours du temps.

La procédure d'injection et d'implantation a été décrite plus tôt et peut être retrouvée sous forme de schéma dans la **Figure 26A**. Deux mois après l'injection du vecteur viral (ce qui correspond à 4-5 semaines après l'implantation de la *GRIN Lens* et de du double guide-canule), les animaux ont été connectés au microscope miniature comme précédemment décrit. L'activité calcique des neurones ARKY a été enregistrée durant une session de 10 min dans un *open-field rond* ($\varnothing 30\text{cm}$) et transparent. La boîte d'acquisition des données été synchronisée à une boîte d'acquisition vidéo (nVision, Inscopix Inc) reliée elle-même à une caméra (acquisition d'image 20 fps). La caméra était placée en dessous de l'*open-field* afin de permettre la future détection des comportements des souris.

Puis, les souris ont reçu une injection, *via* le double guide-canule, de 6-OHDA permettant la déplétion des neurones dopaminergiques présents au sein de la SNc. Après 2 semaines, les mêmes souris ont été replacées au sein du même *open-field* et l'enregistrement de l'activité calcique des mêmes neurones a été effectué. Enfin, les souris ont été traitées durant 7 à 10 jours avec une solution de L-DOPA (6 mg/kg + benzérazide 12,5 mg/kg). Elles recevaient une injection intrapéritonéale chaque jour. Puis, elles ont été replacées dans le même *open-field* et l'activité calcique des

mêmes neurones a été enregistré avant l'injection quotidienne de L-DOPA (condition L-DOPA OFF) et après celle-ci (condition L-DOPA ON) (**Figure 26B**).

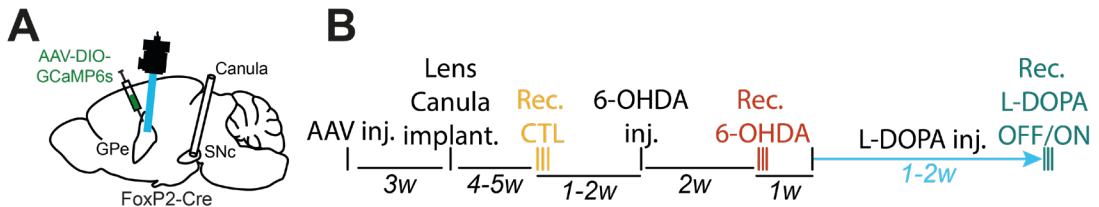


Figure 26 : Plan expérimental du suivi longitudinal de l'activité des neurones ARKY dans les 3 conditions physiopathologiques.

A. Un virus AAV contenant une protéine GCaMP6s est injectée dans le GPe de souris FoxP2-Cre. Une lentille (à laquelle sera connectée un miniscope) est implantée dans la même région. Un guide canule est implanté dans la SNc. **B.** Trois semaines après l'injection virale, la lentille et le guide canule sont implantés. Au minimum deux mois après l'injection virale, l'activité calcique des neurones ARKY est enregistrée chez des souris contrôles (CTL). Puis, la 6-OHDA est injectée *via* le guide canule et deux semaines après, l'activité calcique des neurones ARKY est enregistré chez les souris 6-OHDA. Puis, les souris sont traitées pendant 7 à 10 jours avec un traitement quotidien à la L-DOPA et l'activité calcique des neurones ARKY est enregistrée chez des souris dyskinétiques en condition L-DOPA OFF et L-DOPA ON.

V. Hybridation *in situ* à fluorescence (FISH)

Des hybridations *in situ* à fluorescence (FISH) ont été réalisées en suivant un protocole RNAScope® Multiplex (ACD ; Cat. Kitv2 #323100). Chaque composant utilisé durant l'expérience est décrit dans le protocole. Cette technique consiste en la détection simultanée de différents ARNm.

Les cerveaux des souris C57Bl6 ou FoxP2-Cre ont été disséqués et récupérés frais, sans perfusion préalable. Ils ont ensuite été congelés grâce à un bain de 1 minute dans de l'isopentane refroidi à -40°C. Puis ils ont été conservés à -80°C avant d'être coupés au cryostat. Des tranches de 16µm d'épaisseur ont été réalisées et placées directement sur une lame. Les lames ont ensuite été conservées à -20°C jusqu'au jour de l'expérience.

Le protocole de RNAscope consiste en 2 jours expérimentaux. Le premier jour est réservé à la fixation et la déshydratation des coupes et le deuxième à l'hybridation *in situ*. Durant les deux jours, les paillasse sont nettoyées au RNAaseZap (Invitrogen, Cat. #AM9780) afin d'éviter toute contamination et détérioration des ARNm. Les gants du manipulateur sont aussi régulièrement nettoyés avec cette solution.

Le premier jour, les lames, sur lesquelles les coupes ont été placées, ont été plongées dans un bain contenant une solution de PFA 4%, à 4°C pendant 1h. Puis, après rinçages, les lames ont été plongées dans des bains d'éthanol successifs, chaque bain durant 5 minutes. Le premier bain contenait 50% d'éthanol dilué dans de l'eau distillé, le deuxième 70% et les deux derniers 100%. Puis les coupes sont délimitées par une barrière hydrophobe (stylo spécifique : Fischer Scientific, Cat. #NC9827128) et les lames sont laissées à température ambiante pendant une nuit.

Le deuxième jour, les lames sont plongées dans un bain de PBS 1X stérile, 2 fois de suite. Cette étape de réhydratation est la première et les coupes seront ensuite maintenues hydratées durant tout le protocole. Puis, les coupes sont incubées dans une solution d'H₂O₂ pendant 10 minutes suivie d'une solution contenant de la protéase IV pendant 30 minutes à température ambiante. Entre chaque solution, les lames sont rincées 3 fois dans du PBS 1X stérile.

Le mélange des sondes utilisées (**Tableau 5**) est réalisé puis les coupes sont incubées avec une solution contenant ce mélange à 40°C pendant 2h. A partir de cette étape, chaque rinçage, ayant lieu entre chaque incubation (3 fois 5 minutes) a été effectué avec une solution de Wash Buffer (ACD ; Cat. #310091) dilué au 1/50^{ème} dans de l'eau milliQ. Pour garantir une intensité de signal adéquate, les coupes sont ensuite incubées successivement dans les solutions AMP1, AMP2 et AMP3 pendant 30 minutes à 40 °C.

Le marquage fluorescent des ARNm a été réalisé avec le Kitv2 (**Tableau 5**) : une HRP (peroxydase de raifort, HRP-C1, HRP-C2, HRP-C3) spécifique à chaque sonde (C1, C2, C3) réagit avec un fluorophore associé à une TSA (*Tyramide Signal Amplification*). Ainsi, le protocole suivant est répété 3 fois, pour chaque sonde : les

coupes sont incubées dans une solution contenant l'HRP-C1 pendant 15 minutes à 40°C puis avec une solution contenant la TSA associé au fluorophore désiré pendant 30 minutes et enfin avec une solution contenant un bloqueur d'HRP pendant 15 minutes afin d'arrêter la réaction et de recommencer pour l'HRP suivante.

Après ces trois étapes, les coupes sont incubées dans une solution contenant du DAPI (4',6-diamidino-2-phénylindole) pendant 30 secondes à température ambiante puis, après avoir retiré l'excédent, sont montées avec du Fluoromont (ThermoFisher ; Cat. #00495802) et conservées à 4°C.

Expériences	Génotype	Sondes	Fluorophores
Récepteurs dopaminergiques exprimés dans le GPe	FoxP2-Cre (CTL)	C1-Drd2 C2-FoxP2 C3-Drd1	Opal 650 Opal 520 Opal 570
Evolution de l'expression des récepteurs D2 dans 3 conditions physiopathologiques	C57Bl6 (CTL, 6-OHDA, L-DOPA OFF)	C1-Drd2 C2-FoxP2 C3-Nkx2.1	Opal 650 Opal 520 Opal 570

Tableau 5 : Sondes utilisées pour les expériences d'hybridation *in situ*

VI. Descriptions anatomiques

1. Connexions afférentes

Afin de caractériser les afférences des neurones ARKY et des neurones PRO, nous avons utilisé un virus de la rage modifié, le rabies. Ces modifications consistent à utiliser les caractéristiques d'enveloppe du virus de la rage dans une première construction virale afin d'infecter les cellules et à utiliser les caractéristiques de propagation du virus dans une seconde construction virale afin de marquer toutes les cellules connectées de manière monosynaptique aux cellules d'intérêts, infectées précédemment (**Figure 27**).

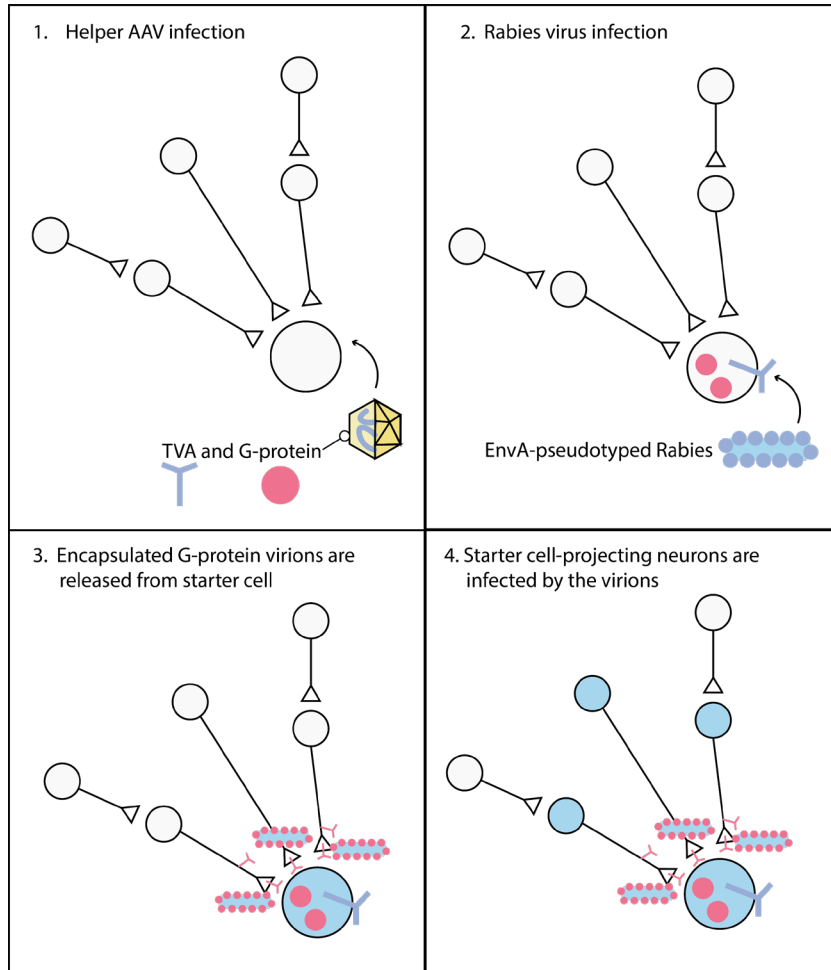


Figure 27 : Principe du marquage rétrograde monosynaptique utilisant des virus de la rage (rabies) modifiés.

(1) Un virus AAV contenant le récepteur TVA et la glycoprotéine G infecte les cellules de départ (*Starter Cell*). (2) Le récepteur TVA est ensuite exprimé par les cellules de départ qui contiennent aussi la glycoprotéine G. Puis, le rabies, recouvert d'une protéine spécifique du récepteur TVA, infecte les cellules qui expriment le récepteur. (3) Grâce à la présence de la glycoprotéine G à l'intérieur des cellules infectées, les virions créés sont recouverts de cette glycoprotéine et peuvent infectés les terminaisons pré-synaptiques des neurones connectés aux cellules de départ. (4) Les neurones pré-synaptiques sont infectés mais ne contiennent pas la glycoprotéine G donc de nouveaux virions ne peuvent pas être créés. Seuls les neurones monosynaptiquement connectés aux cellules de départ sont donc infectés.

Ainsi, les souris FoxP2-Cre ou PV-Cre ont reçu une injection stéréotaxique d'un premier virus dit « *helper* » AAV1-EF1a-DIO-TVA950-T2A-cvs11G-WPRE (**Tableau 2**). Ce virus étant Cre-dépendant, seuls les neurones ARKY FoxP2⁺ ou PRO PV⁺

(dépendant de la lignée transgénique utilisée) sont infectés. Celui-ci contient la protéine membranaire TVA950 qui sera exprimée à la membrane des neurones ARKY/PRO permettant l'infection des mêmes neurones par le second virus. De plus, il contient la glycoprotéine cvs11G qui permet la réplication du second virus. Les virions créés à la suite de cette réplication pourront ensuite infecter de manière rétrograde les neurones connectés aux neurones infectés. Le second virus, BRVenvA-2D (**Tableau 2**), est injecté 4 semaines plus tard aux mêmes coordonnées stéréotaxiques. Les animaux ont ensuite été sacrifiés 7 jours après la deuxième injection. Les animaux ont reçu une injection sous-cutanée de Meloxicam (20 mg/kg) et 10 minutes après, une injection intrapéritonéale d'euthasol (300 mg/kg). Puis ils ont été perfusés avec une solution de PBS 1X et les cerveaux post-fixés dans du PFA 4% pendant une nuit à 4°C avant d'être rincés trois fois dans du PBS 1X et conservés dans du PBS-Azide 0.3%. Des tranches de cerveaux de 50 µm d'épaisseur ont ensuite été réalisées à l'aide d'un vibratome (VT1000S ; Leica microsystem) et les tranches ont été conservées dans la même solution.

2. Connexions efférentes

Afin de caractériser les efférences des neurones ARKY, nous avons utilisé un virus cre-dépendant contenant la protéine pré-synaptique synaptophysine (syp). Ainsi, des souris FoxP2-Cre ont reçu l'injection du virus AAV-hSyn-Flex-tdTomato-T2A-sypEGFP (**Figure 20**) au niveau du GPe. Les neurones ARKY FoxP2⁺ ont été infectés par le virus. 4 semaines après l'injection, les animaux ont été sacrifiés, perfusés avec une solution de PBS1X et les cerveaux ont été post-fixés dans une solution de PFA 4% pendant une nuit. Puis, les cerveaux ont été rincés 3 fois avec une solution de PBS 1X avant d'être conservés dans une solution de PBS azide 0.3%. Des tranches de cerveaux de 50µm d'épaisseur ont ensuite été réalisées à l'aide d'un vibratome (VT1000S ; Leica microsystem) puis conservées dans la même solution de PBSazide.

VII. Procédures histologiques

1. Anatomie

a. Connexions afférentes

Les tranches ont été rincées 3 fois dans du PBS puis ont été immergées dans une solution de saturation/perméabilisation (PBS + Triton 0.3% + NDS/NGS (Sérum normal d'âne/de chèvre) 4%) pendant une heure à température ambiante. Ensuite, la solution contenant les anticorps primaires a été réalisée contenant des anticorps Chicken α -GFP (amplification du virus BRVenvA-2D) et Rabbit α -T2A (protéine contenue dans le virus *helper*) (**Tableau 6**). Les tranches ont été immergées dans cette solution pendant 1 nuit à 4°C. Puis, après avoir été rincées 3 fois dans une solution de PBS, les tranches ont été incubées deux heures à température ambiante dans une solution d'anticorps secondaires contenant les anticorps secondaires Donkey α -chicken exprimant un fluorophore Alexa 488, et les anticorps Donkey α -rabbit exprimant un fluorophore Alexa 568 (**Tableau 6**).

Dans le cadre de l'étude des connexions locales PRO-ARKY, la solution d'anticorps primaires était composée d'anticorps Rabbit α -T2A et Guinea-pig anti-PV. Ainsi la solution d'anticorps secondaires contenait les anticorps Donkey α -rabbit exprimant un fluorophore Alexa 568 et Donkey anti-Guinea Pig exprimant un fluorophore Alexa 647.

Puis elles ont été rincées 3 fois dans une solution de PBS et ont été incubées 5 minutes dans une solution de Hoescht (1/10000^{ème}) qui permet de marquer les noyaux des cellules.

Les tranches ont été rincées une dernière fois avant d'être montées sur lame, sous lamelle dans un milieu de montage Fluoromont (ThermoFisher ; Cat. #00495802).

b. Connexions efférentes

Les tranches ont été rincées 3 fois dans du PBS puis ont été immergées dans une solution de saturation/perméabilisation (PBS + Triton 0.3% + NDS/NGS 4%) pendant une heure à température ambiante. Ensuite, la solution contenant les anticorps primaires a été réalisée contenant des anticorps Chicken α -GFP et Rabbit α -MOR (**Tableau 6**). Les tranches ont été immergées dans cette solution pendant 1 nuit à 4°C. Puis, après avoir été rincées 3 fois dans une solution de PBS, les tranches ont été incubées deux heures à température ambiante dans une solution d'anticorps secondaires Donkey α -chicken exprimant un fluorophore Alexa 488, et des anticorps Donkey α -rabbit exprimant un fluorophore Alexa 568 (**Tableau 6**). Puis elles ont été rincées 3 fois dans une solution de PBS et ont été incubées 5 minutes dans une solution de Hoescht (1/10000^{ème}) qui permet de marquer les noyaux des cellules. Les tranches ont été rincées une dernière fois avant d'être montées sur lame, sous lamelle dans un milieu de montage Fluoromont (ThermoFisher ; Cat. #00495802).

2. Electrophysiologie ex-vivo

Les tranches ont été rincées 3 fois dans du PBS puis ont été immergées dans une solution de saturation/perméabilisation (PBS + Triton 0.3% + NDS/NGS/NGS 4%) pendant une heure à température ambiante. Ensuite, les différentes solutions contenant les anticorps primaires (**Tableau 7**) ont été réalisées et les tranches ont été incubées 1 nuit à 4°C. Puis les tranches ont été rincées 3 fois dans une solution de PBS avant d'être incubées pendant 2 heures dans les différentes solutions d'anticorps secondaires (**Tableau 7**) à température ambiante. Les tranches ont ensuite été rincées 3 fois dans une solution de PBS puis incubées 5 minutes dans une solution de Hoescht (1/10000^{ème}) qui permet de marquer les noyaux des cellules. Les tranches ont été rincées une dernière fois avant d'être montées sur lame, sous lamelle dans un milieu de montage Fluoromont (ThermoFisher ; Cat. #00495802).

	Anticorps	Ac. I/II	[C]	Ref
1)	Chicken α -GFP	Primaire	1/1000	Avec Lab GFP917979
2)	Rat α -RFP	Primaire	1/1000	Chromotek 104272-04-02
3)	Rabbit α -FoxP2	Primaire	1/4000	Millipore 3037985
4)	Goat α -FoxP2	Primaire	1/1000	Santa Cruz #G2216
5)	Rabbit α -T2A	Primaire	1/1000	Sigma #4020930
6)	Guinea-Pig α -PV	Primaire	1/1000	Sysy 5-51
7)	Rabbit α -MOR	Primaire	1/1000	Immunostar 2029001
8)	Rabbit anti-TH	Primaire	1/1000	Novus ajo423g
9)	DaC488	Secondaire	1/500	Jackson Laboratories AB_2340375
10)	GaC488	Secondaire	1/500	Invitrogen #2079383
11)	DaRb488	Secondaire	1/500	Life technologies #2156521
12)	GaRb488	Secondaire	1/500	Invitrogen #2110498
13)	GaGp488	Secondaire	1/500	Invitrogen #2409039
14)	DaRb568	Secondaire	1/500	Life technologies #2207536
15)	GaRb568	Secondaire	1/500	Life technologies #2273773
16)	DaRt594	Secondaire	1/500	Life technologies #2078918
17)	GaRt568	Secondaire	1/500	Invitrogen #1917936
18)	DaRb647	Secondaire	1/500	Invitrogen A31573
19)	GaRb647	Secondaire	1/500	Life technologies #92708

Tableau 6 : Anticorps utilisés dans les différentes expériences.

Ac : Anticorps ; I : primaire ; II : secondaire ; 1) Ac de poulet dirigé contre la GFP, 2) Ac de rat dirigé contre la RFP, 3) Ac de lapin dirigé contre le facteur de transcription FoxP2, 4) Ac de chèvre dirigé contre le facteur de transcription FoxP2, 5) Ac de lapin dirigé contre la protéine T2A, 6) Ac de cochon-dinde dirigé contre la protéine PV, 7) Ac de lapin dirigé contre les répéteurs μ -opioïdes, 8) Ac de lapin dirigé contre la Tyrosine-Hydroxylase, 9) Ac d'âne dirigé contre les Ac de poulet couplé à un Alexa Fluor 488 (Donkey α -chicken), 10) Ac de chèvre dirigé contre les Ac de poulet couplé à un Alexa Fluor 488 (Goat α -chicken 488), 11) Ac d'âne dirigé contre les Ac de lapin couplé à un Alexa Fluor 488 (Donkey anti-rabbit 488), 12) Ac de chèvre dirigé contre les Ac de lapin couplé à un Alexa Fluor 488 (Goat anti-rabbit 488), 13) Ac de chèvre dirigé contre les Ac de cochon-dinde couplé à un Alexa Fluor 488 (Goat anti-guinea pig 488), 14) Ac d'âne dirigé contre les Ac de lapin couplé à un Alexa Fluor 568 (Donkey anti Rabbit 568), 15) Ac de chèvre dirigé contre les Ac de lapin couplé à un Alexa Fluor 568 (Goat anti Rabbit 568), 16) Ac d'âne dirigé contre les Ac de rat couplé à un Alexa Fluor 594 (Donkey anti-rat 594), 17) Ac de chèvre dirigé contre les Ac de rat couplé à un Alexa Fluor 568 (Goat anti-rat 568), 18) Ac d'âne dirigé contre les Ac de lapin couplé à un Alexa Fluor 647 (Donkey anti-Rabbit 647), 19) Ac de chèvre dirigé contre les Ac de lapin couplé à un Alexa Fluor 647 (Goat anti-Rabbit 647).

Expérience	Virus injecté(s)	Ac. I	Ac. II
Excitabilité : Visualiser les neurones enregistrés et remplis à la Biocytine	AAV-DIO-eYFP dans GPe (souris FoxP2-Cre)	Chicken α -GFP Rabbit α -FoxP2	DaC488/ GaC488 Streptavidine 568 DaRb647/ GaRb647
Transmission synaptique : Post-identification des neurones enregistrés dans le GPe et remplis à la biocytine	AAV-DIO-ChR2-dTomato dans dSTR (souris Drd1-Cre)	Rat α -RFP Rabbit α -FoxP2	Streptavidine 488 DaRt594/ GaRt568 DaRb647/ GaRb647
Transmission synaptique : Post-identification des neurones enregistrés dans le GPe et remplis à la biocytine	AAV-DIO-ChR2-dTomato dans GPe (souris PV-Cre)	Rat α -RFP Rabbit α -FoxP2	Streptavidine 488 DaRt594/ GaRt568 DaRb647/ GaRb647
Transmission synaptique : Post-identification des neurones enregistrés dans le STR et remplis à la biocytine	AAV-FLEX-Chrimson-mCherry dans GPe (souris D1-GFP::FoxP2-Cre)	Chicken α -GFP Rat α -RFP	DaC488/ GaC488 DaRt594/ GaRt568 Streptavidine 647

Tableau 7 : Anticorps primaires et secondaires utilisés pour l'identification post-hoc des neurones enregistrés durant les expériences de patch-clamp.

Ac : Anticorps ; I : primaire ; II : secondaire.

3. Imagerie calcique in-vivo

Les animaux ont reçu une injection sous-cutanée de Meloxicam (20mg/kg) suivi d'une injection intrapéritonéale d'euthasol (300 mg/kg). Puis ils ont été perfusés avec une solution de PFA 4%. La lentille ainsi que la canule ont été retirées avant l'extraction du crâne. Puis les cerveaux ont été post-fixés dans du PFA 4% pendant 1 nuit à 4°C. Après plusieurs rinçages au PBS 1X, les cerveaux ont été conservés dans du PBS 1X contenant de l'azide (0.3%). Des tranches de cerveaux de 50 μ m d'épaisseur ont été réalisées au vibratome (VT1000S ; Leica microsystem) puis les tranches ont été conservées dans une solution de PBS 1X-Azide 0.3%.

Afin de confirmer le placement de la lentille ainsi que la transfection des neurones pallidaux, une amplification du signal de la protéine GCaMP a été réalisé.

Brièvement, les tranches ont été rincées avant d'être incubées dans une solution de saturation/perméabilisation (PBS 1X / Triton 0,03% / NDS/NGS 10%). Puis elles ont été incubées dans une solution d'anticorps primaires Chicken α -GFP pendant 1 nuit à 4°C. Le lendemain, après avoir été rincées, les tranches ont été incubées dans une solution contenant les anticorps secondaires Donkey α -Chicken couplés à un Alexa Fluor 488 pendant 2h à température ambiante. Finalement, les tranches ont été rincées et montées sur lames avec du milieu de montage sous lamelle. Les lames ont été conservées à 4°C.

4. Validation du modèle 6-OHDA

Les coupes sagittales et coronales de 300 μ m utilisées lors des expériences d'électrophysiologie *ex-vivo* provenant des cerveaux de souris 6-OHDA et traitées à la L-DOPA ont été immunomarquées pour la TH afin d'évaluer la déplétion dopaminergique dans le striatum.

Elles ont été tout d'abord rincées au PBS 1X, prétraitées pour une inactivation des peroxydases endogènes (H_2O_2 3%) et incubées dans une solution de perméabilisation (PBS + Triton X-100 0,3%). Puis elles ont été incubées une nuit à 4°C dans une solution contenant un anticorps primaire anti-TH. Le lendemain, elles ont été incubées dans une solution contenant un anticorps secondaire biotinylé puis dans une solution contenant le complexe avidine-biotine-peroxydase. Les coupes ont été rincées dans une solution contenant du Tris-HCl avant de réaliser la révélation avec DAB (3,3'-Diaminobenzidine). La réaction a été stoppée grâce au PBS et les coupes ont été montées sur lames gélatinées et sont restées à température ambiante 1 nuit pour séchage. Le lendemain les coupes ont été déshydratées à l'éthanol dans des bains successifs en finissant par une solution de xylène et les lames ont été montées avec un liquide de montage EUKITT.

Les coupes ont été scannées, et la densité optique de la TH a été mesurée dans le striatum de chaque hémisphère avec ImageJ (NIH). La perte dopaminergique a été exprimée en pourcentage de la densité ipsilatérale par rapport à la densité

controlatérale. Seules les souris avec une déplétion supérieure à 80 % ont été incluses dans l'étude.

VIII. Observations microscopiques

Les images en fluorescence sont issues d'acquisitions réalisées sur un microscope à épifluorescence (Olympus) ou au Scanner de lames (Hamamatsu NANOZOOMER 2.0HT) pour les images de basse magnification et sur un microscope confocal SP5 (Leica microsystem) ou encore un microscope confocal Zeiss Cell Discoverer 7 (Carl Zeiss©) en utilisant le logiciel Zen pour les images de haute magnification.

Connexions afférentes : dans un premier temps, les lames ont été imagées au Scanner de lames (Hamamatsu NANOZOOMER 2.0HT). Puis les régions cérébrales contenant des neurones présynaptiques ont été imagées au microscope confocal Zeiss Cell Discoverer 7 (Carl Zeiss©), à l'objectif 5x. Les acquisitions ont été réalisées dans le z avec un pas de 3µm.

Connexions efférentes : dans un premier temps, les lames ont été imagées au Scanner de lames (Hamamatsu NANOZOOMER 2.0HT). Puis, des acquisitions de haute magnification ont été réalisées au microscope confocal Zeiss Cell Discoverer 7 (Carl Zeiss©). Le striatum a été imagé en entier, sur un seul plan focal, à l'objectif 20x. Puis, par échantillonnage, des régions dorsale et médiale du striatum dorsal ont été imagées dans le z avec un pas de (1µm) avec un objectif 50x.

Hybridation *in situ* en fluorescence : le GPe entier, ou seulement des régions échantillonnées du GPe ont été imagés au microscope confocal Zeiss Cell Discoverer 7 (Carl Zeiss©). Des acquisitions dans le z avec un pas de 0.70 µm ont été réalisées avec l'objectif 20x.

Identification des neurones : toutes les tranches utilisées pour l'enregistrements des neurones en patch-clamp ont été imagées afin de vérifier le site d'injection (1) au microscope à épifluorescence (Olympus) avec l'objectif 10x, puis afin de vérifier la nature des neurones enregistrés, au microscope confocal SP5 (Leica microsystem) (2). Les acquisitions confocales ont été réalisées dans le z avec un pas de 1 à 3 μm et avec l'objectif 20x.

IX. Analyses des données

1. Electrophysiologie *ex-vivo*

Les analyses ont été réalisées sur l'application Clampfit provenant du logiciel pClamp 10.3 et OriginPro 8.0 (Microcal Software). Certaines analyses ont été effectuées grâce à un script *ABFAnalyzer* écrit par Margaux Lebouc (Lebouc, 2025). Les couleurs utilisées représentent les groupes expérimentaux : CTL=jaune, 6-OHDA=rouge, L-DOPA OFF=vert, L-DOPA ON=bleu.

a. Propriétés intrinsèques des neurones ARKY

En utilisant Clampfit, les PA ont été détectés et l'intervalle inter-PA (ISI) ainsi que la fréquence de décharge instantanée ont été calculés. La fréquence de décharge moyenne des neurones ARKY correspond à la moyenne des fréquences instantanées sur des périodes de deux minutes pour les enregistrements en cellule attachée et d'une minute pour les enregistrements en cellule entière et a été exprimée en Hz. Le coefficient de variation (CV) reflète la régularité de l'activité spontanée des neurones ARKY et a été calculée comme la (déviation standard des ISI)/(moyenne des ISI). Les caractéristiques des PA ont été calculées en utilisant Origin 7.0. La valeur du pic d'hyperpolarisation suivant le PA (AHP) a été obtenu en détectant la valeur de potentiel de membrane la plus négative après chaque PA. Le seuil de déclenchement du PA (APth) a été calculé grâce au script implémenté dans

le logiciel (Baufreton et al., 2005). Il détecte le premier point de « l'accélération » positive soutenue du potentiel membranaire $[(dV/dt)/dt]$ dépassant 2 écarts-types (SD) par rapport au potentiel de membrane de base, quelques millisecondes avant le seuil du PA. L'amplitude de l'hyperpolarisation post-décharge (AHPmag) a été calculée en soustrayant l'APth du pic de l'AHP ($AHPmag = APth - AHPpeak$). Pour toute information graphiquement résumée, se référer à la **Figure 41**.

Le sag ratio est obtenu en divisant le plateau du sag par la valeur du pic d'hyperpolarisation lorsque les neurones sont hyperpolarisés avec un courant de -100 pA pendant 1 seconde.

Les courbes de réponse fréquence-courant ont été obtenues par injection de courants incrémentaux de -100 pA à 300 pA (durée de 1 seconde ; paliers de 25 pA). Les fréquences ont été calculées comme décrit précédemment.

En configuration potentiel imposé, la résistance membranaire et la capacitance membranaire ont été mesurées à l'aide de d'un créneau de potentiel de -5 mV. La résistance membranaire a été calculée à partir de la loi d'Ohm $U = RI$, avec $U = -5$ mV and I correspondant à la différence entre la valeur de courant mesurée avant le créneau de potentiel et celle mesurée à la fin du créneau de potentiel. La capacitance membranaire a été calculée en divisant l'aire sous la courbe du courant capacitif par l'amplitude du pic du courant capacitif après annulation du courant de fuite (**Figure 28**).

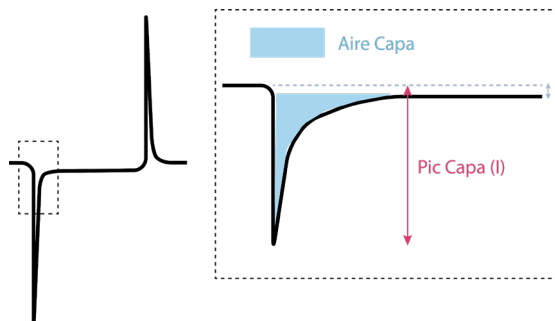


Figure 28 : Analyse de la capacitance

La capacitance est calculée comme suit : Aire (bleu) / Amplitude (I rouge) après avoir retiré le courant de fuite (espace délimité par les pointillés).

b. Optogénétique

L'effet des stimulations optogénétiques sur l'excitabilité ou la fréquence de décharge des neurones du GPe a été étudié à l'aide d'enregistrements en configuration cellule attachée et cellule entière.

Pour caractériser la transfection striatale ou pallidale, nous avons examiné la variation de la fréquence de décharge en réponse à une stimulation optique utilisant des trains d'impulsions à 10 Hz avec une puissance laser de 100 mW à l'extrémité de la fibre optique.

Configuration cellule attachée : pour le calcul de la fréquence de décharge des neurones du GPe lors des stimulations optiques dMSN-GPe, nous avons utilisé des trains d'impulsions à 10 Hz (10 impulsions, 1 ms de durée ; puissance laser : 100 mW). Des graphiques de type *raster plot* ont été générés pour chaque essai, et la fréquence de décharge moyenne a été calculée pour chaque neurone avec une taille de bin de 50 ms afin de générer des représentations au niveau de la population. La fréquence de décharge moyenne a été calculée à partir des périodes OFF/ON de la stimulation laser.

Configuration cellule entière : La détection des CPSI a été réalisée de façon semi-automatique sur Clampfit ou *via* le script ABFAnalyzer (Lebouc, 2025). L'amplitude des CPSI a donc été calculée automatiquement par l'une ou l'autre méthode. Les valeurs de PPR ont été calculées en divisant l'amplitude de chaque CPSI du train par celle du premier CPSI (CPSI_n/ICPSI₁). La latence a été calculée comme la différence de temps entre la fin du créneau de stimulation et le début du CPSI. Le *rise time* est le temps nécessaire pour que le potentiel de membrane passe de 10% de son amplitude maximale à 90% de son amplitude maximale. Le *decay time* correspond au temps nécessaire pour que l'amplitude du potentiel passe de 90% de son amplitude maximale à 10%. Ces valeurs ont été calculées automatiquement dans Clampfit.

2. Imagerie calcique *in-vivo*

Les données issues du prétraitement sur le logiciel IDPS ont été ajoutées à la plateforme en ligne IDEAS (Inscopix Inc.). Les données ont été analysées automatiquement pour les données avant/après L-DOPA ou agoniste D2.

Les corrélations entre les signaux calciques et les comportements ont été réalisées grâce à un logiciel *open-source* Deepethogram (Bohnslav, 2025) et un script fait maison. Deepethogram permet d'associer un comportement préalablement défini à une image d'une vidéo. Les vidéos ont été acquises grâce à une caméra GoPro dont l'acquisition était de 120 fps (images par seconde). Puis les comportements ont été corrélés à l'activité calcique grâce au script fait maison.

3. Acquisitions en microscopie confocale

a. Connexions afférentes

Les images issues de l'acquisition au scanner de lames ont été découpées afin d'isoler chaque tranche montée sur la lame sur ImageJ (NIH). Les tranches ont ensuite été semi-automatiquement apposées à l'Atlas provenant de l'Allen Brain Atlas (Sunkin et al., 2013) en utilisant le module Fiji/QuPath nommé ABBA pour « *Apposing Big Brain Atlases* ». Puis, les régions dans lesquelles se trouvaient des neurones GFP⁺ ont été imagées à plus haute magnification. Le nombre de neurones GFP⁺ ont été comptés manuellement dans chaque région. Afin de normaliser entre les animaux, les données ont été exprimées en pourcentage des afférences totales comptées par animal.

b. Connexions efférentes

Les images confocales acquises ont été traitées sur ImageJ (NIH) en association avec l'extension créée par Thibault Dhellemmes, B3D (Dhellemmes, 2025). Dans un premier temps, les régions striosomales ont été délimitées à la main, puis les objets marqués par la synaptophysine ont été détectés automatiquement après détermination d'un seuil. Les données issues de l'analyse automatique sont : le nombre d'objets et le volume de marquage.

c. Hybridation in situ en fluorescence

Les images confocales acquises ont été traitées sur ImageJ (NIH) en association avec l'extension créée par Thibault Dhellemmes, B3D (Dhellemmes, 2025). Les ARNm ont été détectés automatiquement après détermination d'un seuil. Les données issues de l'analyse automatique sont : le nombre d'objets et le nombre et le volume de colocalisation entre deux marqueurs.

d. Identification des neurones

Les images confocales acquises ont été traitées sur ImageJ (NIH). La colocalisation entre deux marqueurs est attestée sur un même plan focal afin de déterminer la nature du neurone enregistré. Puis les images illustratives sont issues d'une moyenne de tous les plans focaux à leur intensité maximale.

4. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée avec Prism 8 (GraphPad Software, États-Unis). Les données dans le texte sont présentées sous forme moyenne \pm S.E.M. Pour les comparaisons entre deux groupes appariés, un test non paramétrique de Wilcoxon a été utilisé (*Wilcoxon Signed Rank*, WSR). Pour les comparaisons entre trois

groupes indépendants, un test non paramétrique de Kruskal-Wallis (KW) a été utilisé suivi d'un test post hoc de comparaison multiple de Dunn's. Pour la comparaison de groupes ou de courbes de réponse Fréquence-Intensité, l'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance à deux facteurs (2W-ANOVA), suivie d'un test post hoc de comparaisons multiples de Sidak. Les données étaient considérées comme significatives pour $p < 0.05$.

Toutes les figures ont été réalisées grâce au logiciel Illustrator (Adobe 2025).

RÉSULTATS

I. Caractérisation anatomique et fonctionnelle des neurones du GPe

1. Connectivité afférente des neurones du GPe

a. Cartographie à l'échelle du cerveau entier des afférences des neurones ARKY

Dans le but de caractériser plus précisément les neurones ARKY et d'étudier leurs connexions principales et leurs possibles altérations en conditions pathologiques, nous avons cartographier, à l'échelle du cerveau entier, les afférences de ces neurones. L'utilisation de virus de la rage modifiés (*rabies*) chez une souris FoxP2-Cre nous a permis de marquer de manière spécifique tous les neurones pré-synaptiques connectés de manière monosynaptique aux neurones ARKY (**Figure 29A**). Dans un premier temps, nous avons vérifié que la transfection virale était restreinte au GPe (**Figure 29B**) et quantifié le nombre de neurones ARKY primo-infectés par le virus, les *Starter-Cells*, c'est-à-dire, ceux dont les afférences ont été marquées (**Figure 29C-E**). Quatre des huit souris ayant reçu les injections stéréotaxiques ont été validées pour le site d'injection et leur nombre de *Starter-Cells* quantifié. Au total, 100 *Starter-Cells* (25 ± 9.23 *starter-cells* par souris) ont été comptées sur la totalité des animaux, et leur position au sein du GPe indique qu'elles étaient dispersées dans la structure (**Figure 29C-E**). Puis, le nombre de neurones pré-synaptiques connectés aux neurones ARKY primo-infectés ont été comptés et regroupés par structure selon la classification de l'Allen Brain Atlas (Sunkin et al., 2013) (**Figure 29F**). Le STR est la structure projetant de manière la plus importante aux neurones ARKY ; il représente 66,9% des afférences totales de ces neurones. Puis, le GPe (15,3%), le NST (STN ; 2,6%), les cortex moteur secondaire (MOs ; 1,8%) et somato-sensoriel (SSc ; 1,5%), l'amygdale centrale (CEA ; 1,3%) le thalamus (ITN ; 1,7% et MED ; 0,5%), le Noyau Raphé (MRN ; 0,8%) sont les autres afférences majeures du GPe (**Figure 29F-H**).

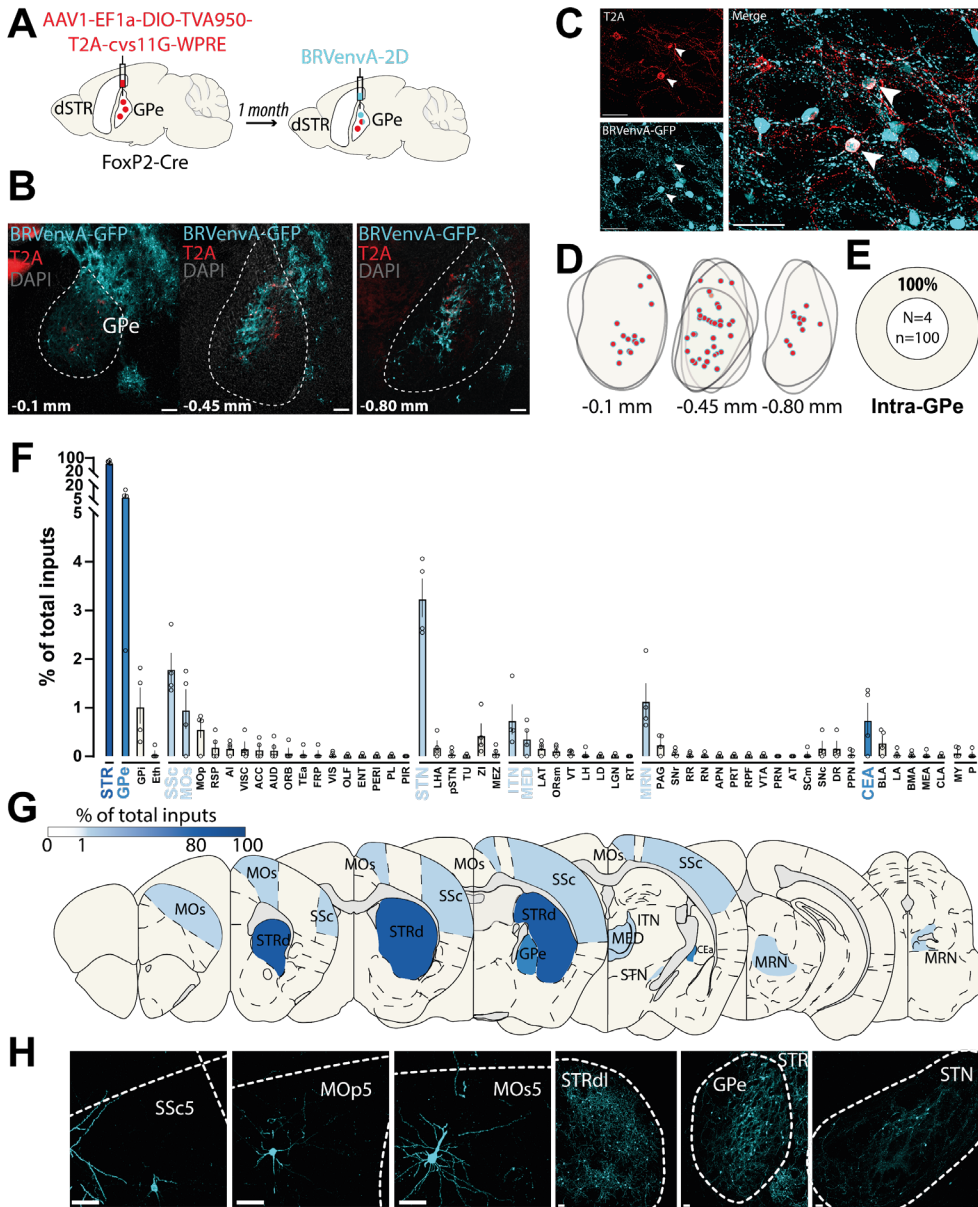


Figure 29 : Cartographie des afférences des neurones ARKY

A. Stratégie virale, chez des souris FoxP2-cre, consistant en l'injection intrapallidale d'un virus cre-dépendant dit « *helper* » contenant la protéine TVA950 et la glycoprotéine G (1) suivie de l'injection, 4 semaines après, d'un virus de la rage modifié dit « *rabies* » (BRVenvA-2D) pouvant infecter les cellules exprimant à leur membrane les récepteurs TVA950 (2). Ces cellules possèdent aussi la glycoprotéine G permettant la réplication des rabies. Ainsi, les virions peuvent ensuite infecter toutes les cellules monosynaptiquement connectées (de manière rétrograde). **B.** Images confocales montrant les cellules primo-infectées (« *Starter cells* ») restrictivement contenues au sein du GPe. **C.** Image confocale de plus haute résolution montrant des *Starter cells* colocalisant le marqueur T2A (virus *helper*) et le virus

rabies (BRVenvA). **D.** Localisation des *Starter cells* au sein du GPe sur trois niveaux antéro-postérieurs. **E.** Quantification intrapallidale des *Starter cells*. **F.** Quantification, sur cerveau entier, des neurones pré-synaptiques connectés monosynaptiquement aux neurones ARKY, regroupés par structure selon la classification de l'Allen Brain Atlas (Sunkin et al., 2013). **G.** Représentation graphique des 9 structures regroupant le plus grand nombre de neurones monosynaptiquement connectés aux neurones ARKY. **H.** Images exemples des neurones pré-synaptiques connectés aux neurones ARKY. De la gauche vers la droite : Neurone de la couche 5 du cortex somato-sensoriel (SSc5), neurone de la couche 5 du cortex moteur primaire (MOp5), neurone de la couche 5 du cortex moteur secondaire (MOs5), neurones du striatum dorsolatéral (STRdl), neurones du GPe, neurones du noyau sous-thalamique (STN). Les graphiques en barre représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviation standard à la moyenne). Chaque point représente une valeur individuelle. N=4.

b. Cartographie à l'échelle du cerveau entier des afférences des neurones PRO

Après avoir caractériser les afférences des neurones ARKY, nous avons réalisé la même expérience chez des souris PV-Cre dans le but d'une comparaison avec les afférences des neurones PRO (**Figure 30A**). Le nombre total de neurones primo-infectés est de 215 chez deux animaux (107.5 ± 40.5 *starter-cells* par souris) et ils sont localisés à 100% dans le GPe, en majorité au centre des régions antérieure et médiane du GPe (**Figure 30B-E**). La quantification des neurones pré-synaptiques afférents et leur regroupement selon l'Allen Brain Atlas (Sunkin et al., 2013) a montré que six régions cérébrales regroupent les afférences majeures (>1%) des neurones PRO. Le STR, notamment sa partie dorsale, est l'afférence la plus importante des neurones PRO. Il représente $82,98 \pm 0,77\%$ des afférences totales (**Figure 30F**). Les neurones du NST sont la deuxième afférence la plus importante bien qu'ils ne représentent que $3,87 \pm 2,09\%$ des afférences totales. De manière presque équivalente, les neurones du GPe représentent $3,76 \pm 2,37\%$ des afférences des neurones PRO. Les cortex moteurs secondaire (MOs : $1,49 \pm 0,96\%$) et primaire (MOp : $1,42 \pm 1,06\%$) ainsi que le GPi ($1,20 \pm 0,37\%$) font aussi partis des afférences majeures. Enfin, le thalamus (ITN) représente $1,11 \pm 0,64\%$ des afférences totales des neurones PRO (**Figure 30F**).

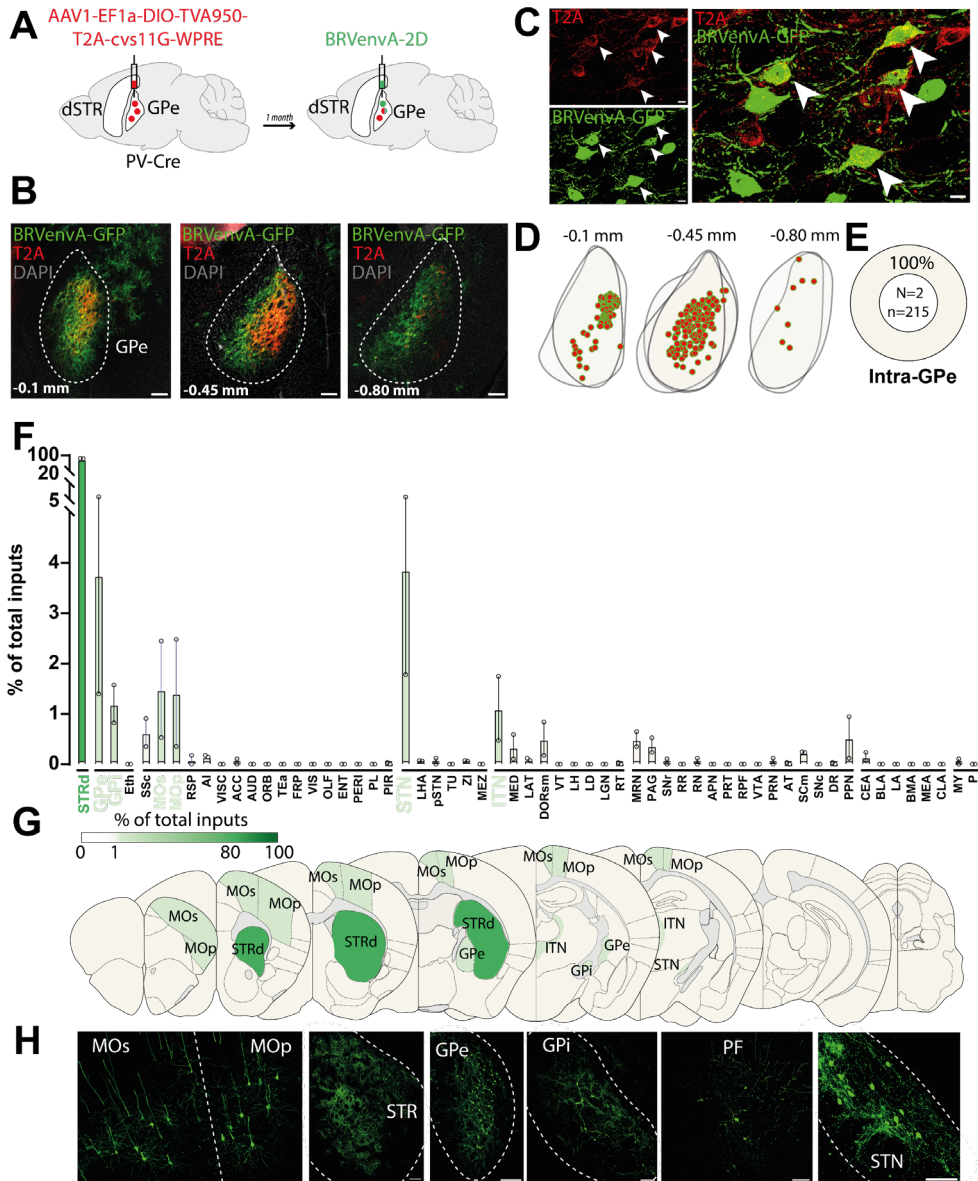


Figure 30 : Cartographie des afférences des neurones PRO

A. Stratégie virale, chez des souris PV-cre, consistant en l'injection intrapallidale d'un virus cre-dépendant dit « *helper* » contenant la protéine TVA950 et la glycoprotéine G (1) suivie de l'injection, 4 semaines après, d'un virus de la rage modifié dit « *rabies* » (BRVenVA-2D) pouvant infecter les cellules exprimant à leur membrane les récepteurs TVA950 (2). Ces cellules possèdent aussi la glycoprotéine G permettant la réplication des rabies. Ainsi, les virions peuvent ensuite infecter toutes les cellules monosynaptiquement connectées (de manière rétrograde). **B.** Images confocales montrant les cellules primo-infectées (« *Starter cells* ») restrictivement contenues au sein du GPe. **C.** Image confocale de plus haute magnification montrant des *Starter cells* colocalisant le marqueur T2A (virus *helper*) et le virus rabies (BRVenVA). **D.** Localisation des *Starter cells* au sein du GPE sur trois niveaux antéro-

postérieurs. **E.** Quantification intrapallidale des *Starter cells*. **F.** Quantification, sur cerveau entier, des neurones pré-synaptiques connectés monosynaptiquement aux neurones PRO (PV⁺), regroupés par structure selon la classification de l'Allen Brain Atlas (Sunkin et al., 2013). **G.** Représentation graphique des 7 structures regroupant le plus grand nombre de neurones monosynaptiquement connectés aux neurones PRO (PV⁺). **H.** Images exemples des neurones pré-synaptiques connectés aux neurones PRO (PV⁺). De la gauche vers la droite : Neurones du cortex moteur primaire (MOp) et secondaire (MOs), neurones du striatum (STR), neurones du GPe, neurones du GPi, neurones du noyau parafasciculaire du thalamus (PF), neurones du noyau sous-thalamique (STN). Les graphiques en barre représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviation standard à la moyenne). Chaque point représente une valeur individuelle. N=2

2. Existence d'une dichotomie fonctionnelle dans le GPe du primate non-humain

a. Profil moléculaire de deux populations neuronales du GPe chez le primate non-humain

L'existence d'une dichotomie neuronale dans le GPe s'appuie essentiellement sur des données moléculaires et électrophysiologiques collectées chez le rongeur (Abdi et al., 2015 ; Dodson et al., 2015), laissant la possibilité que cette dichotomie soit restreinte aux rongeurs. Afin de déterminer si cette organisation cellulaire existe aussi chez le primate et par extension chez l'Homme, nous avons entrepris une caractérisation immunohistochimique sur des coupes de *Macaca fascicularis*. Ces expériences ont été réalisées en collaboration avec l'équipe du Dr Bézard et en particulier avec Marie-Hélène Canron qui possède l'expertise en immunohistochimie sur coupes fines en paraffine. Nous avons ainsi procédé à un triple marquage dirigé respectivement contre les protéines FoxP2, PV et MAP2 (*Microtubule-associated protein 2*) (un marqueur neuronal) au niveau du GPe de 5 PNH (**Figure 31**).

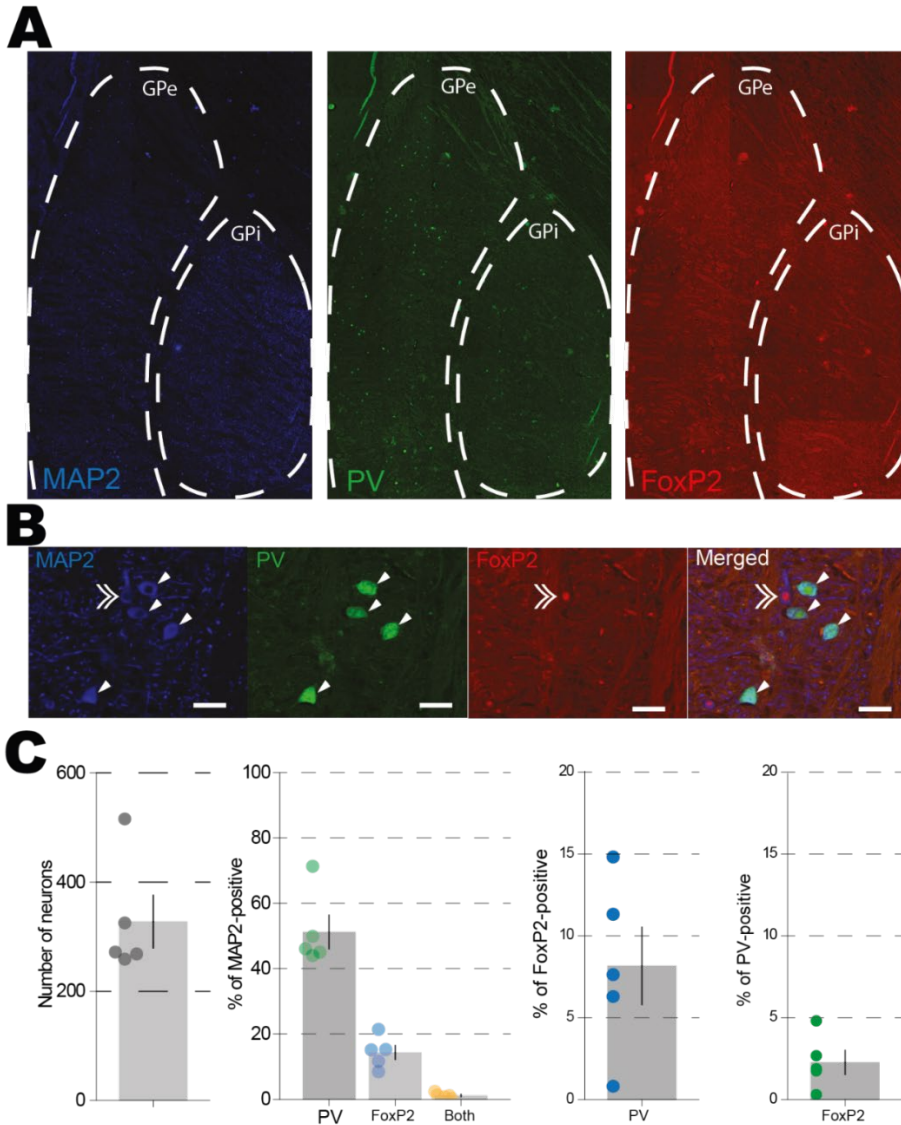


Figure 31 : Caractérisation anatomique de deux populations neuronales distinctes dans le GPe de primates non-humains.

A : Marquages immunohistochimiques contre la protéine MAP2, parvalbumine (PV) et FoxP2 au niveau d'une coupe coronale contenant le GPe et GPi. **B** : Images à plus fort grossissement au niveau du GPe montrant l'absence de colocalisation entre le marquage PV et FoxP2. **C** : Quantification du nombre de neurones détectés dans le GPe et du pourcentage de chaque population. **D** : Graphes indiquant le degré de colocalisation entre la PV et FoxP2. Les graphiques en barre représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviati on standard à la moyenne). Chaque point représente une valeur individuelle. N=5.

Les marquages immunohistochimiques ont révélé que la moitié des neurones quantifiés expriment la protéine PV ($PV^+ = 51.21 \pm 5.11$). Moins d'un quart des

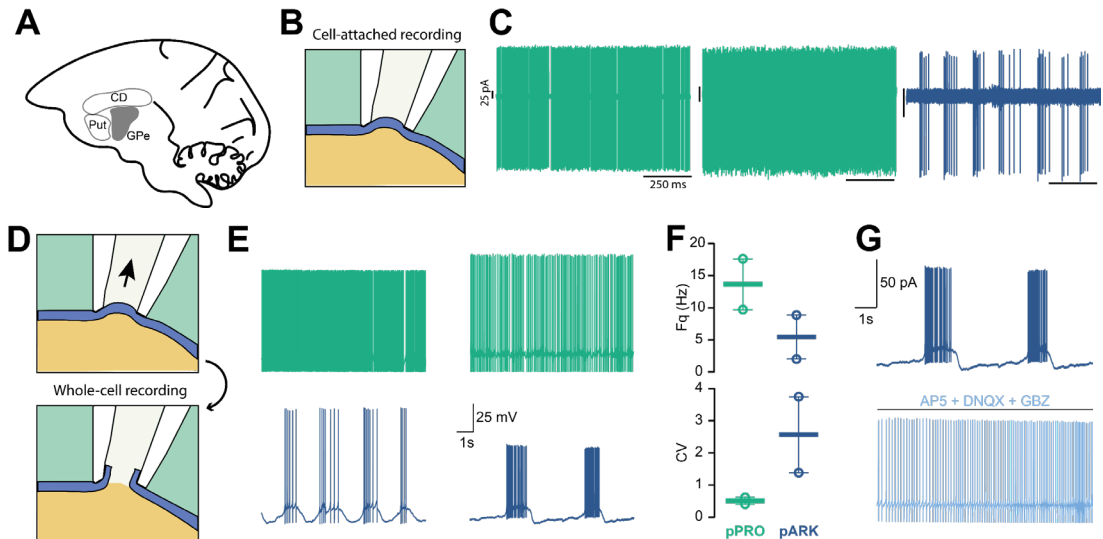
neurones du GPe expriment le facteur de transcription FoxP2 ($\text{FoxP2}^+ = 14.34 \pm 2.16$). Enfin, une quantité infime de neurones coexpriment les marqueur PV et FoxP2 ($\text{PV}^+/\text{FoxP2}^+ = 1.16 \pm 0.35$) (**Figure 31**).

b. Profil électrophysiologique de deux populations neuronales du GPe chez le primate non-humain

Nous avons aussi eu l'opportunité de réaliser des enregistrements en patch-clamp sur des tranches aiguës de cerveau de PNH. Nous avons obtenu des données électrophysiologiques de quatre neurones pallidaux provenant de deux primates différents (**Figure 32**). L'un des deux primates (M3) avait reçu une injection intracérébrale de *retrobeads* au niveau du striatum. Ainsi, les neurones enregistrés sont des neurones projetant au STR, que nous avons donc nommés « ARKY putatifs » (pARK) en opposition aux autres neurones enregistrés qui ne présentaient pas les mêmes signatures électrophysiologiques et que nous avons donc nommés « PRO putatifs » (pPRO).

Dans un premier temps, nous avons enregistré l'activité de trois neurones pallidaux en configuration cellule attachée (**Figure 32B**). Les fréquences de décharge des neurones pPRO se situent autour de 28Hz (27.08 Hz et 28.01 Hz) alors que le neurone pARK présente une fréquence de décharge inférieure, de 11.56 Hz. De plus, les neurones pPRO ont une fréquence de décharge plus régulière (CV de 0.26 et 0.43) que le neurone pARK (CV=1.27) (**Figure 32C**). Les enregistrements en configuration cellule entière (**Figure 32D**) sont en accord avec les fréquences de décharge observées en cellule attachée. Les neurones pPRO présentent une fréquence de décharge plus importante ($Fq = 13.68 \pm 3.96$ Hz, $n=2$) que les neurones pARK ($Fq = 5.46 \pm 3.43$ Hz) ainsi qu'un coefficient de variation inférieur (pPRO CV = 0.51 ± 0.11 ; pARK CV = 2.57 ± 1.18 , $n=2$) (**Figure 32E/F**). En effet, nous avons pu observer que les neurones pARK présentent une activité particulière sous forme de bouffées de potentiel d'action, qui est totalement abolie par l'application

d'antagonistes des récepteurs glutamatergiques (AP5 et DNQX) et des récepteurs GABA_A ; le coefficient de variation passant de 3.75 à 0.38 (**Figure 32G**).



Par la suite, nous avons analysé les paramètres des potentiels d'action (PA), à savoir le seuil de déclenchement du PA (AP_{th}), l'amplitude du PA (AP_{amp}), la demi-durée du PA (AP_{hw}) et l'amplitude de l'hyperpolarisation (AHP_{mag}) (**Figure 33A**). Les valeurs des paramètres mesurés sont regroupées dans le **Tableau 8**. Les neurones pPRO et pARK présentent des paramètres de PA comparables (**Figure 32B-C**)

suggérant que ces paramètres ne permettent pas de discriminer les deux types neuronaux.

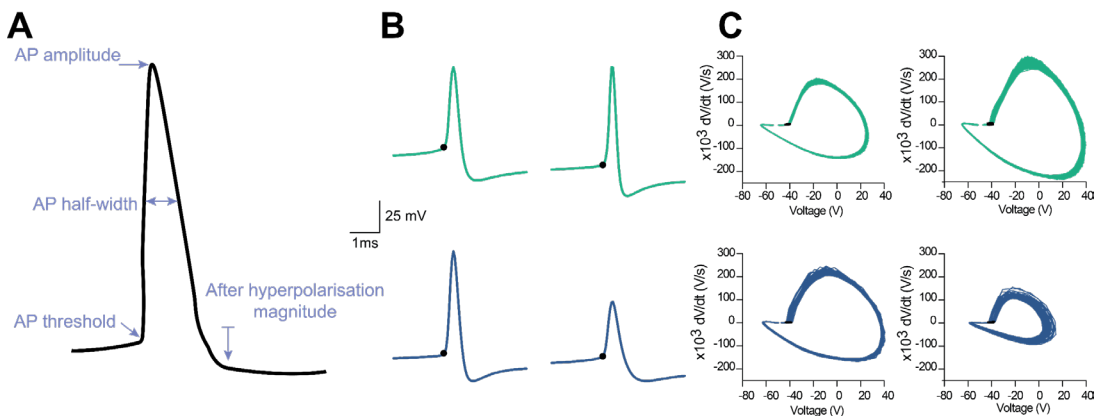


Figure 33 : Caractéristiques des potentiels d'action des neurones du GPe chez le primate non-humain

A. Représentation graphique d'un potentiel d'action et des paramètres analysés. **C.** Traces représentatives d'un potentiel d'action de chaque neurone enregistré. **C.** *Phase plots* représentatifs de chaque neurone enregistré. AP : Potentiel d'action ; AHP : *after hyperpolarization* ; APth : *AP threshold* ; APhw : *AP half-width* ; APamp : *AP amplitude*.

N° primate	Phénotype	APth (mV)	APhw (ms)	APamp (mV)	AHP (mV)
M1_c1	pPRO	-41.93	0.25	49.47	22.9
M1_c3	pARK	-41.25	0.19	60.69	23.84
M3_c1	pARK	-41.56	0.28	71.50	21.12
M3_c2	pPRO	-40.43	0.42	50.22	18.29

Tableau 8 : Paramètres des potentiels d'action des neurones enregistrés chez le primate non-humain.

APth: *AP threshold*; *APhw*: *AP half-width*; *APamp*: *AP amplitude*; *AHP*: *after hyperpolarization*.

Nous avons aussi étudié les caractéristiques de décharge évoquée des neurones pallidaux en appliquant des créneaux de courants électriques allant de -150pA à 225pA. Dans un premier temps, nous avons analysé l'hyperpolarisation du potentiel de membrane des neurones en réponse à des créneaux de courants négatifs (**Figure 34A-B**). Nous avons tout d'abord analysé le sag, correspondant à la différence entre le pic de l'hyperpolarisation et le plateau à la fin du créneau de courant indiqués, respectivement, par un rond et un triangle sur la **Figure 34A**. L'amplitude du sag (**Figure 34A**), pour un courant imposé de -150pA, n'est pas significativement différente entre les neurones pPRO ($sag_{AMP} = 9.827 \pm 4.67$ mV) et pARK ($sag_{AMP} = 6.70 \pm 3.62$ mV). Cependant, il a tendance à diminuer lorsque les courants négatifs imposés sont moins importants (courant imposé -50pA ; pPRO : $sag_{AMP} = 4.43 \pm 1.59$ mV ; pARK : $sag_{AMP} = 2.85 \pm 1.39$ mV) (**Figure 34A**). Enfin, nous avons analysé leur fréquence de décharge lors de l'application de créneaux de courants dépolarisants (**Figure 34C-D**). Les neurones pPRO ont tendance à être plus excitable que les neurones pARK car leur fréquence de décharge est plus élevée (pPRO : $Fq = 82.99 \pm 8.52$ Hz ; pARK : $Fq = 57.12 \pm 30.66$ Hz) pour des créneaux de courants similaires (+100 pA) (**Figure 34D**).

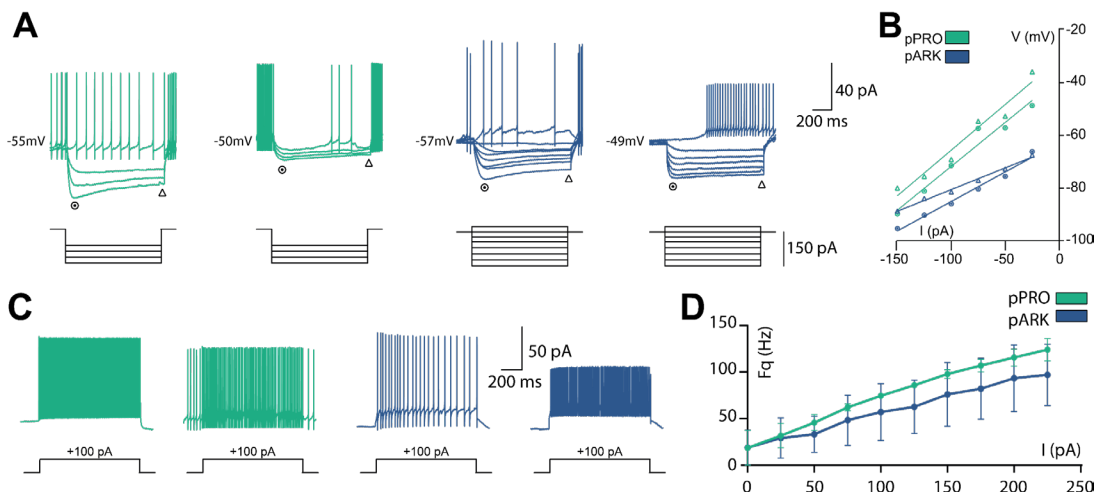


Figure 34 : Caractérisation des propriétés actives des neurones du GPe chez le primate non-humain.

A. Traces représentatives de l'hyperpolarisation et de l'activité de chaque neurone enregistré pendant l'application de créneaux de courants négatifs et du premier courant positif induisant

la décharge des neurones. Les ronds et triangles représentent le pic de l'hyperpolarisation et les triangles représentent l'état stable du potentiel de membrane, mesures prises pour analyser le sag. **B.** Valeurs de l'hyperpolarisation au niveau du pic et du plateau de l'hyperpolarisation. **C.** Traces représentatives de l'activité des neurones pour un créneau de courant de 100 pA. **D.** Graphique représentant la fréquence de décharge des neurones pPRO et pARK en fonction du courant imposé. Les graphiques en courbe représentent la valeur moyenne (point) et l'intervalle représente la SEM (déviation standard à la moyenne).

II. Rôle des neurones ARKY dans la physiopathologie de la MP

1. Validation des modèles

a. Validation du modèle 6-OHDA

La validation du modèle 6-OHDA s'effectue en deux temps : une validation comportementale ayant lieu deux semaines après l'injection de 6-OHDA (**Figure 35A-C**) et une validation histologique après le sacrifice de l'animal (**Figure 35B**).

Nous avons quantifié la densité de fibres TH⁺ au sein du STR de souris SHAM et 6-OHDA afin de valider la lésion dopaminergique qui doit être supérieure à 80% de perte de fibres pour une lésion dopaminergique sévère (**Figure 35B**). Nous pouvons voir que pour les souris SHAM, le pourcentage de fibres du STR ipsilatéral à l'injection est supérieur à 80% des fibres quantifiée du STR non-injecté (Ipsi : 102.9%, Wilcoxon $p=0.20$) pour toutes les souris. D'autre part, pour les souris 6-OHDA, le pourcentage de fibres du STR ipsilatéral à la lésion est inférieur à 20% (Ipsi : 12.12%, Wilcoxon $p<0.05$) pour toutes les souris. Ainsi, chaque souris a pu être validée histologiquement.

Le test comportemental consiste à compter le nombre de rotations ipsi- et contralatérales pendant cinq minutes après avoir placé la souris dans un cylindre (**Figure 35C**). La quantification des rotations est montrée sur la **Figure 35D** : les souris SHAM, ayant reçu une injection de solution saline montrent un nombre équivalent de rotations ipsi- et contralatérales (Ipsi : 7.33 ± 1.83 rotations ; Contra : 7.44 ± 1.20 rotations) alors que les souris 6-OHDA montrent un nombre significativement plus important de rotations ipsilatérales comparé au nombre de rotations contralatérales (Ipsi : 7.43 ± 1.91 rotations ; Contra : 1.29 ± 0.47 rotations ; $p < 0.01$, WSR test) validant sur le plan comportemental le modèle 6-OHDA.

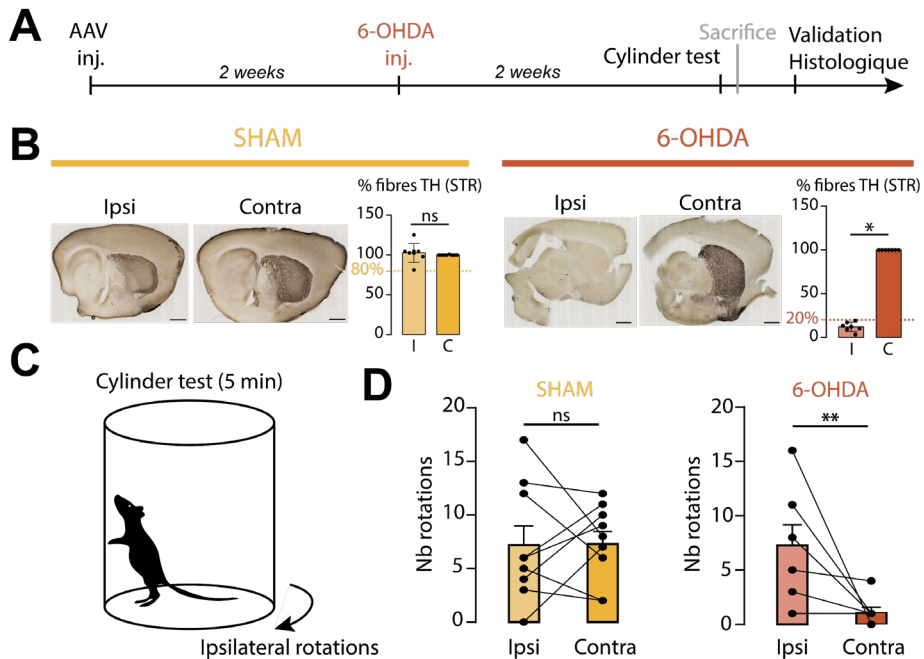


Figure 35 : Validation histologique et comportementale du modèle 6-OHDA

A. Chronologie de la production à la validation du modèle 6-OHDA. **B.** Immunomarquage TH dans le STR de coupes sagittales de 300 μm d'épaisseur d'une souris SHAM (gauche) et déplétée en DA (droite). Les graphiques représentent la quantification de la densité de TH au niveau du STR. **C.** Schéma représentant le test du cylindre. **D.** Quantification du nombre de rotations ipsi- et contralatérales à la lésion chez une souris SHAM (gauche) et 6-OHDA (droite) lors du test du cylindre. Les graphiques en barre représentent la moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviation standard à la moyenne). ** $p < 0.01$ après un test de Wilcoxon. Chaque point représente une valeur individuelle.

b. Validation du modèle dyskinétique

La validation du modèle dyskinétique s'effectue aussi en deux temps (**Figure 36A**). En effet, la lésion dopaminergique est validée comme pour le modèle 6-OHDA (**Figure 36B**). Nous avons quantifié la lésion dopaminergique par quantification de la densité optique de fibres TH⁺ au sein du STR. Le STR ipsilatéral à la lésion doit montrer une déplétion de fibres supérieure à 80% (**Figure 36B**). Nous pouvons voir que le pourcentage de fibres dans le STR ipsilatéral à la lésion est bien inférieur à 80% chez toutes les souris (Ipsi : 13.15%). Ainsi, chaque souris a pu être validée histologiquement.

Une validation comportementale est aussi nécessaire. Elle consiste à scorer quatre types de dyskinésies décrites dans la littérature (Cenci and Lee, 1998) : les

dyskinésies axiales, de la patte et orofaciales (**Figure 36C**). Nous avons aussi scoré les dyskinésies « locomotrices » qui représentent les rotations contralatérales spécifiques du modèle dyskinétique après lésion dopaminergique unilatérale. Nous pouvons voir que le score global de dyskinésies (moyenne de toutes les dyskinésies à un temps après injection de L-DOPA donné) augmente durant les 60 premières minutes après l'injection de L-DOPA avant de diminuer jusqu'à d'atteindre un score proche de zéro à 120 minutes post-injection (**Figure 36D**). La répartition des différentes dyskinésies pour chaque temps post-injection est montrée **Figure 36E**. Nous pouvons voir que tous les types de dyskinésies augmentent pendant les 60 premières minutes et diminuent par la suite. Les dyskinésies locomotrices et axiales sont les plus représentées, elles représentent respectivement 25% et 29% à 40 minutes post-injection. La courbe des scores de dyskinésies est caractéristique du modèle de dyskinésies induites par la L-DOPA, ce qui valide ainsi notre modèle conformément à la littérature.

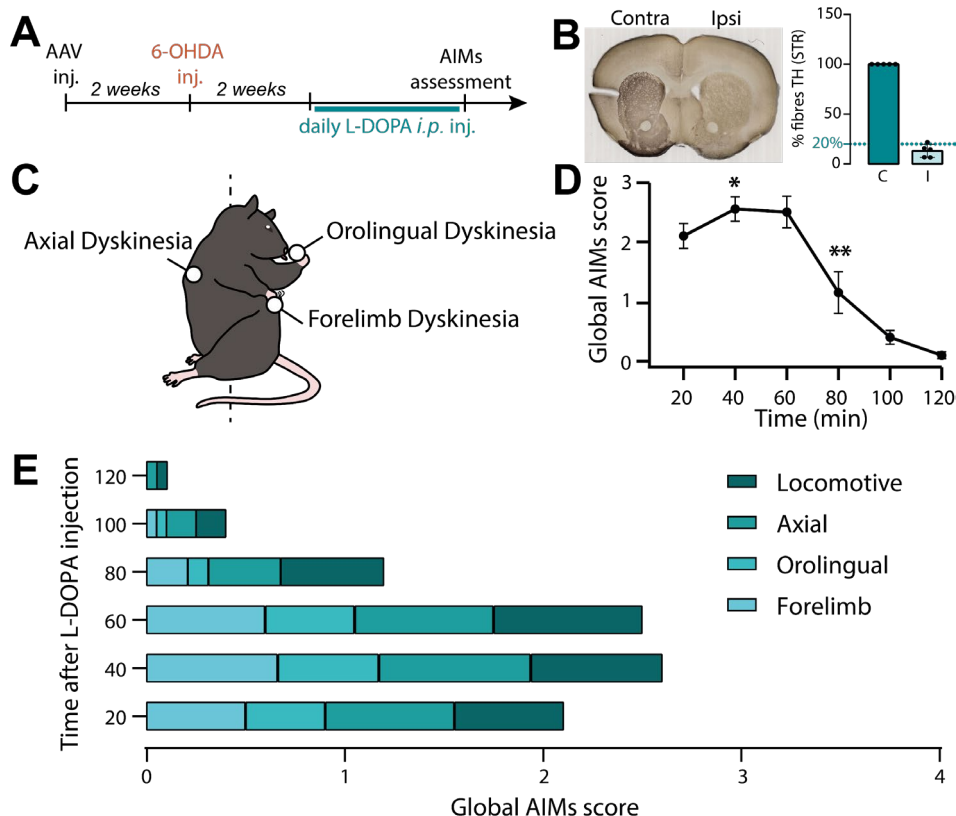


Figure 36 : Validation histologique et comportementale du modèle de dyskinesies induites par la L-DOPA

A. Chronologie de la production à la validation du modèle dyskinétiq. **B.** Immunomarquage TH dans le STR de coupes sagittales de 300 µm d'épaisseur d'une souris dyskinétique. **C.** Schéma résumant les trois types de dyskinesies. **D.** Quantification du score global de dyskinesies (*moyenne des dyskinesies axiales, de la patte, orofaciales et locomotrices*) en fonction du temps après injection de la L-DOPA. **E.** Répartition (%) de chaque type de dyskinesie dans le score global en fonction du temps après injection de L-DOPA. N=5. Le graphique en courbe représente la valeur moyenne (point) et l'intervalle correspond à la SEM (déviati. standard à la moyenne). N=5.

2. Suivi longitudinal de l'activité des neurones ARKY *in vivo*

Dans un premier temps, nous avons souhaité suivre l'activité des neurones ARKY de façon longitudinale, entre les trois conditions physiopathologiques. Pour cela, nous avons opté pour une méthode d'imagerie calcique embarquée *in vivo* chez la souris libre de ses mouvements. La procédure expérimentale est résumée dans la **Figure 37**. L'expression d'un senseur calcique (GCaMP) spécifique aux neurones ARKY est requise afin de permettre l'enregistrement de l'activité calcique de ces

neurones à l'aide d'un microscope miniaturisé appelé miniscope (**Figure 37A-B**). L'activité calcique est monitorée durant des sessions de 10 minutes où une souris est placée dans une arène ronde dans laquelle elle peut déambuler librement (**Figure 37C**). L'implantation d'un guide canule dans la SNc permet, après l'enregistrement des signaux calciques chez des souris contrôles, de monitorer l'activité calcique des mêmes neurones en condition 6-OHDA. Puis, le traitement chronique à la L-DOPA par injections intrapéritonéales permet ensuite d'enregistrer l'activité calcique des mêmes neurones chez des souris dyskinétiques, dans les deux conditions : L-DOPA OFF et L-DOPA ON (**Figure 37A**). Durant les sessions d'enregistrement, la trajectoire des souris est suivie en temps réel (**Figure 37C**). Puis, neuf types de comportements sont ensuite analysés de manière manuelle afin de valider l'état « parkinsonien » des souris. En effet, nous pouvons voir, sur un exemple représentatif, que le comportement « immobile » d'une souris 6-OHDA ou L-DOPA OFF représente 72% et 84% des comportements analysés comparé à 10% pour la même souris en condition contrôle. De plus, en condition 6-OHDA, nous pouvons voir que les rotations ipsilatérales représentent 8% des comportements analysés et qu'aucune rotation contralatérale n'est effectuée (**Figure 37D**).

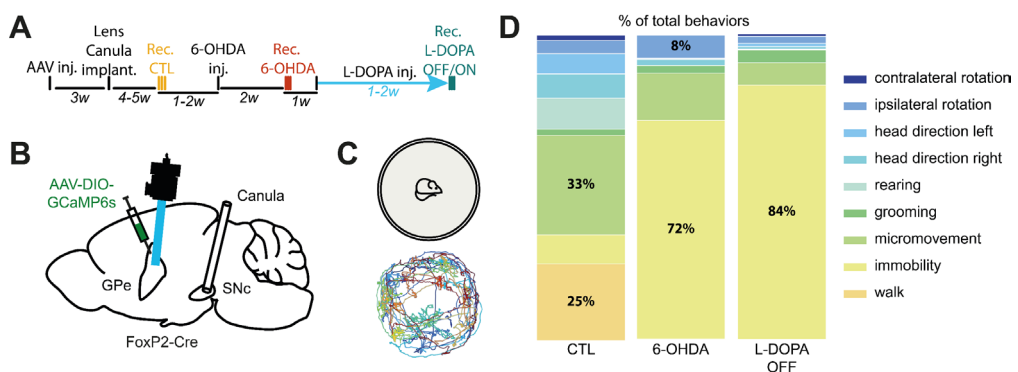


Figure 37 : Mise en place de la technique d'imagerie calcique

A. Chronologie des expériences d'imagerie calcique *in vivo*. **B.** Schéma représentant les stratégies d'injection et d'implantations stéréotaxiques. **C.** Représentation du test comportement effectué lors de l'enregistrement des signaux calciques (haut). Trace représentative de la trajectoire d'une souris contrôlée lors d'une session de 10 minutes dans l'arène (bas). **D.** Exemple représentatif de la distribution (%) des comportements observés chez une souris en conditions CTL, 6-OHDA et L-DOPA OFF pendant des sessions de 10 minutes dans l'arène.

Le placement de la lentille est toujours validé par histologie (**Figure 38A**) avant l'analyse des événements calciques enregistrés pour chaque souris (**Figure 38B-C**). Dans un premier temps, les analyses de fréquence et d'amplitude des signaux calciques ont été réalisées. Nous pouvons observer que la fréquence des événements calciques est comparable entre les trois conditions (CTL : $Fq = 7.16 \pm 0.83$ événement/min ; 6-OHDA : $Fq = 7.24 \pm 0.76$ événement/min ; L-DOPA OFF : $Fq = 6.23$ événement/min). De même, aucune différence significative n'est observable pour l'amplitude des événements calciques (CTL : $Amp = 0.14 \Delta F/F$; 6-OHDA : $Amp = 0.25 \Delta F/F$; L-DOPA OFF : $Amp = 0.29 \Delta F/F$) (**Figure 38D-E**).

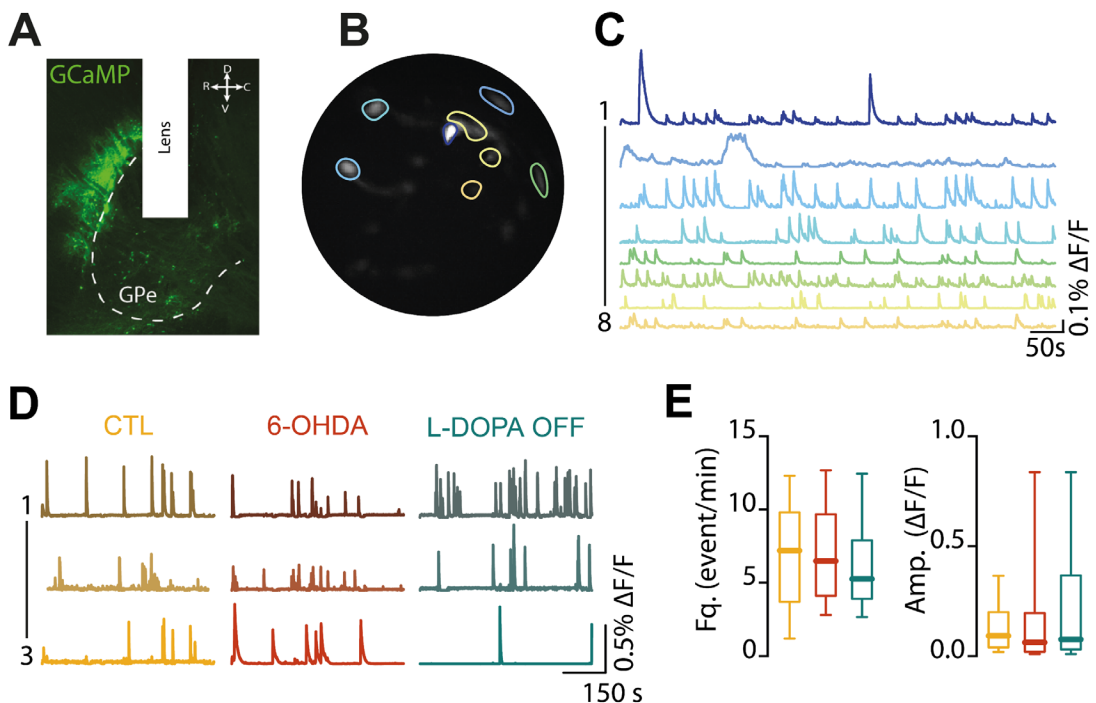


Figure 38: L'activité des neurones ARKY est maintenue après déplétion dopaminergique et traitement chronique à la L-DOPA.

A. Image illustrant le placement de la lentille dans le GPe, montrant les neurones ARKY transfectés par l'AAV-GCaMP (en vert). **B.** Exemple d'un champ de vision de la lentille avec chaque neurone ARKY entouré en jaune. **C.** Traces des événements calciques, correspondant à chaque neurone ARKY du champ de vision (B). **D.** Exemples représentatifs d'événements calciques de 3 neurones dans les trois conditions : CTL, 6-OHDA et L-DOPA OFF. **E.** Fréquence et amplitude des événements calciques enregistrés pour chaque neurone ARKY. Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90. ($n=65$; $N=9$).

Lors d'une même session, l'activité calcique des neurones ARKY des souris dyskinétiques a été enregistrée avant et après injection de L-DOPA (**Figure 39A** : L-DOPA OFF = avant injection ; L-DOPA ON = après injection). Nous avons pu observer que la plupart des neurones ne présente plus d'activité 20 minutes après l'injection de la L-DOPA (**Figure 38B-C**). Une diminution très importante de l'activité des neurones ARKY est observée chez tous les animaux (**Figure 38D-E**). En effet, le taux d'évènements (« *Event rate* ») passe de 0.20 ± 0.01 à 0.03 ± 0.01 après injection de L-DOPA (**Figure 38E**). Ces résultats suggèrent donc que la L-DOPA a un effet inhibiteur sur l'activité des neurones ARKY.

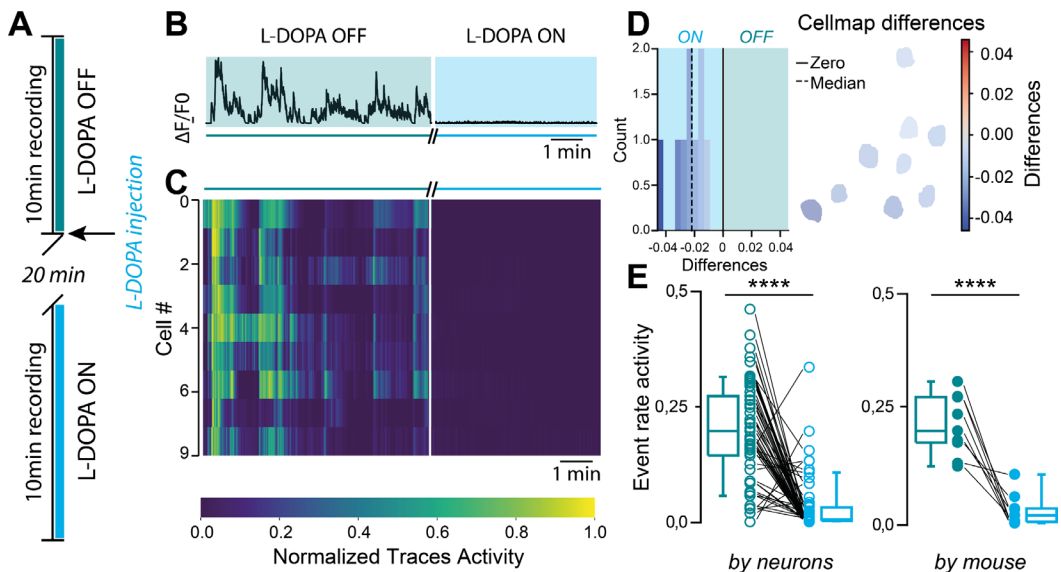


Figure 39 : Les neurones ARKY deviennent silencieux lors des dyskinésies induites par la L-DOPA.

A. Chronologie des enregistrements effectués chez une souris dyskinétique. La souris est tout d'abord enregistrée en condition L-DOPA OFF puis elle reçoit une injection i.p. de L-DOPA et est enregistrée une seconde fois 20 minutes après l'injection. **B.** Trace représentative des évènements calciques d'un neurone ARKY avant (L-DOPA OFF) et après (L-DOPA ON) injection de L-DOPA. **C.** Carte thermique représentative des évènements calciques des neurones d'une souris avant (L-DOPA OFF vert) et après (L-DOPA ON bleu) l'injection de L-DOPA. **D.** Carte représentant la différence d'activité des neurones enregistrés chez une souris avant et après l'injection de L-DOPA. **E.** Activité des neurones avant (vert) et après (bleu) injection de L-DOPA (gauche). Regroupement par souris (droite). Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs

de l'intervalle 10%-90. **** $p < 0.0001$ après un test de Wilcoxon. Chaque point représente une valeur individuelle. $n=65$; $N=9$. Event rate = nombre d'occurrence / nombre d'évènements.

3. Changement d'excitabilité des neurones ARKY

a. Altérations de l'excitabilité des neurones ARKY dans les trois conditions physiopathologiques

Les résultats précédents montrent une altération non-négligeable de l'activité des neurones ARKY chez les souris dyskinétiques. Nous avons souhaité étudier l'impact de la déplétion dopaminergique et du traitement à la L-DOPA sur l'activité et les propriétés intrinsèques des neurones ARKY. Nous avons donc réalisé des enregistrements électrophysiologiques *ex-vivo* en patch-clamp, sur des tranches sagittales de souris contrôles (CTL), parkinsoniennes (6-OHDA) ou encore traitées chroniquement à la L-DOPA (L-DOPA OFF). Les **Figure 40**, **Figure 41** et **Figure 42** regroupent les résultats que nous avons obtenus. Afin d'identifier les neurones ARKY au niveau des tranches de cerveau de GPe, ces derniers ont été transfectés par un AAV contenant un tag eYFP s'exprimant uniquement en présence de la Cre recombinase chez des souris FoxP2-Cre (**Figure 40A**) permettant de les visualiser directement sous le microscope de patch-clamp et de les enregistrer spécifiquement. Tous les enregistrements ont été réalisés en présence d'antagonistes des récepteurs glutamatergiques et GABAergiques (DNQX : 20 μ M, APV : 50 μ M et GBZ : 10 μ M). Les neurones ARKY présentent pour la plupart une activité spontanée ([Abdi et al., 2015](#)), ainsi nous avons pu enregistrer leur activité de décharge en configuration cellule attachée (**Figure 40C**). La fréquence de décharge des neurones ARKY en condition CTL est de 7.19 ± 1.20 Hz, ce qui est en accord avec la littérature. En revanche, nous avons observé une réduction significative de la fréquence de décharge des neurones ARKY après une déplétion dopaminergique (6-OHDA ; FR = 4.13 ± 0.98 Hz ; KW : $H=21.19$, $p < 0.0001$; Dunn's CTL vs. 6-OHDA $p < 0.0001$) qui n'est pas totalement rétablie par le traitement chronique à la L-DOPA (Dunn's 6-OHDA vs. L-DOPA OFF $p=0.11$) (**Figure 40D**). De plus, la variabilité de l'activité spontanée est modifiée et diminuée en condition L-DOPA-OFF comparée à la condition 6-OHDA, (KW : $H=7.12$ $p < 0.05$; Dunn's 6-OHDA vs. L-DOPA-OFF : $p < 0.05$) (**Figure 40E**). Nous avons observé des résultats similaires en configuration cellule entière (**Figure**

40F-H) : la fréquence de décharge est significativement diminuée en condition 6-OHDA (CTL ; FR = 6.91 ± 1.36 Hz, n =35 ; 6-OHDA ; FR = 1.85 ± 0.59 Hz, n=34 ; KW : H=11.27, p<0.01 ; Dunn's p<0.01) et n'est pas totalement rétablie par le traitement à la L-DOPA (L-DOPA OFF ; FR = 4.04 ± 1.15 Hz, n=15 ; Dunn's p=0.19) (**Figure 40G**). Néanmoins, la régularité de la décharge n'est pas modifiée entre la condition contrôle et les deux autres conditions mais nous observons diminution de la régularité entre la condition 6-OHDA et L-DOPA OFF (6-OHDA ; CV = 0.90 ± 0.14 , n=17 ; L-DOPA OFF ; CV = 0.47 ± 0.11 Hz, n=11 ; KW : H=7.12, p<0.05 ; Dunn's p<0.05) suggérant que le traitement tend à rétablir une régularité légèrement modifiée après déplétion dopaminergique. (**Figure 40H**).

Nous avons ensuite analysé les propriétés intrinsèques des neurones ARKY (**Figure 40I**). Les neurones ARKY ont un potentiel de membrane au repos significativement plus dépolarisé en condition L-DOPA OFF, suggérant une légère hyperexcitabilité (CTL : $V_m = -62.29 \pm 1.29$ mV, L-DOPA OFF : $V_m = -55.84 \pm 1.56$ mV ; KW : H=10.61, p<0.01 ; Dunn's CTL vs. L-DOPA OFF p<0.05) (**Figure 40I**). De plus, ils présentent une diminution de leur résistance membranaire après traitement chronique à la L-DOPA (R_m ; KW : H=6.08, p<0.05 ; Dunn's CTL vs. L-DOPA OFF : p<0.05) mais sans altération de leur capacitance membranaire (C_m ; KW : H=3.12, p=0.21).

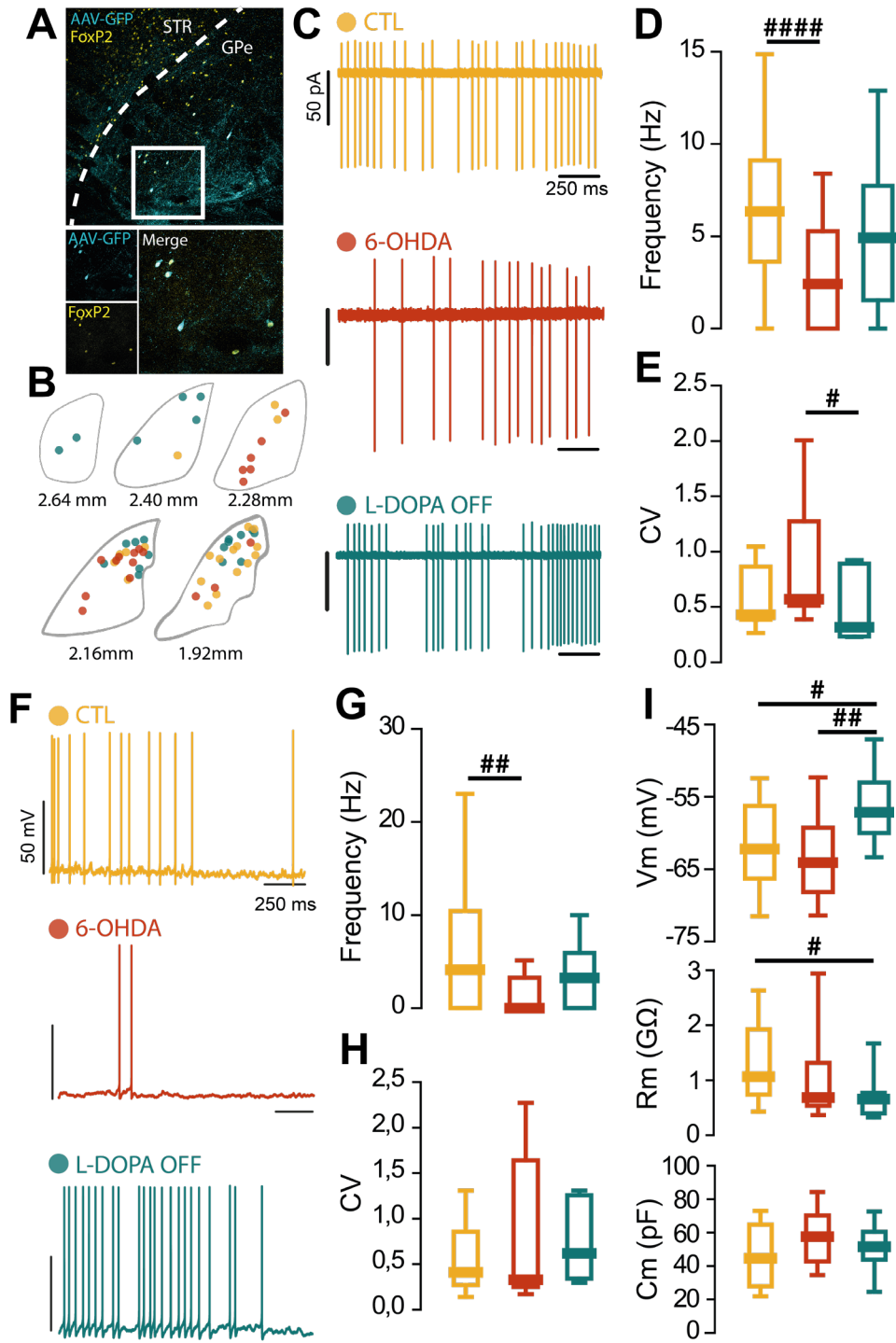


Figure 40 : Les neurones ARKY ont une activité intrinsèque modifiée en conditions pathologiques.

A. Image confocale montrant les neurones ARKY transfectés avec un AAV-GFP (colocalisation GFP/FoxP2). **B.** Représentation graphique de la localisation des neurones ARKY enregistré aux différents niveaux rostro-caudaux du GPe. **C.** Traces représentatives de l'activité spontanée des neurones ARKY enregistrés en configuration cellule attachée dans les différentes conditions physiopathologiques. Jaune : contrôle, Rouge : 6-OHDA, Vert : L-DOPA OFF. **D.** Fréquence de décharge des neurones ARKY en configuration cellule attachée. **E.** Coefficient de variation de l'activité spontanée des neurones ARKY en configuration cellule attachée. **F.** Trace représentatives de l'activité spontanée des neurones ARKY enregistrés en configuration cellule entière dans les différentes conditions physiopathologiques. **G.** Fréquence de décharge des neurones ARKY en configuration cellule entière. **H.** Coefficient de variation de l'activité spontanée des neurones ARKY en configuration cellule entière. **I.** Paramètres mesurés à partir de l'activité spontanée des neurones ARKY en configuration cellule entière en mode courant imposé (potentiel de membrane au repos (V_m)), et en mode voltage imposé (capacité membranaire (C_m), résistance membranaire (R_m)). Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90%. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$, #### $p < 0.0001$ après un test post-hoc suivant une ANOVA une voie ou un test de Kruskal-Wallis. CTL: N=9, n=27; 6-OHDA: N=4, n=26; L-DOPA OFF: N=4, n=16.

Par la suite, nous avons observé qu'aucun paramètre des PA n'est modifié en conditions pathologiques (test KW : APth $p = 0.16$; AHPmag $p = 0.80$; APhw $p = 0.29$)

(**Figure 41A-C**).

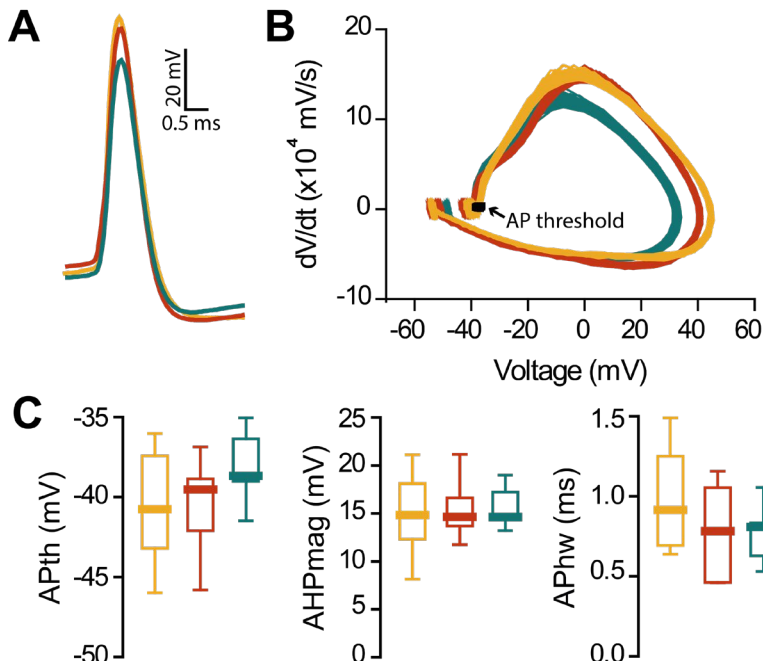


Figure 41 : Les caractéristiques des potentiels d'action des neurones ARKY restent inchangées en conditions pathologiques.

A. Trace représentative d'un potentiel d'action d'un neurone ARKY dans les trois conditions physiopathologiques. **B.** Phase plot représentatif d'un potentiel d'action d'un neurone ARKY

dans les trois conditions physiopathologiques. **C.** Paramètres mesurés à partir du potentiel d'action (APth : seuil de déclenchement du PA ; AHPmag : magnitude de l'hyperpolarisation ; APhw : demi-temps du PA). Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90%. CTL: N=9 , n=27; 6-OHDA: N=4, n=26; L-DOPA OFF: N=4, n=16.

Enfin, nous avons observé une diminution de la relation entre la fréquence de décharge évoquée par des créneaux de courants dépolarisants (courbe F/I) des neurones ARKY après déplétion dopaminergique (ANOVA deux-voies : $F(15, 949) = 528,5$, Sidak : $p < 0.05$ pour tout courant injecté $> 200 \text{ pA}$), qui est corrigée par le traitement à la L-DOPA (ANOVA deux-voies : $F(15, 949) = 528,5$, Sidak : $p < 0.05$ pour tout courant injecté compris entre 150 et 250 pA et $p < 0.01$ pour un courant injecté de 275 pA) (**Figure 42A-B**). Aucune différence significative n'a été observée sur le sag des neurones ARKY, que ce soit pour le ratio (ANOVA deux-voies : $F(9, 246) = 1,726$) ou pour l'amplitude (ANOVA deux-voies : $F(9, 246) = 1,457$) (**Figure 42D-E**).

L'ensemble de ces résultats montre que l'excitabilité des neurones ARKY est réduite chez les souris 6-OHDA et partiellement restaurée chez les souris dyskinétiques.

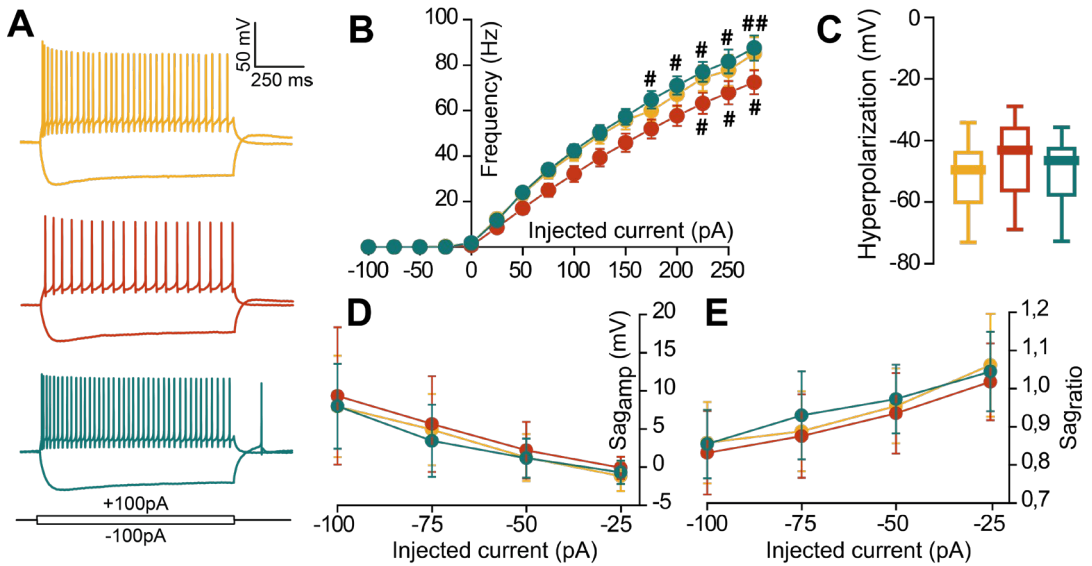


Figure 42 : L'excitabilité des neurones ARKY est diminuée en condition 6-OHDA et rétablie par le traitement chronique à la L-DOPA.

A. Traces représentatives de l'hyperpolarisation et de la fréquence de décharge des neurones ARKY pour un créneau de courant injecté respectif de -100pA ou +100pA, dans les trois conditions physiopathologiques. **B.** Graphique représentant la fréquence de décharge des neurones ARKY en fonction du courant injecté. **C.** Amplitude de l'hyperpolarisation au pic pour un courant injecté de -100pA. **D.** Graphique représentant l'amplitude du sag en fonction du courant négatif injecté. **E.** Graphique représentant le sag ratio en fonction du courant négatif injecté. Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90. Les graphiques en courbe représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviatoin standard à la moyenne). #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001, ####p<0.0001 après un test post-hoc suivant une ANOVA deux voies ou une analyse à effets mixtes. CTL: N=9, n=27; 6-OHDA: N=4, n=26; L-DOPA OFF: N=4, n=16.

b. Effet de la L-DOPA sur l'excitabilité des neurones ARKY en condition physiologique

Dans la partie précédente, nous avons comparé l'excitabilité des neurones ARKY dans trois conditions différentes, en situation contrôle, 'parkinsonienne' et 'dyskinétique'. Cependant, cette dernière correspond à un état chronique d'injection de L-DOPA et ne rend pas compte des effets aigus de ce précurseur de la dopamine sur l'excitabilité des neurones ARKY. Afin de comprendre ces effets aigus de la L-DOPA sur l'excitabilité des neurones ARKY, nous avons réalisé des enregistrements

électrophysiologiques en patch-clamp des neurones ARKY de souris contrôles ou 6-OHDA traitées chroniquement à la L-DOPA (L-DOPA OFF) avec en plus de la L-DOPA (10 μ m) ajoutée dans le bain et nous avons suivi l'évolution des propriétés intrinsèques et de l'excitabilité des neurones.

Bien que le traitement à la L-DOPA ne soit utilisé que dans l'état parkinsonien pour corriger les symptômes moteurs, nous avons souhaité déterminer si cette dernière a un effet sur l'excitabilité des neurones ARKY en condition contrôle. Nous avons observé que chez des souris contrôles, la L-DOPA n'a aucun effet sur l'excitabilité des neurones ARKY (**Figure 43**). La fréquence de décharge des neurones (CTL : 3.79 ± 0.74 Hz, n=7 ; CTL + L-DOPA : 4.61 ± 1.17 Hz, n=7 ; WSR test p=0.30), ainsi que les propriétés intrinsèques des neurones ARKY sont comparables avant et après application de L-DOPA (**Figure 43B-E**), que ce soit pour la résistance membranaire (R_m ; CTL : 3298 ± 1083 M Ω ; CTL + L-DOPA : 923.7 ± 223.5 M Ω ; WSR test p=0.10), ou la capacitance membranaire (C_m ; CTL : 52.78 ± 5.51 pF ; CTL + L-DOPA : 43.5 ± 3.72 pF ; WSR test p=0.10). Le potentiel de membrane reste, lui aussi, inchangé (**Figure 43**, V_m ; CTL : -55.36 ± 2.80 mV ; CTL + L-DOPA : -53.96 ± 2.97 mV ; WSR test p=0.81). De même, lors de l'injection de créneaux de courants positifs ou négatifs, la fréquence de décharge (ANOVA deux-voies : F (14, 83) = 0,1522) ainsi que l'hyperpolarisation (CTL : -92.72 ± 11.57 mV ; CTL + L-DOPA : -94.50 ± 10.72 mV ; WSR test p=0.69) ou encore l'amplitude du sag (ANOVA deux-voies : F (6, 72) = 0,2192) des neurones ARKY restent inchangées (**Figure 43F-J**).

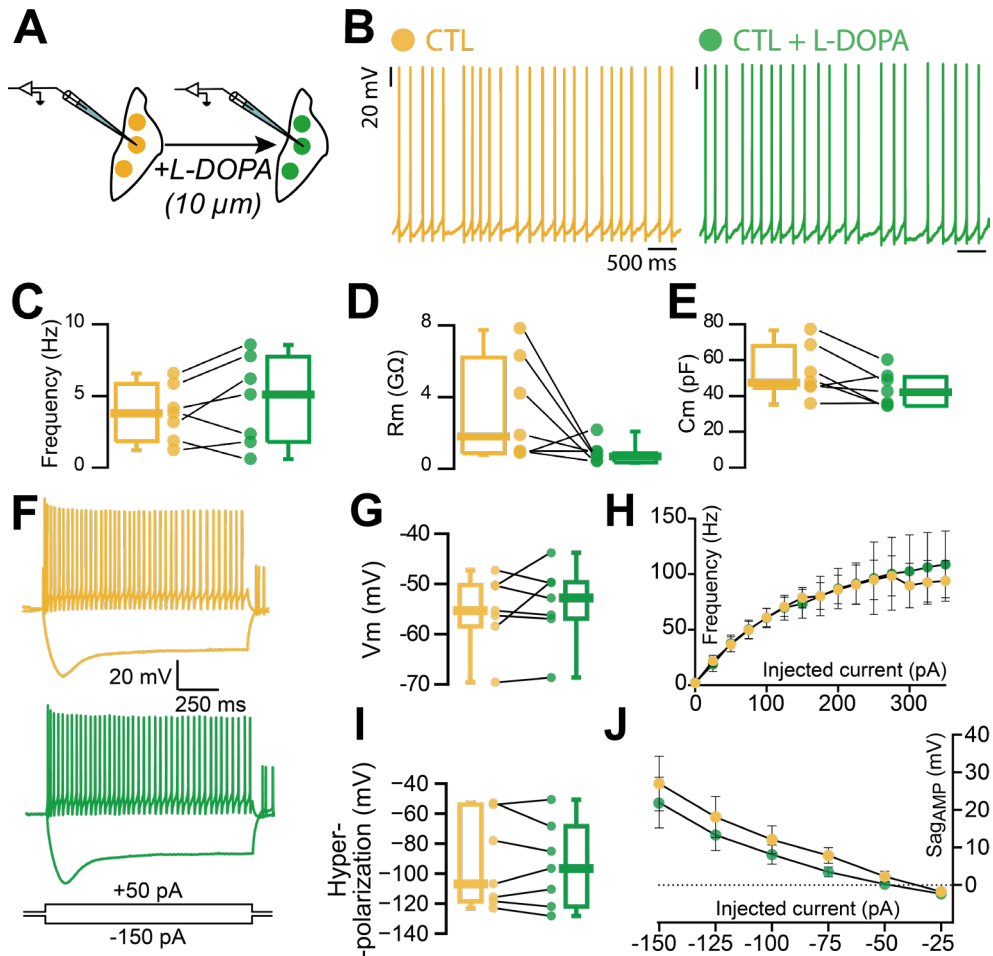


Figure 43 : La L-DOPA n'a pas d'effet sur l'excitabilité des neurones ARKY en condition physiologique.

A. Sur des tranches aiguës de cerveaux de souris contrôles, des neurones ARKY ont été enregistrés avant et pendant l'application de L-DOPA (10 μ M) dans le bain. **B.** Traces représentatives de l'activité spontanée des neurones ARKY avant (SHAM en orange) et pendant (SHAM + L-DOPA en vert) l'application de L-DOPA en enregistrement cellule entière. **C-E.** Paramètres intrinsèques des neurones ARKY avant et pendant l'application de L-DOPA. **F.** Traces représentatives de l'hyperpolarisation et de l'activité des neurones ARKY lors de l'injection de créneaux de courant électriques négatifs (-100pA) et positifs (+50pA), avant et pendant l'application de L-DOPA. **G.** Potentiel de membrane au repos des neurones ARKY. **H.** Fréquence de décharge en fonction de l'intensité du courant injecté. **I-J.** Paramètres mesurés lors de l'injection de courant négatifs. La valeur de l'hyperpolarisation (I) est mesurée au pic, pour un courant de -100 pA. L'amplitude du sag (J) est la différence entre la valeur au plateau et la valeur au pic. Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90%. Les graphiques en courbe représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviations standard à la moyenne). Chaque point représente une valeur individuelle. N=3.

c. Effet de la L-DOPA sur l'excitabilité des neurones ARKY chez des souris dyskinétiques

Nous avons ensuite testé l'action de la L-DOPA sur l'excitabilité des neurones ARKY sur des tranches de cerveau de souris dyskinétiques (**Figure 44A**). Nous avons pu observer que l'application de L-DOPA entraîne la diminution de l'activité spontanée des neurones ARKY de souris dyskinétiques (L-DOPA OFF ; FR = 5.05 ± 0.95 Hz ; L-DOPA ON ; FR = 2.19 ± 0.88 Hz, n = 16 ; WSR test $p < 0.05$) (**Figure 44B-C**). Ce phénomène s'accompagne d'une diminution significative de la résistance membranaire (R_m ; L-DOPA OFF : 1020 ± 159.1 M Ω ; L-DOPA ON : 455.5 ± 63.19 M Ω ; WSR test $p < 0.001$) et d'une tendance à la diminution de la capacitance membranaire (C_m ; L-DOPA OFF : 51.15 ± 4.60 pF ; L-DOPA ON : 44.15 ± 3.78 pF ; WSR test : $p = 0.0505$) (**Figure 44D-E**). Puis, nous nous sommes intéressés à l'effet aigu de la L-DOPA sur les propriétés actives des neurones ARKY des souris dyskinétiques. Nous avons pu mettre en évidence une hyperpolarisation de ces neurones après l'application de la L-DOPA (V_m ; L-DOPA OFF : -52.38 ± 1.19 mV ; L-DOPA ON : -55.83 ± 1.30 mV ; WSR test : $p < 0.0001$) (**Figure 44G**) qui ne s'accompagne pas d'une perte d'excitabilité (ANOVA deux-voies : F (1,803, 25,84) = 1,598 ; **Figure 44H**). Cependant, lors de l'injection de courant négatif (**Figure 44I**), nous avons pu remarquer une réduction du pic de l'hyperpolarisation (L-DOPA OFF : -58.75 ± 5.87 mV ; L-DOPA ON : -46.92 ± 6.15 mV ; WSR test : $p < 0.001$) ainsi qu'une augmentation de l'amplitude du sag, suggérant une modification de conductance (courant -100pA ; ANOVA deux-voies : F (1,644, 26,30) = 7,297, Sidak test : $p < 0.05$) (**Figure 44J**).

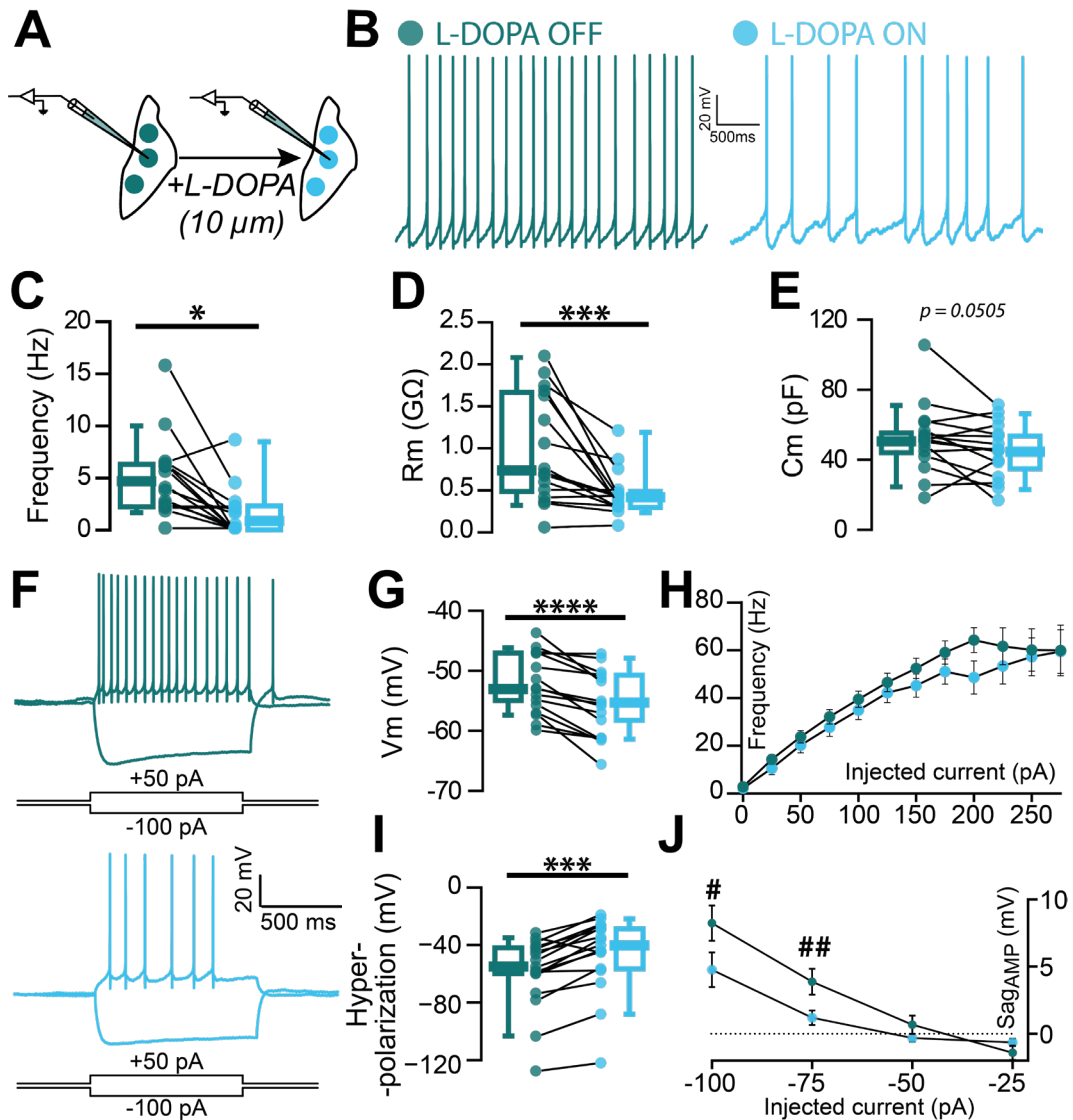


Figure 44 : La L-DOPA diminue l'excitabilité des neurones ARKY chez des souris dyskinétiques

A. Sur des tranches aiguës de cerveaux de souris dyskinétiques, des neurones ARKY ont été enregistrés avant et pendant l'application de L-DOPA (10 μ M) dans le bain. **B.** Traces représentatives de l'activité spontanée des neurones ARKY avant (L-DOPA OFF en vert) et pendant (L-DOPA ON en bleu) l'application de L-DOPA en enregistrement cellule entière. **C-E.** Paramètres intrinsèques des neurones ARKY avant et pendant l'application de L-DOPA. **F.** Traces représentatives de l'hyperpolarisation et de l'activité des neurones ARKY lors de l'injection de créneaux de courant électriques négatifs (-100pA) et positifs (+50pA), avant et pendant l'application de L-DOPA. **G.** Potentiel de membrane au repos des neurones ARKY. **H.** Fréquence de décharge en fonction de l'intensité du courant injecté. **I-J.** Paramètres mesurés lors de l'injection de courant négatifs. La valeur de l'hyperpolarisation (I) est mesurée au pic, pour un courant de -100 pA. L'amplitude du sag (J) est la différence entre la

valeur au plateau et la valeur au pic. Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90%. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001 ; Test WSR. Les graphiques en courbe représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviation standard à la moyenne). #p<0.05, ##p<0.01 après un test post-hoc suivant une ANOVA deux voies. Chaque point représente une valeur individuelle. N=8.

d. Expression des récepteurs D1 et D2 au sein GPe

La littérature disponible sur l'expression des récepteurs dopaminergiques dans le GPe suggère que les neurones PPE⁺ expriment le récepteur D2 à leur membrane (Hoover and Marshall, 2004). Nous avons souhaité revisiter cette question en utilisant les marqueurs moléculaires des neurones ARKY. Dans un premier temps, grâce à une technique d'hybridation *in situ*, nous avons regardé l'expression des ARNm des récepteurs D1 et D2 au sein du GPe. Nous avons pu observer que seul l'ARNm du récepteur D2 était présent dans le GPe (**Figure 45A**) et que l'absence de l'ARNm du récepteur D1 était bien spécifique au GPe car présent au sein du STR frontalier.

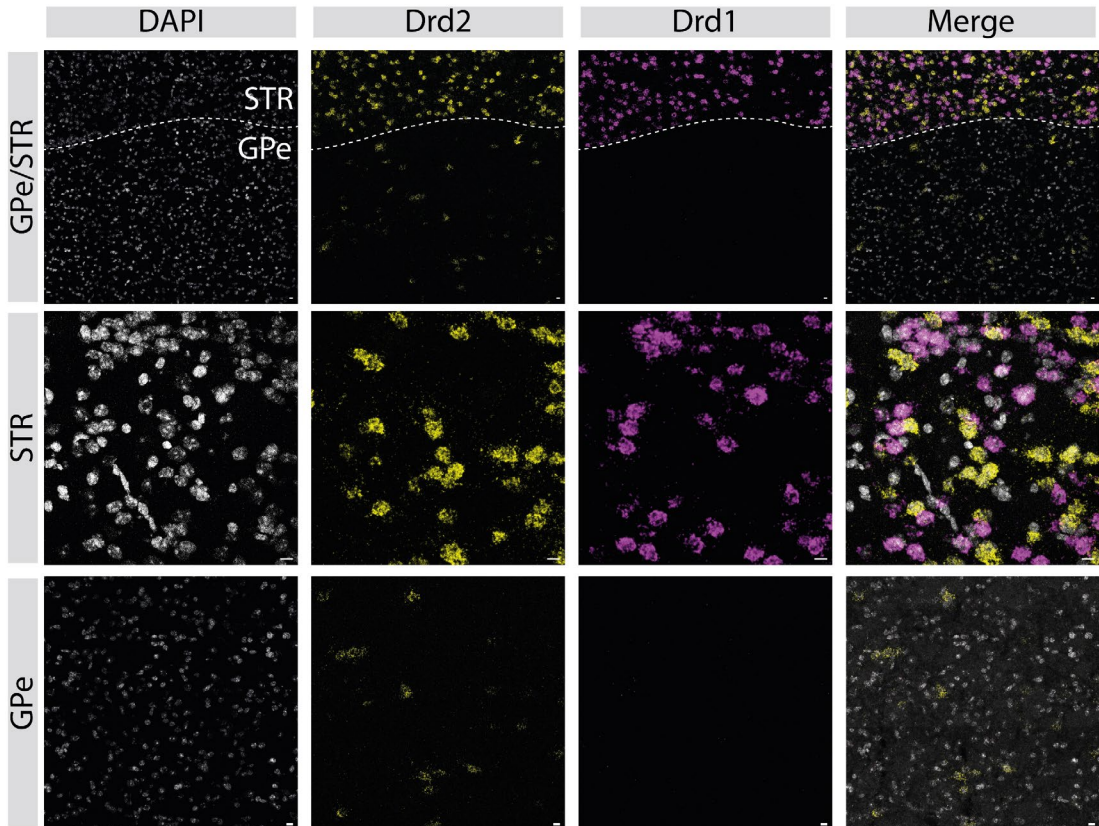


Figure 45 : Le récepteur D2 est présent dans le GPe, au contraire du récepteur D1. Images confocales des marquages (de gauche à droite), DAPI, récepteur D2 (Drd2), récepteur D1 (Drd1) et la superposition des trois marquages, au sein du STR et GPe.

Pour aller plus loin, nous avons ensuite regardé la colocalisation de l'ARNm du récepteur D2 avec celui du facteur de transcription FoxP2, spécifique des neurones ARKY (**Figure 46A**). Nous avons pu voir qu'environ 40% des neurones FoxP2⁺ coexpriment l'ARNm du récepteur D2 (**Figure 46D**). Cependant, 80% des neurones D2⁺ coexpriment l'ARNm FoxP2. Ainsi, 80% des neurones D2⁺ sont des neurones ARKY (**Figure 46D**). L'expression des ARNm des récepteurs D2 est homogène au sein du GPe, comme pour celui du facteur de transcription FoxP2 (**Figure 46B,C,E**) et les neurones coexprimant les deux ARNm sont dispersés au sein de la structure (**Figure 46E**).

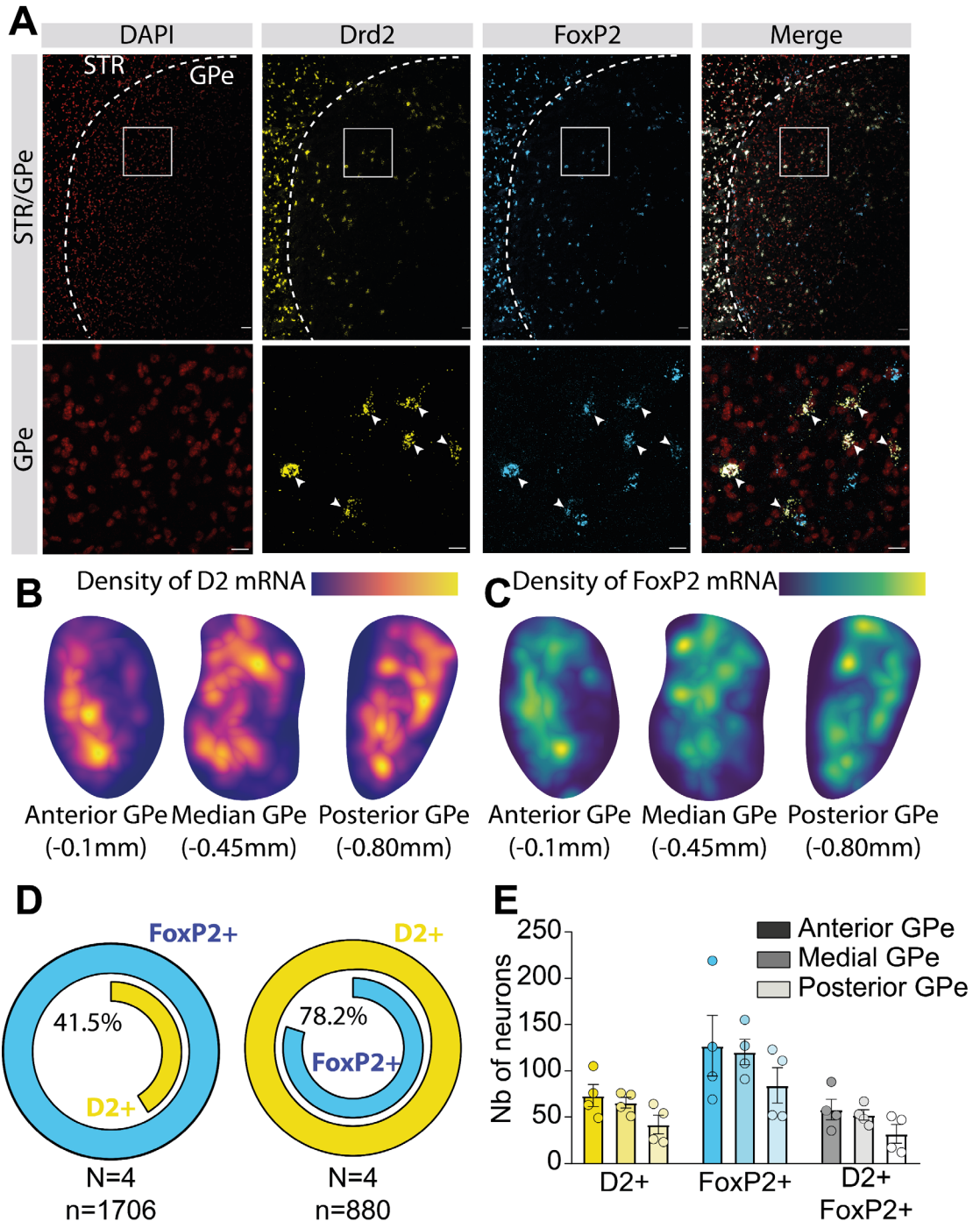


Figure 46 : Les récepteurs D2 sont exprimés majoritairement par les neurones ARKY au sein du GPe.

A. Images confocales des marquages (de gauche à droite) DAPI, Drd2, FoxP2 et leur superposition au sein du GPe. La colocalisation des marqueurs Drd2 et FoxP2 est indiquée

par les flèches blanches. **B-C**. Carte de densité des ARNm du récepteur D2 (C) et FoxP2 (D) au sein du GPe sur trois niveaux antéro-postérieurs. **D**. Pourcentage de colocalisation entre les marqueurs D2 et FoxP2. *A gauche*, pourcentage de cellules FoxP2⁺ co-exprimant le marqueur D2. *A droite*, pourcentage de cellules D2⁺ co-exprimant le marqueur FoxP2. **E**. Nombre de neurones exprimant l'ARNm du récepteur D2, FoxP2 ou les deux. Pour les graphiques en donut, un test de Chi² a été réalisé. **p<0.01. Les graphiques en barre représentent la moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviati on standard à la moyenne). Chaque point représente une valeur individuelle. N=3.

e. Changement d'expression, au sein du GPe, des récepteurs D2 dopaminergiques, en condition dyskinétique.

L'effet de la L-DOPA étant différent en fonction des conditions physiopathologiques des animaux, nous avons voulu déterminer si la quantité de récepteur D2 dopaminergique pouvait être modifiée et pourrait donc expliquer les résultats obtenus lors des expériences d'enregistrements électrophysiologiques.

Nous avons donc quantifié la colocalisation entre les ARNm des récepteurs D2 et du facteur de transcription FoxP2 en condition CTL et L-DOPA OFF (**Figure 47**). Le nombre d'ARNm FoxP2⁺ colocalisant avec les ARNm D2⁺ est semblable chez les animaux contrôles et dyskinétiques (46.9% pour les souris CTL et 48.6% chez les souris L-DOPA OFF) suggérant que le nombre de neurones ARKY exprimant le récepteur D2 reste équivalent dans les deux conditions. Cependant, le nombre d'ARNm D2⁺ colocalisant avec les ARNm FoxP2⁺ est significativement plus important chez les souris dyskinétiques que chez les souris contrôles (89.8% chez les souris CTL ; 100 % chez les souris L-DOPA OFF ; Chi² p<0.01), suggérant une plus forte spécificité de l'expression des récepteurs D2 par les neurones ARKY (**Figure 47B**).

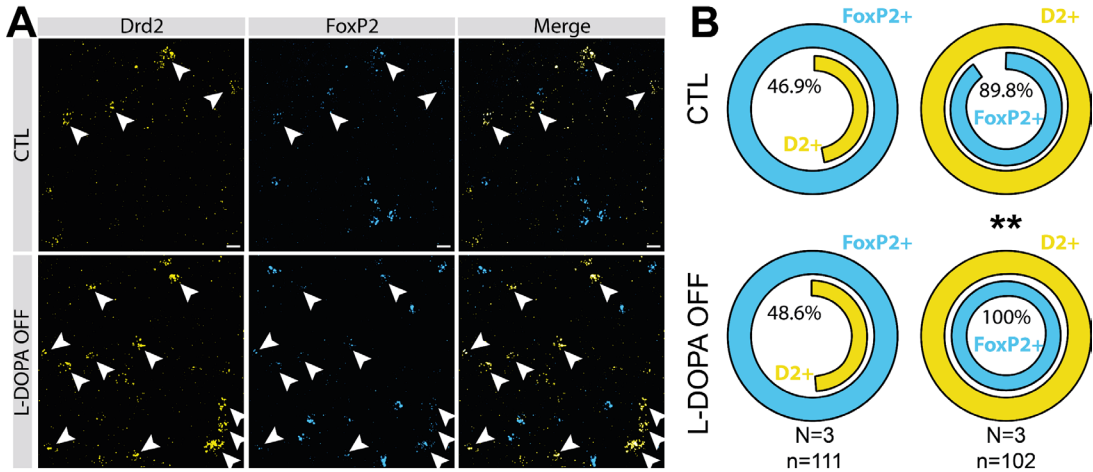


Figure 47 : Le récepteur D2 est exprimé spécifiquement par les neurones ARKY chez les souris dyskinétiques.

A. Images confocales des marquages (*de gauche à droite*) Drd2, FoxP2 et leur superposition au sein du GPe (merge). La colocalisation des marqueurs Drd2 et FoxP2 est indiquée par les flèches blanches. **B.** Pourcentage de colocalisation entre les marqueurs D2 et FoxP2. *A gauche*, pourcentage de cellules FoxP2⁺ co-exprimant le marqueur D2. *A droite*, pourcentage de cellules D2⁺ co-exprimant le marqueur FoxP2. Pour les graphiques en donut, un test de Chi² a été réalisé. **p<0.01. CTL/L-DOPA OFF ; N=2, N=3.

f. Effet du sumanirol sur l'excitabilité des neurones ARKY en condition physiologique

Afin d'approfondir notre compréhension des effets de la L-DOPA, nous avons testé l'effet d'un agoniste spécifique des récepteurs D2 dopaminergique, le sumanirol (SUMA 30μM) (**Figure 48A**) pour déterminer s'il a une action similaire à la L-DOPA. Après l'application de sumanirol, les fréquences de décharge spontanée (**Figure 48B-C**) et évoquée (**Figure 48F et H**) restent inchangées (FR_{spont} ; CTL : 5.04 ± 1.21 Hz ; CTL + SUMA : 5.19 ± 1.40 Hz, n=7; WSR test p=0.94 / FR_{évoquée} (+100pA) ; CTL : 61.22 ± 7.53 Hz ; CTL + L-DOPA : 64.86 ± 8.53 Hz ; ANOVA deux-voies : F(13, 98) = 0,9129). De plus, nous n'avons observé aucune modification du potentiel de membrane (**Figure 48G**, V_m ; CTL : -55.55 ± 2.71 mV ; CTL + SUMA : -55.60 ± 2.27 mV ; WSR test p>0.99). Cependant, lors de l'injection de courants négatifs, nous avons observé une hyperpolarisation qui tend à diminuer (**Figure 48I** ; CTL : -120.5 ± 7.34 mV ; CTL + DOPA : -98.08 ± 9.14 mV ; WSR p=0.0625) et une diminution de l'amplitude du sag (**Figure 48J**, Courant injecté = -150 pA ; CTL : 69.86

± 7.66 mV ; CTL + L-DOPA : 72.40 ± 8.45 mV ; ANOVA deux-voies : $F(6, 60) = 4,024$, Sidak test $p < 0.001$), suggérant une modification de conductance, potentiellement liée aux canaux HCN, médiant le courant I_H (Brown and Difrancesco, 1980).

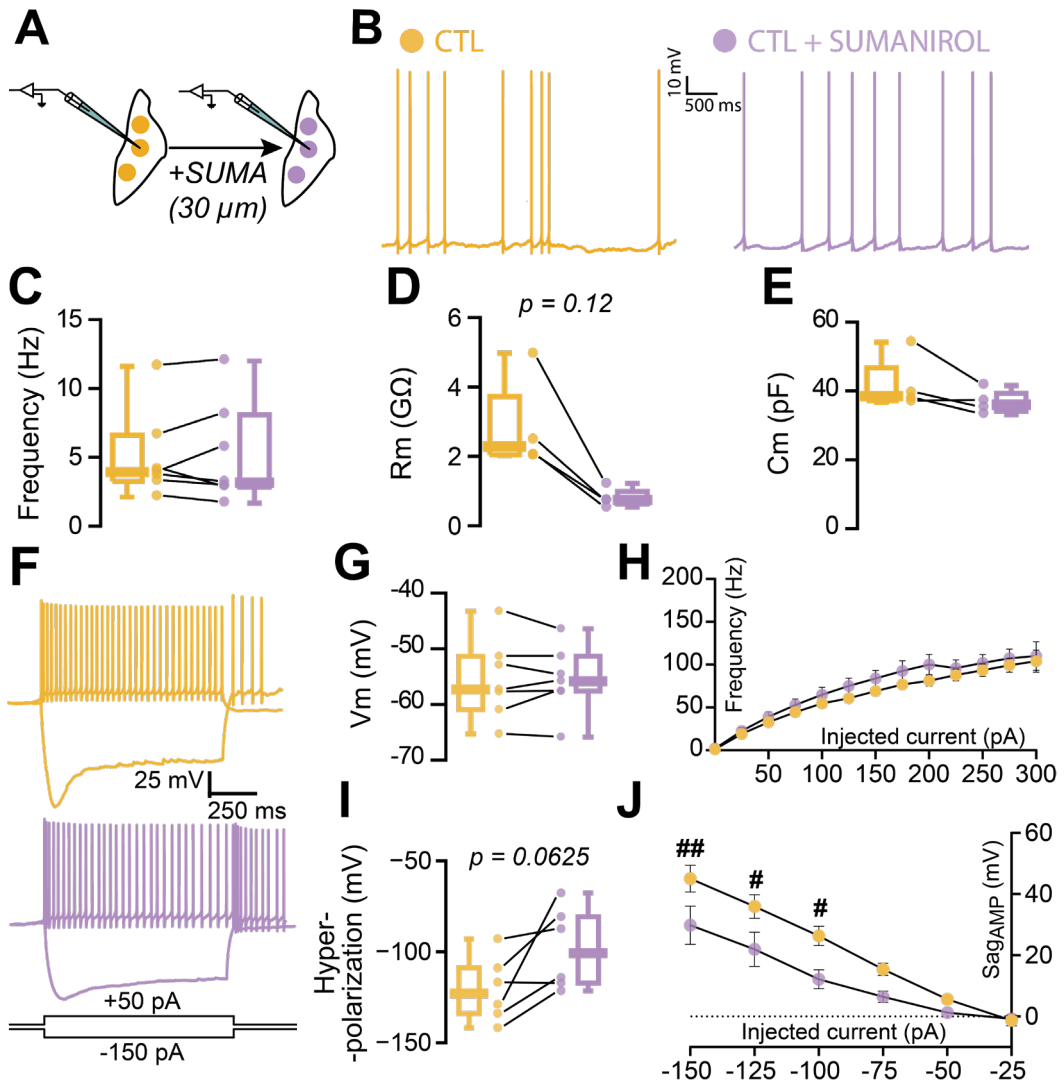


Figure 48 : L'agoniste des récepteurs D2 n'a pas d'effet sur l'excitabilité des neurones ARKY.

A. Sur des tranches aiguës de cerveaux de souris contrôles, des neurones ARKY ont été enregistrés avant et pendant l'application de sumanirol (30 μ M) dans le bain. **B.** Traces représentatives de l'activité spontanée des neurones ARKY avant (SHAM en orange) et pendant (SHAM + SUMANIROL en violet) l'application de sumanirol en enregistrement cellule entière. **C-E.** Paramètres intrinsèques des neurones ARKY avant et pendant l'application de

sumanirol. **F.** Traces représentatives de l'hyperpolarisation et de l'activité des neurones ARKY lors de l'injection de créneaux de courant électriques négatifs (-100pA) et positifs (+50pA), avant et pendant l'application de sumanirol. **G.** Potentiel de membrane au repos des neurones ARKY. **H.** Fréquence de décharge en fonction de l'intensité du courant injecté. **I-J.** Paramètres mesurés lors de l'injection de courant négatifs. La valeur de l'hyperpolarisation (I) est mesurée au pic, pour un courant de -100 pA. L'amplitude du sag (J) est la différence entre la valeur au plateau et la valeur au pic. Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90%. Les graphiques en courbe représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviations standard à la moyenne). #p<0.05, ##p<0.01 après un test post-hoc suivant une ANOVA deux voies. Chaque point représente une valeur individuelle. N=3.

g. Effet du sumanirol sur l'excitabilité des neurones ARKY en condition dyskinétique

En suivant le même protocole que précédemment, nous avons enregistré les neurones ARKY de souris dyskinétiques avant et pendant l'application de sumanirol (30µM) en patch-clamp sur tranches aiguës de cerveau. Nous n'avons observé aucune différence significative sur la fréquence de décharge spontanée des neurones ARKY après application du sumanirol (**Figure 49B-C** ; DYSK : 4.47 ± 0.72 Hz ; DYSK + SUMA : 4.36 ± 1.63 Hz, n=7 ; WSR test p=0.2969). Néanmoins, sur les huit neurones enregistrés, sept présentent une diminution de leur fréquence de décharge spontanée suite à l'application de sumanirol, ce qui suggère un effet de l'agoniste sur la majorité des neurones ARKY.

La fréquence de décharge induite n'est pas modifiée par le sumanirol (**Figure 49F et H** ; Courant injecté +150 pA ; DYSK : 64.63 ± 4.09 Hz ; DYSK + L-OPA : 66.38 ± 3.07 ; ANOVA deux voies, F (21, 197) = 0,4091) et il n'induit pas d'hyperpolarisation ou dépolarisation de la membrane (**Figure 49G** ; Vm ; DYSK : -51.37 mV ± 1.10 mV ; DYSK + L-DOPA : -51.56 ± 1.35 mV ; WSR test p=0.69). Cependant, nous avons pu observer une diminution de la résistance membranaire (**Figure 49D** ; Rm ; DYSK : 552.9 ± 109.9 MΩ ; DYSK + SUMA : 212.5 ± 42.16 MΩ ; WSR test p<0.05) ainsi qu'une diminution de l'hyperpolarisation due à une injection de créneau de courant négatif (**Figure 49I-J** ; DYSK : -63.30 ± 7.98 mV ; DYSK + L-DOPA : -46.58 ± 7.00 mV ; WSR p<0.05) associée à une diminution de l'amplitude du sag (Sag_{AMP} pour un courant de -150pA, DYSK : 26.52 ± 6.38 mV ; DYSK + L-DOPA 7.27 ± 3.68 mV ;

ANOVA deux-voies $F(6, 72) = 6,355$, Sidak test $p < 0.0001$). Ainsi, le sumanirol semble induire des changements de conductances et potentiellement sur l'activité spontanée des neurones ARKY de souris dyskinétiques mais semble avoir une action différente de la L-DOPA sur leur excitabilité.

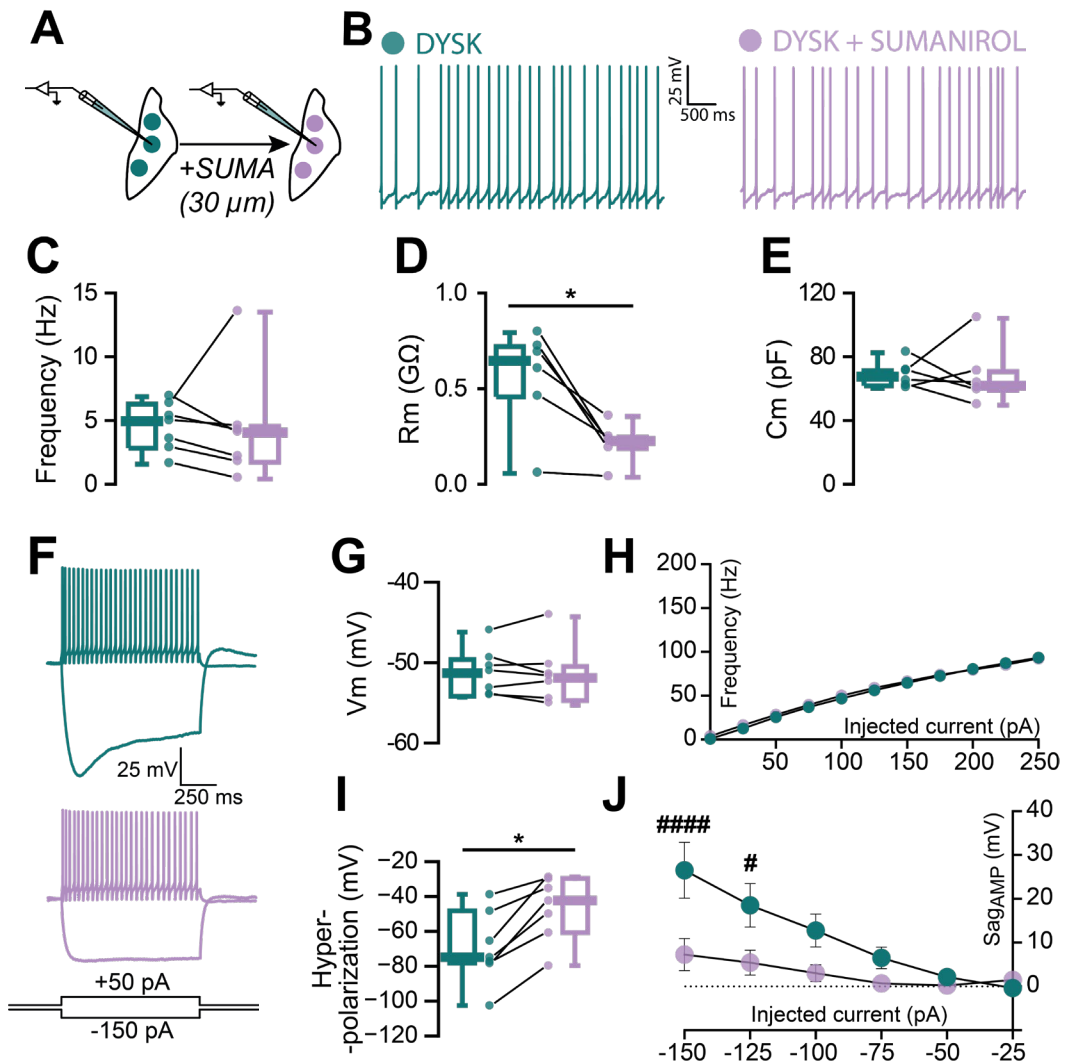


Figure 49 : L'agoniste des récepteurs D2 entraîne une modification de conductance des neurones ARKY chez des souris dyskinétiques.

A. Sur des tranches aiguës de cerveaux de souris dyskinétiques, des neurones ARKY ont été enregistrés avant et pendant l'application de sumanirol ($30 \mu\text{M}$) dans le bain. **B.** Traces représentatives de l'activité spontanée des neurones ARKY avant (DYSK en vert) et pendant (DYSK + SUMANIROL en violet) l'application de sumanirol en enregistrement cellule entière.

C-E. Paramètres intrinsèques des neurones ARKY avant et pendant l'application de sumanirol. **F.** Traces représentatives de l'hyperpolarisation et de l'activité des neurones ARKY lors de l'injection de créneaux de courant électriques négatifs (-100pA) et positifs (+50pA), avant et pendant l'application de sumanirol. **G.** Potentiel de membrane au repos des neurones ARKY. **H.** Fréquence de décharge en fonction de l'intensité du courant injecté. **I-J.** Paramètres mesurés lors de l'injection de courant négatifs. La valeur de l'hyperpolarisation (I) est mesurée au pic, pour un courant de -100 pA. L'amplitude du sag (J) est la différence entre la valeur au plateau et la valeur au pic. Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90%. *p<0.05 pour un de Wilcoxon. Les graphiques en courbe représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviation standard à la moyenne). #p<0.05, ####p<0.01 après un test post-hoc suivant une ANOVA deux voies. Chaque point représente une valeur individuelle. N=4.

h. Effet de la L-DOPA en présence de sulpiride, sur l'activité spontanée des neurones ARKY en condition dyskinétique.

Nous avons montré que le sumanirol avait un effet comparable à la L-DOPA chez les souris contrôles et dyskinétiques, sur l'activité des neurones ARKY. Afin d'approfondir ces résultats et de pouvoir amener une conclusion claire sur l'implication des récepteurs D2 dans l'effet de la L-DOPA, nous avons enregistré les neurones ARKY de souris dyskinétiques en présence de sulpiride, un antagoniste des récepteurs D2, avant d'appliquer la L-DOPA dans le bain d'enregistrement. Nous pouvons voir que la fréquence de décharge des neurones ARKY restent inchangée avant et après application de L-DOPA (SUL : $Fq = 22.86 \pm 5.76$ Hz ; SUL + L-DOPA : $Fq = 25.08 \pm 5.32$ Hz ; WSR : $p = 0.63$). Ces résultats suggèrent que le blocage des récepteurs D2 par le sulpiride empêche l'action de la L-DOPA au niveau des neurones ARKY.

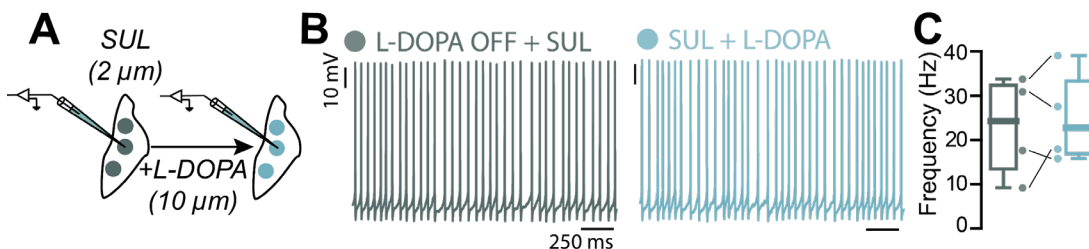


Figure 50 : Le blocage des récepteurs D2 par le sulpiride empêche l'effet inhibiteur de la L-DOPA chez des souris dyskinétiques

A. Les neurones ARKY de souris dyskinétiques sont enregistrés en présence de sulpiride (SUL $2\mu\text{m}$). Puis, la L-DOPA ($10\mu\text{m}$) est ajoutée dans le bain d'enregistrement et le même neurone continue d'être enregistré. **B.** Traces représentatives, en configuration cellule entière, de l'activité spontanée d'un neurone ARKY d'une souris dyskinétique, en présence de sulpiride (SUL $2\mu\text{m}$) à gauche ; en présence de sulpiride et L-DOPA ($10\mu\text{m}$) à droite. **C.** Fréquence de décharge des neurones ARKY pendant l'application de sulpiride et avant ou après application de L-DOPA. Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90%. Chaque point représente une valeur individuelle. N=1, n=4.

4. Contribution des afférences inhibitrices sur l'activité pathologique des neurones ARKY

a. Altérations de la connexion dMSN-ARKY

Le STR est la région afférente majeure des neurones ARKY (**Figure 29**). Les données de la littérature (Cazorla et al., 2014; Labouesse et al., 2023) montrent qu'en plus de la voie canonique iMSN-GPe, les dMSN envoient des collatérales vers cette région qui connectent majoritairement les neurones ARKY. Nous avons donc, dans un premier temps, répliqué les données de la littérature mais aussi étudié les modifications de la transmission synaptique dMSN-ARKY en conditions pathologiques (parkinsonienne-like et dyskinétique). Pour cela, 4 semaines après l'injection intrastriatale d'un AAV contenant une ChR2 couplé à un tag fluorescent rouge (TdT) chez une souris DrD1-Cre (**Figure 51A**), nous avons réalisé des tranches sagittales aiguës de cerveaux, validé la transfection restreinte au STR (**Figure 51B**) et enregistré dans un premier temps les neurones dMSN afin de valider l'expression de l'opsine par ces neurones (**Figure 51C-D**). La stimulation optogénétique des neurones dMSN entraîne une augmentation de la fréquence de

décharge en configuration cellule attachée ainsi que la génération d'un courant entrant dû à l'activation de ChR2 en configuration cellule entière et mode potentiel imposé (**Figure 51D**). Puis, nous avons enregistré des neurones pallidaux (ARKY et PRO) lors de la stimulation optogénétique des neurones dMSN. La transfection du STR dorsolatéral a été vérifiée chez tous les animaux (**Figure 51E**) et le nombre de neurones pallidaux répondant à la stimulation a été quantifié (**Figure 51G**). Les neurones pallidaux ont été identifiés grâce à une immunohistochimie post-enregistrement. La colocalisation entre le marqueur biocytine, substance avec laquelle ils ont été remplis durant les enregistrements, et le marqueur FoxP2 a permis l'identification des neurones ARKY. Les neurones FoxP2-négatifs (FoxP2-) ont été considéré comme étant des neurones PRO (**Figure 51F**). Pour chaque condition, CTL, 6-OHDA ou L-DOPA OFF, le pourcentage de neurones ARKY répondant à l'optostimulation des dMSN est supérieur à celui des neurones PRO (CTL : 69% vs. 20% Chi^2 $p < 0.001$; 6-OHDA : 80% vs. 32% Chi^2 $p < 0.01$; L-DOPA OFF : 78% vs. 29% Chi^2 $p < 0.01$). Le nombre de neurones et leur localisation au sein du GPe ont été rapporté schématiquement sur la **Figure 51E** où les ARKY sont représentés en rouge, les PRO en gris et les neurones répondants à l'optostimulation en rond plein et ceux non-répondants par un rond vide. Puis, en configuration cellule attachée, la fréquence moyenne de décharge des neurones ARKY a été analysée avant, pendant et après des trains de stimulation lumineuse de 10 Hz (1s).

Nous pouvons voir que l'optostimulation des dMSN entraîne une réduction de la fréquence de décharge des neurones ARKY dans trois conditions, même si cette diminution n'est significative que chez les souris contrôles (CTL : OFF $F_q = 7.47 \pm 1.93$ Hz ; ON $F_q = 3.15 \pm 1.34$ Hz ; Friedman $p < 0.01$). Ce résultat concorde avec les traces représentatives et les PSTH qui montrent que l'optostimulation des dMSN en condition CTL est capable d'inhiber plus fortement l'activité spontanée des neurones ARKY qu'en condition 6-OHDA et L-DOPA OFF (**Figure 51H-J**).

En configuration cellule entière, nous avons pu analyser différents paramètres des courants post-synaptiques inhibiteurs (CPSI) induits par l'optostimulation des neurones dMSN (trains de 10Hz pendant 1s) (**Figure 51K-N**). Les résultats montrent que l'amplitude du premier CPSI est diminuée en condition L-DOPA OFF (**Figure**

51K-L) (CTL : 2.04 ± 0.39 nS vs. L-DOPA PFF Amp = 0.63 ± 0.14 nS ; ANOVA deux-voies F (18, 225) = 6.116 et Sidak $p < 0.05$). De plus, le PPR est diminué en condition 6-OHDA (exemple CPSI8/CPSI1 : CTL : PPR = 0.88 ± 0.02 ; 6-OHDA : PPR = 0.75 ± 0.03 ; ANOVA deux-voies F (18, 225) = 5.337 et test de Sidak $p < 0.01$) et tend à être augmenté en chez les souris dyskinétiques (exemple CPSI8/CPSI1 : CTL : PPR = 0.88 ± 0.02 ; 6-OHDA : PPR = 0.75 ± 0.03 et L-DOPA : PPR = 1.44 ± 0.27 ; ANOVA deux-voies F (18, 225) = 5,337 et test de Sidak 6-OHDA vs. L-DOPA OFF $p = 0.09$) (**Figure 51L-M**). Cependant, aucune différence significative n'a été montrée pour les paramètres de latence, rise-time et decay-time (**Figure 51N** ; KW : latence $p = 0,26$; rise-time $p = 0.69$; decay-time $p = 0,27$).

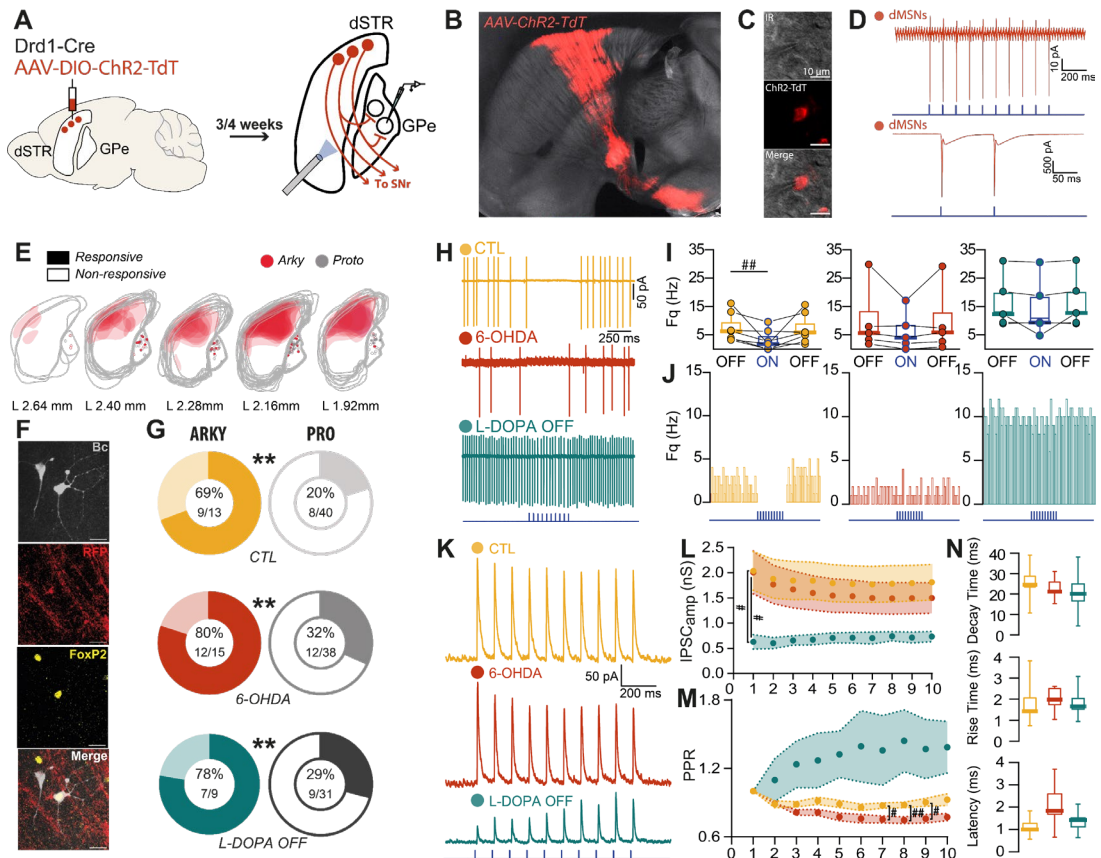


Figure 51 : La connexion synaptique dMSN → ARKY est fortement diminuée en condition dyskinétique.

A. Stratégie virale consistant en l'injection intrastriatale, chez des souris Drd1-Cre, d'un virus cre-dépendant contenant une channelrhodopsine (ChR2) couplé à un tag fluorescent rouge

(TdT). Puis, 3 à 4 semaines plus tard, les neurones dMSN du striatum sont stimulés par la lumière et les neurones ARKY sont enregistrés en patch-clamp, sur des tranches sagittales aiguës de cerveaux. **B.** Image montrant la transfection virale au niveau du striatum dorsal, des neurones dMSN. **C.** Image montrant un neurone dMSN exprimant la ChR2-TdT. **D.** Validation de la stratégie optogénétique, un neurone dMSN est excité par la stimulation lumineuse en configuration cellule attachée (haut) ou cellule entière (bas). **E.** Représentation schématique des zones de transfusions virales au niveau du striatum dorsal et des neurones enregistrés au sein du GPe, dont le phénotype a été confirmé grâce à une immunohistochimie post-hoc, répondant ou non à la stimulation (rouge : ARKY, gris : PRO ; contour + fond : répondant à la stimulation des neurones dMSN ; contour : ne répond pas à la stimulation des dMSN). **F.** Validation par immunohistochimie du phénotype des neurones enregistrés. Ici, un neurone ARKY rempli à la biocytine durant l'enregistrement électrophysiologique et coexprimant le marqueur FoxP2. **G.** Pourcentage de neurones ARKY ou PRO présentant des réponses de type CPSI lors de la stimulation lumineuse. **H.** Traces représentatives de la fréquence de décharge spontanée des neurones ARKY avant, pendant et après la stimulation optogénétique des dMSN en configuration cellule attachée, dans les trois conditions CTL, 6-OHDA et L-DOPA OFF. **I.** Fréquence de décharge des neurones ARKY avant, pendant et après la stimulation optogénétique des dMSN dans les trois conditions. **J.** PSTH d'un neurone ARKY représentant sa fréquence de décharge avant, pendant et après la stimulation optogénétique des dMSN dans les trois conditions. **K.** Traces représentatives des CPSI enregistrés chez des neurones ARKY en condition CTL, 6-OHDA et L-DOPA OFF lors de la stimulation optogénétique des dMSN par un train de stimulation de 10 pulses à 10 Hz. **L.** Amplitude des CPSI pour chaque pic de stimulation. **M.** *Paired-pulse ratio* (PPR) pour chaque pic de stimulation ($PPR1 : \text{Amplitude}_{\text{pic}_n} / \text{Amplitude}_{\text{pic}_{n-1}} \dots PPR10 : \text{Amplitude}_{\text{pic}_{n-10}} / \text{Amplitude}_{\text{pic}_{n-1}}$). **N.** Paramètres des CPSI enregistrés (*Latence*, *Decay* et *Rise Time*). Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90%), ##p<0.01 après un test post-hoc suivant un test de Friedman. Les graphiques en courbe représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviation standard à la moyenne), #p<0.05, ##p<0.01 après un test post-hoc suivant un ANOVA deux voies. Pour les graphiques en donut, un test de Chi² a été réalisé. **p<0.01. Chaque point représente une valeur individuelle. CTL/6-OHDA/L-DOPA OFF : n=9/12/7 N=5/10/6.

b. Etude anatomique de la connexion PV-ARKY

Dans le but d'approfondir les connaissances sur les connexions intrapallidales, nous avons réalisé des marquages de la protéine PV sur les tranches de cerveaux des souris ayant reçu les injections virales des virus *helper* et rabies (cf. [Résultats-I.1.a.](#)) Les neurones FoxP2⁺ ont été infectés et leurs neurones afférents ont été décrits (**Figure 29**).

Les neurones primo-infectés, exprimant le marqueur T2A, sont représentés en jaune. Les neurones afférents, quant à eux, expriment la protéine virale EnvA et apparaissent en violet. Les neurones PV⁺ ont été détectés par immunomarquage et sont visualisés en vert. Ainsi, les neurones afférents PV⁺ (PV → Arky) présentent

une colocalisation des signaux verts (PV) et violets (EnvA) (**Figure 52A**). Les cellules primo-infectées ont été localisées au sein du GPe (**Figure 52B-C**). L'analyse quantitative révèle que 51.8 % des neurones pallidaux EnvA⁺ colocalisent le marqueur PV (**Figure 52D-E**). Par ailleurs, les neurones afférents PV⁺ sont répartis de manière homogène le long de l'axe antéro-postérieur du GPe (**Figure 52F-G**).

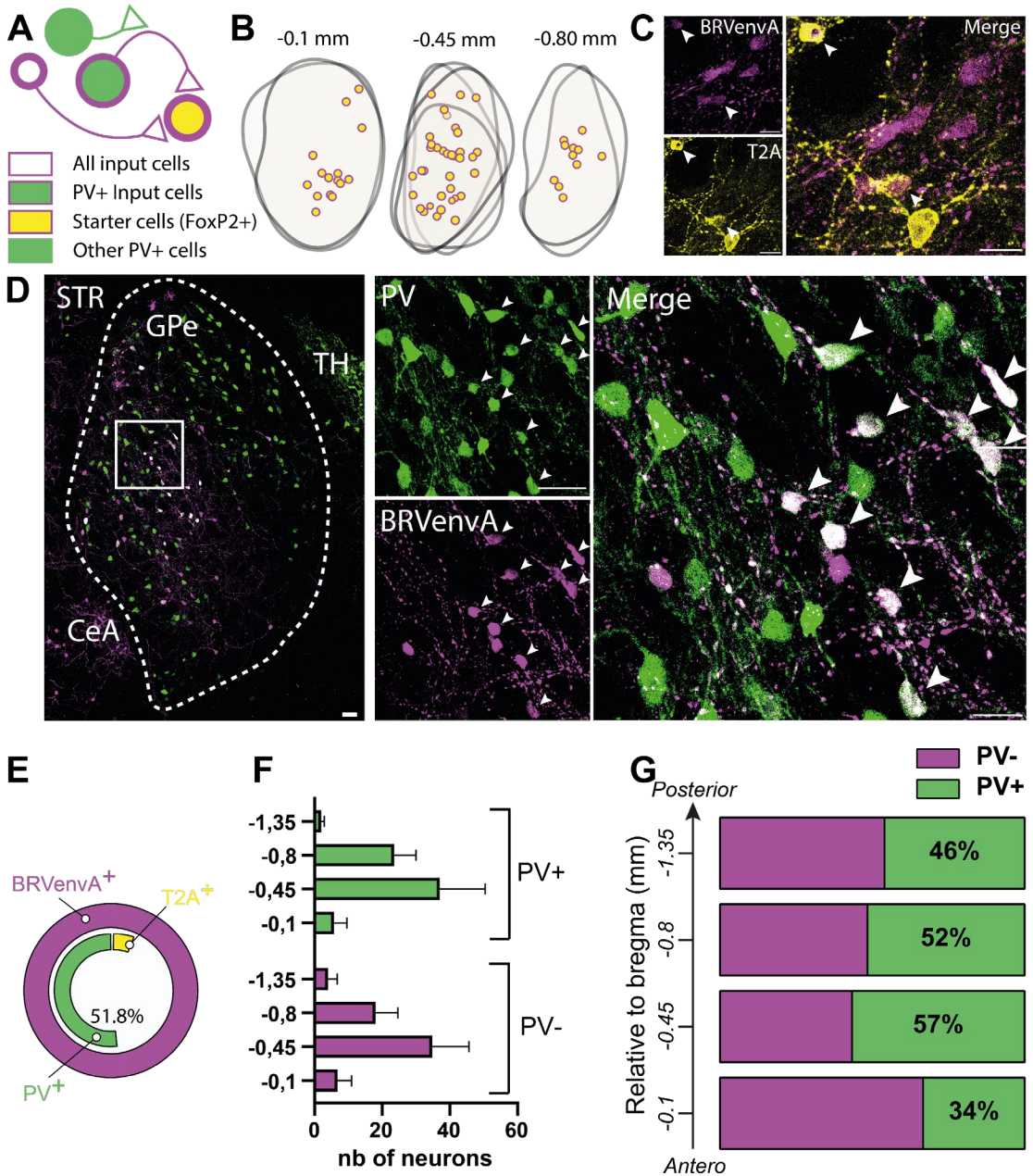


Figure 52 : Les neurones ARKY sont innervés par les neurones PV+ au sein du GPe.

A. Schéma représentant la stratégie virale et de comptage des neurones. Des souris FoxP2-Cre ont reçu une injection intrapallidale d'un premier virus contenant le marqueur T2A (jaune) puis d'un deuxième virus (violet) infectant tous les neurones primo-infectés et tous les neurones pré-synaptiques connectés de manière monosynaptique aux neurones primo-infectés. Ainsi, les cellules primo-infectées (jaune et violet) sont exclues de l'analyse. Les neurones PV+ ont été marqué par immunohistochimie. Ainsi, les neurones PV+/BRVenvA- sont exclus de l'analyse (vert seul). Seuls les neurones BRVenvA+ et BRVenvA+/PV+ sont

analysés. **B.** Représentation graphique de la position des neurones primo-infectés au sein du GPe sur trois niveaux antéro-postérieurs. **C.** Images confocales de haute magnification montrant des neurones primo-infectés colocalisant le marqueur T2A (jaune) et le virus BRVenvA (violet). **D.** Image du GPe entier et son agrandissement montrant les cellules PV⁺ colocalisant ou non le virus BRVenvA. **E.** Pourcentage de cellules infectés par le BRVenvA coexprimant le marqueur T2A (primo-infecté) ou PV⁺. **F.** Nombre de neurones infectés par le BRVenvA coexprimant (vert) ou non (violet) le marqueur PV. **G.** Pourcentage de neurones PV⁺ et PV⁻ infectés par le virus BRVenvA sur quatre niveaux antéropostérieurs du GPe. Les graphiques en barre (F) représente la valeur moyenne et l'intervalle correspond à la SEM (déviatoin standard à la moyenne). N=4

c. Altérations de la connexion PRO-ARKY

Les données de la littérature, associées avec nos résultats, démontrent une forte connexion entre les neurones PRO et les neurones ARKY (Aristieta et al., 2021; Jones et al., 2023; Ketzef and Silberberg, 2021). Ainsi, nous avons fait l'hypothèse qu'une altération de la connexion PRO-ARKY pouvait entraîner une inhibition accrue de l'activité des neurones ARKY.

Nous avons tout d'abord injecté un AAV contenant une ChR2 dans des souris PV-Cre afin de pouvoir contrôler l'activité des neurones PV⁺ par optogénétique. Puis, nous avons enregistré les CPSI chez les neurones ARKY de souris CTL, 6-OHDA et dyskinétiques (L-DOPA OFF) (**Figure 53A**). Nous avons pu observer que l'amplitude des CPSI tend à être diminuée en condition 6-OHDA et à être rétablie en condition L-DOPA OFF (CTL : $Amp_1 = 4.52 \pm 1.87$ nS ; 6-OHDA : $Amp_1 = 2.60 \pm 0.66$ nS ; L-DOPA OFF : $Amp_1 = 4.46 \pm 1.24$ nS ; ANOVA deux-voies F (18, 225) = 1,089) (**Figure 53D-E**). La latence entre la fin de la stimulation optogénétique et le début du premier CPSI est augmentée en condition 6-OHDA (CTL : Latence = 0.42 ± 0.09 ms ; 6-OHDA : Latence = 1.30 ± 0.18 ms ; KW H=13.48 p<0.01 suivi d'un test de Dunn's : CTL vs. 6-OHDA p<0,05 ;) et en condition L-DOPA OFF (CTL : Latence = 0.42 ± 0.09 ms ; L-DOPA OFF : Latence = 1.57 ± 0.11 ms ; KW H=13.48 p<0.01 suivi d'un test de Dunn's : CTL vs. L-DOPA OFF p<0.001) (**Figure 53G**). Cependant, aucune différence n'a été observé pour le PRR, et les paramètres de Rise Time et Decay Time (**Figure 53F-G**).

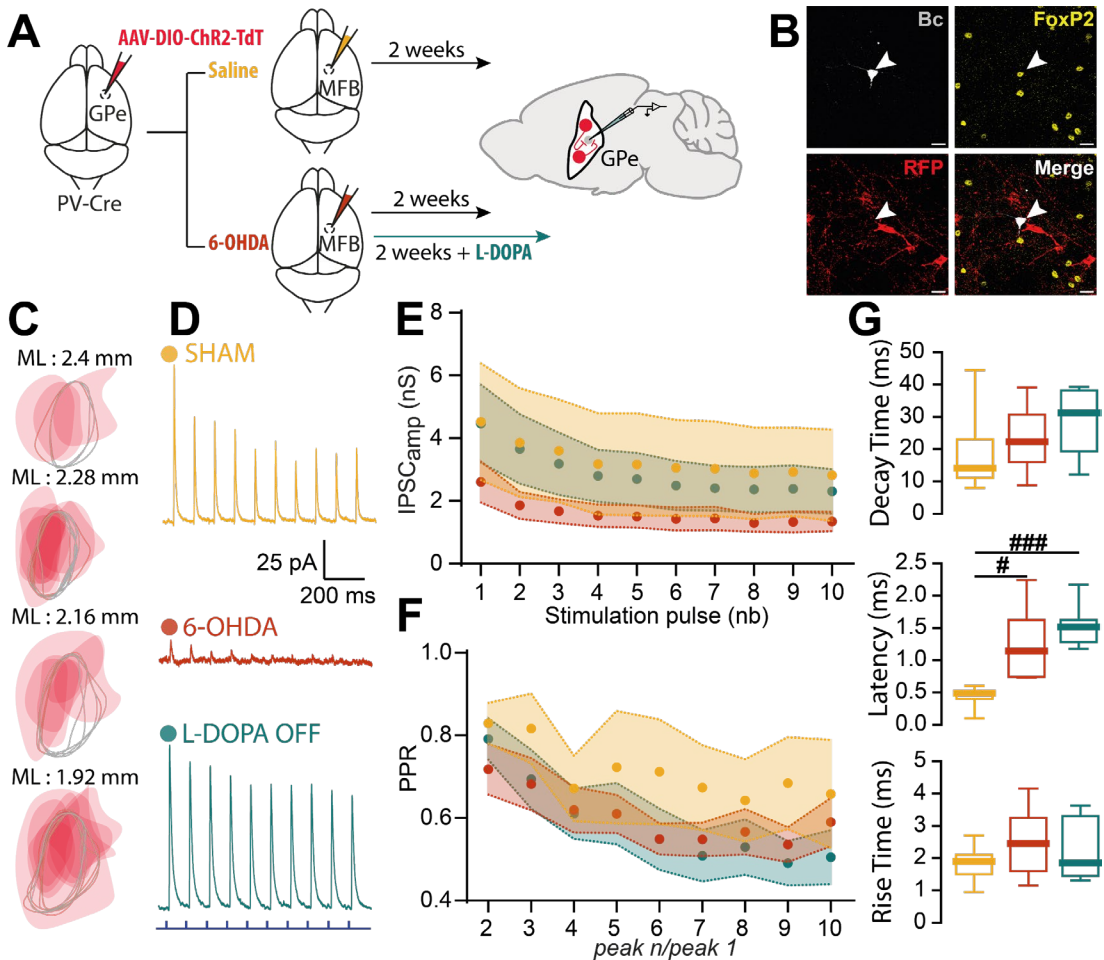


Figure 53 : La connexion synaptique PRO → ARKY tend à être diminuée en condition 6-OHDA et est rétablie en condition dyskinétique.

A. Stratégie virale consistant en l'injection intrapallidale, chez de souris PV-Cre, d'un virus cre-dépendant contenant une Chr2 couplé à un tag TdT. 2 semaines plus tard, les souris reçoivent une injection intracérébrale d'une solution de saline (NaCl) ou de 6-OHDA dans le MFB. Enfin, un groupe reçoit aussi une injection *i.p.* de L-DOPA quotidienne. **B.** Validation par immunohistochimie du phénotype des neurones enregistrés. Ici, un neurone ARKY a été rempli à la biocytine pendant l'enregistrement en patch-clamp et colocalise le marqueur FoxP2. **C.** Représentation graphique des sites de transfection virale au niveau de quatre niveaux rostro-caudaux du GPe. **D.** Traces représentatives des CPSI enregistrés chez des neurones ARKY, dans trois conditions (CTL, 6-OHDA, L-DOPA OFF) lors de la stimulation optogénétique des neurones PV⁺ du GPe. **E.** Amplitude des CPSI enregistrés chez des neurones ARKY lors de la stimulation optogénétique des neurones PV⁺ par un train de stimulation de 10 pulses de 10 Hz. **F.** *Paired-pulse ratio* (PPR) pour chaque pic de stimulation (PPR1 : Amplitude_{pic_n°1}/ Amplitude_{pic_n°1} ... PPR10 : Amplitude_{pic_n°10}/ Amplitude_{pic_n°1}). **G.** Paramètres des CPSI enregistrés (Latence, Decay et Rise Time). Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90%. #*p*<0.05, ###*p*<0.001 après un test post-hoc suivant une ANOVA une voie. Les graphiques en courbe représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM

(déviatiion standard à la moyenne), #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 après un test post-hoc suivant une ANOVA deux voies. Pour les graphiques en donut, un test de Chi² a été réalisé. **p<0.01. CTL/6-OHDA/L-DOPA OFF ; n=5/13/10 ; N=2/3/3.

III. Caractérisation de la voie arkypallido-striatale

Peu d'études se sont intéressées à la voie arkypallido-striatale. Ainsi, nous avons souhaité caractériser cette voie, tant sur le plan anatomique, que sur le plan fonctionnel.

1. Caractérisation de la transmission GPe-STR

Dans un premier temps, nous avons caractérisé la voie GPe-STR. Les données de la littérature nous informe que la sous-population de neurones Npas1⁺, qui correspond à l'ensemble des neurones ARKY et une partie des neurones PRO, projettent sur le STR (Glajch et al., 2016). Le but étant, tout d'abord, de reproduire les données de la littérature avant d'approfondir et de comparer à la voie ARKY-STR.

a. Validation de la stratégie optogénétique

Nous avons injecté un virus pan-neuronal, contenant une ChR2, dans le GPe de souris D1-GFP::FoxP2-cre. L'utilisation d'une lignée cre-dépendante n'est pas requise mais nous avons souhaité utiliser la même lignée que pour l'étude ultérieure de la voie ARKY-STR. Un mois après l'injection, nous avons enregistré les neurones dMSN et iMSN du STR lors de la stimulation optogénétique des fibres des neurones pallidaux exprimant la ChR2 (**Figure 54A**). Nous avons validé d'une part, la transfection spécifique du GPe et réalisé la cartographie de tous les sites d'injection (**Figure 54B-C**) et d'autre part, la réponse des neurones ARKY et PRO à la stimulation optogénétique par des trains de stimulation de 10Hz durant 1s (**Figure 54D-G**). La validation a été effectuée en cellule attachée (**Figure 54G**) ou en configuration cellule entière (**Figure 54E**) : nous avons regardé soit l'augmentation de la fréquence de décharge des neurones pallidaux lors de la stimulation

optogénétique (**Figure 54E-G**), soit les courants de ChR2 en réponse à la stimulation optogénétique en mode potentiel-imposé (**Figure 54D-F**). Les neurones enregistrés ont été remplis à la biocytine et leur nature a été confirmée par une immunohistochimie post-enregistrement. L'optoactivation des neurones ARKY entraîne une augmentation de leur fréquence de décharge (Avant stimulation (stim) : Fq = 21.9 Hz ; Pendant stim : Fq = 22.55 Hz ; Après stim : Fq = 16.22 Hz ; n=1) ainsi que des courants de ChR2 ($Amp_1 = -810.2 \pm 238 \text{ pA}$; n=5, N=5). De même, l'optoactivation des neurones PRO entraîne une augmentation de leur fréquence de décharge (Avant stim : Fq = 34.95 Hz ; Pendant stim : Fq = 59.3 Hz ; Après stim : Fq = 35.42 Hz ; n=1) ainsi que des courants de ChR2 ($Amp_1 = 5064 \pm 1271$; n=3, N=3).

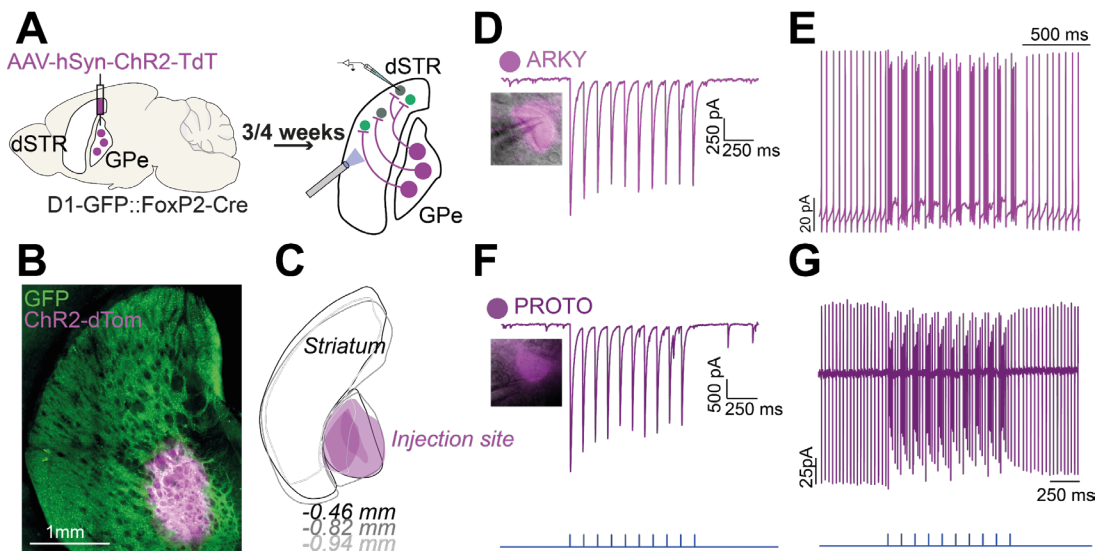


Figure 54 : Validation de la stratégie optogénétique

A. Stratégie virale et présentation de l'expérience. Des souris D1-GFP::FoxP2-cre reçoivent une injection intrapallidale d'un virus (non cre-dépendant) contenant une ChR2 couplée à un tag (TdT). 3 à 4 semaines plus tard, les neurones STR sont enregistrés en patch-clamp pendant la stimulation lumineuse des neurones du GPe. **B.** Site d'injection du virus, restreint au GPe. **C.** Représentation des différents sites d'injection pour chaque animal. **D.** Neurone arkyvallid infecté par le virus (image) répondant à la stimulation lumineuse en configuration cellule entière, mode voltage imposé. **E.** Réponse d'un neurone arkyvallid à la stimulation lumineuse en configuration cellule entière et mode courant imposé. **F.** Neurone prototypique infecté par le virus (image) répondant à la stimulation lumineuse en configuration cellule entière, mode voltage imposé. **G.** Réponse d'un neurone prototypique à la stimulation

lumineuse en configuration cellule entière et mode courant imposé. ARKY : N=5, n=5 ; PRO : N=4, n=4.

b. Description de la voie GPe-MSN en condition physiologique

Les enregistrements des MSN ont été effectués dans les zones striatales où la densité de fibres exprimant la ChR2 était la plus importante (**Figure 55A**). Tous les neurones striataux ont été identifiés par une immunohistochimie post-enregistrement (**Figure 55C** comme décrit précédemment). Ainsi, une cartographie de leur localisation a pu être réalisée. Les neurones dMSN et iMSN ont été enregistrés aléatoirement au sein des DLS et DMS et sont ainsi bien répartis tout au long de l'axe antéro-postérieur (**Figure 55B**). Le pourcentage de neurones dMSN répondant à l'optostimulation des neurones pallidaux tend à être plus important que le nombre de iMSN, alors que le nombre de neurones enregistrés est similaire pour les deux populations (**Figure 55D** ; iMSN = 47% ; dMSN = 77% ; χ^2 : $p = 0.09$). La nature GABAergique des CPSI enregistrés a été confirmée par l'application de GBZ, un antagoniste des récepteurs GABA_A (**Figure 55E**). La comparaison, entre les iMSN et dMSN, des paramètres des CPSI en réponse à l'optostimulation des neurones pallidaux, ne montrent pas de différence significative (**Figure 55E-H**). L'amplitude des CPSI (1^{er} CPSI MW-U : $p=0.92$), leur latence de réponse (MW-U : $p=0.15$), le decay-time (MW-U : $p=0.15$) et le rise-time ne sont pas significativement différents entre les deux populations même si on décèle un rise-time qui tend à être plus important pour les CPSI des neurones dMSN (iMSN : Rise-time = $4,74 \pm 0.90$ ms ; dMSN : Rise-time = 6.29 ± 0.50 ms ; MW-U : $p=0,07$). (**Figure 55H**). De plus, aucune différence au niveau du PPR n'a été observée (ANOVA deux-voies : $F(9, 144) = 0.8244$, $p=0.59$) (**Figure 55G**).

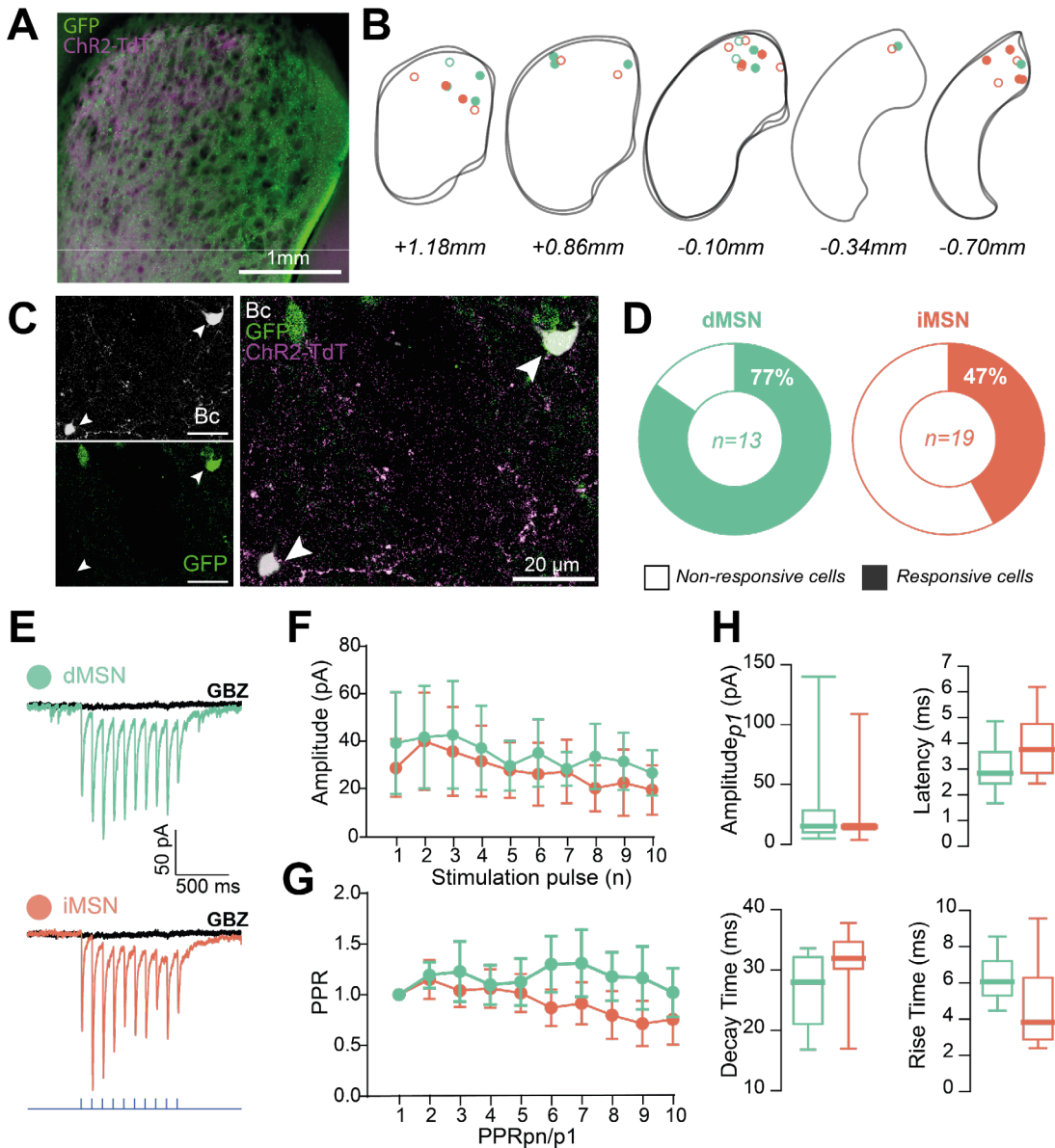


Figure 55 : La transmission GPe-MSN est comparable entre les deux sous-populations striatales.

A. Terminaisons axonales des neurones pallidum infectés par le virus, visibles au sein du DLS, chez une souris D1-GFP::FoxP2-Cre. **B.** Représentation graphique de la localisation de tous les neurones striataux enregistrés, sur différents niveaux antéro-postérieurs du STR. Sont représentés les neurones dMSN (vert) et iMSN (rouge), répondant (plein) ou non (vide) à la stimulation optogénétique des neurones pallidum. **C.** Neurones dMSN (GFP⁺) ou iMSN (GFP⁻) enregistrés pendant les expériences de patch-clamp remplis à la biocytine et post-révélés par immunohistochimie. **D.** Pourcentage de neurones dMSN ou iMSN présentant des réponses de type CPSI (plein) ou non (vide) lors de la stimulation optogénétique des neurones pallidum. **E.** Traces représentatives de CPSI enregistrés chez des neurones dMSN

et iMSN, abolis lors de l'application de l'antagoniste des récepteurs GABA_A (gabazine : GBZ). **F.** Amplitude de chaque CPSI induit par des trains de stimulation de 10 pulses à 10 Hz. **G.** *Paired-pulse ratio*(PPR) pour chaque pic de stimulation (PPR1 : $\text{Amplitude}_{\text{pic}_n^1} / \text{Amplitude}_{\text{pic}_{n-1}}$... PPR10 : $\text{Amplitude}_{\text{pic}_{n^{10}}} / \text{Amplitude}_{\text{pic}_{n^1}}$). **H.** Paramètres des CPSI enregistrés (Amplitude du premier pic, Latence, *Decay* et *Rise Time*). Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90%. Les graphiques en courbe représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviation standard à la moyenne). N=5.

2. Caractérisation de la transmission ARKY-STR

a. Caractérisation anatomique de l'innervation des ARKY dans le STR

La caractérisation anatomique de cette voie a été réalisée grâce à la transfection spécifique des neurones ARKY par un AAV permettant d'exprimer un tag fluorescent au niveau des synapses (synaptophysine-EGFP) (**Figure 56A**). La construction virale permet de visualiser les neurones primo-infectés en réalisant une immunohistochimie dirigée contre la protéine T2A. Ainsi, nous avons pu quantifier le nombre de neurones de départ (**Figure 56B-C**). Sur les huit animaux ayant reçu l'injection virale, les neurones primo-infectés étaient localisés spécifiquement dans le GPe de seulement trois d'entre eux. Le nombre total de neurones de départ sur les trois animaux sélectionnés étaient de 147 (**Figure 56C**). Puis, nous avons regardé l'expression de synaptophysine dans le cerveau entier. 100% de la synaptophysine est localisée au niveau du STR (**Figure 56D**; images non-montrées), résultat qui est en accord avec données de la littérature (Mallet et al., 2012).

Afin d'approfondir la caractérisation de la voie arky-pallido-striatale, nous avons réalisé un marquage des récepteurs μ -opioïdes (MOR), ce qui nous a permis de différencier les régions striosomales enrichies en MOR des régions matricielles dans le STR. De plus, nous avons divisé le STR en deux régions médiale et latérale : le DLS et DMS (**Figure 56D-E**).

Dans un premier temps, nous avons quantifier le volume de synaptophysine dans les DMS/DLS sans prendre en compte la ségrégation compartimentale. Chez deux animaux sur trois, le volume de synaptophysine dans le DLS semble plus important que dans le DMS. Cependant, ce n'est pas observé chez le dernier animal. Ainsi, la quantification en pourcentage montre que 53% de la synaptophysine est présente

au niveau du DLS contre 47% dans le DMS (**Figure 56F**). Puis, nous avons réalisé la quantification par rapport aux compartiments striosomes/matrice sans prendre en compte la ségrégation en régions spatiales DLS/DMS. Nous avons pu observer que le volume de synaptophysine était plus important au niveau de la matrice que dans les striosomes (Matrix = $1.09 \pm 0.29 \mu\text{m}^3$; Striosomes = $0.16 \pm 0.05 \mu\text{m}^3$). 82% de la synaptophysine est retrouvé au niveau de la matrice contre 18% au niveau des striosomes (**Figure 56F**).

Enfin, nous avons quantifié le volume de synaptophysine en prenant en compte la ségrégation spatiale (DLS/DMS) et compartimentale (striosomes/matrice) (**Figure 56G-I**). Nous avons observé que la présence plus importante de synaptophysine dans la matrice était à la fois visible au niveau du DMS et du DLS (**Figure 56I**, DMS : matrice = $0.61 \pm 0.36 \mu\text{m}^3$; striosomes = $0.17 \pm 0.09 \mu\text{m}^3$; DLS : matrice = $1.09 \pm 0.22 \mu\text{m}^3$; striosomes = $0.20 \pm 0.08 \mu\text{m}^3$), et ce sans distinction de l'antéro-posteriorité du STR (**Figure 56H**, exemple pour STR_{médial} : matrice = $0.91 \pm 0.45 \mu\text{m}^3$; striosomes = $0.22 \pm 0.13 \mu\text{m}^3$ / STR_{postérieur} : matrice = $1.29 \pm 0.21 \mu\text{m}^3$; striosomes = $0.14 \pm 0.04 \mu\text{m}^3$).

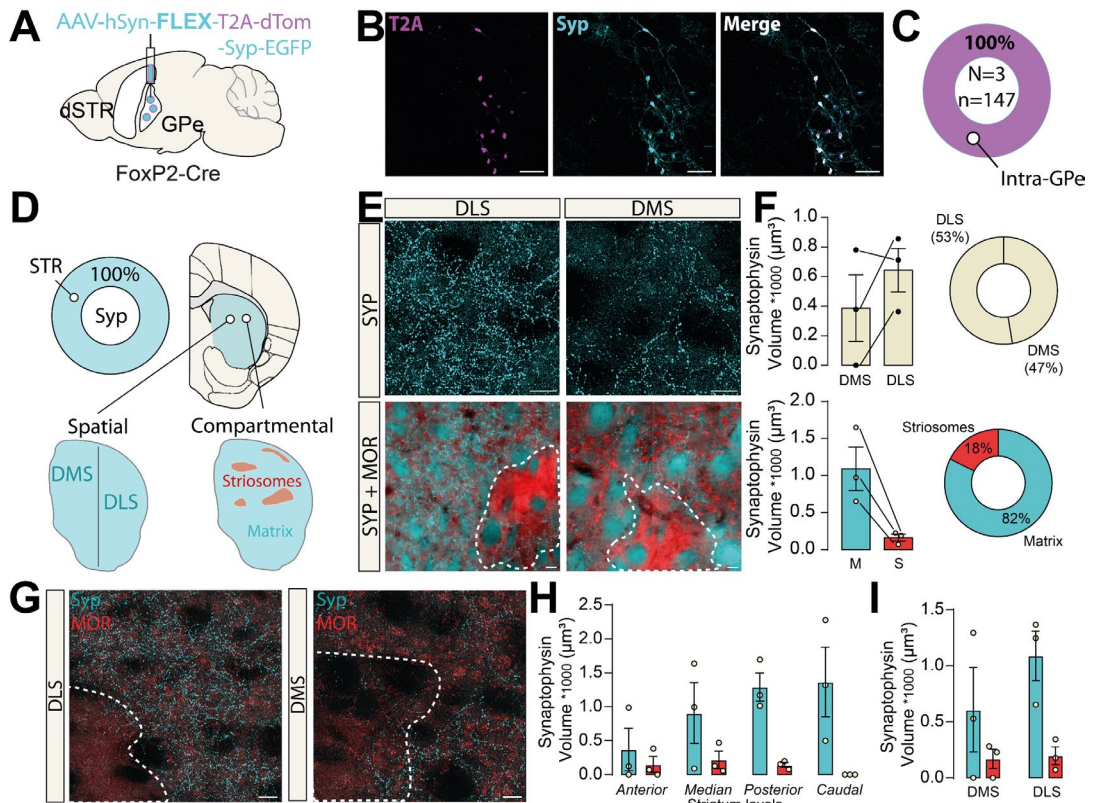


Figure 56 : Les neurones ARKY projettent préférentiellement sur le compartiment matriciel au niveau du DMS et du DLS.

A. Stratégie virale consistant en l'injection intrapallidale, chez des souris FoxP2-Cre, d'un virus permettant de marquer les terminaisons post-synaptiques des neurones primo-infecté grâce au tag EGFP. Le virus contient aussi la protéine T2A permettant d'identifier les neurones primo-infectés. **B.** Neurones primo-infectés dans le GPe. **C.** Nombre de neurones primo-infectés localisés dans le GPe. **D.** La synaptophysine (Syp) est retrouvée à 100% au sein du STR. Le STR a été spatialement divisé (dorso-latéral DLS ; dorso-médian DMS) et par compartiment (striosomes et matrice). **E.** Terminaisons synaptiques quantifiées au niveau du DMS et du DLS (haut). Les compartiments ont été délimités grâce au marquage MOR (récepteurs opioïdes μ) et les terminaisons synaptiques quantifiées dans la matrice et les striosomes du DLS et DMS (bas). **F.** Quantification (volume synaptophysine) au sein du DMS et du DLS (haut) ou au sein des deux compartiments (bas). Ces mesures sont reportées en pourcentage (droite). **G.** Images de haute magnification exemples de la synaptophysine marquées au sein du DMS et DLS avec la délimitation des deux compartiments. **H.** Volume de synaptophysine dans les différents compartiments (matrice/striosomes) sur différents niveaux antéro-postérieurs du STR. **I.** Volume de synaptophysine dans les différents compartiments (matrice/striosomes) dans les différents sous-régions (DMS/DLS) du STR. Les graphiques en barre indiquent la moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviations standard à la moyenne). Chaque point représente une valeur individuelle. N=3.

b. Validation de la stratégie optogénétique

Un AAV cre-dépendant contenant une opsine Chrimson couplé à un tag fluorescent a été injecté dans le GPe de souris D1-GFP::FoxP2-Cre. Sept semaines après l'injection, les fibres des neurones ARKY exprimant la Chrimson ont été optostimulées et les neurones de projection striataux ont été enregistrés en patch-clamp (**Figure 57A**). Le site d'injection a été vérifié afin que la spécificité de la voie ARKY-STR soit attestée (**Figure 57B**). Dans un premier temps, nous avons validé la stratégie optogénétique en enregistrant les neurones ARKY (**Figure 57C**) pendant l'application de la lumière. L'enregistrement en mode courant imposé ou potentiel imposé a montré une augmentation de la fréquence de décharge des neurones ARKY pendant la stimulation lumineuse (Avant stim : $F_q = 5.94 \pm 0.01$ Hz ; Pendant stim : $F_q = 43.20 \pm 33.65$ Hz ; Après stim : $F_q = 5.50 \pm 0.11$ Hz ; N=2, n=2) ainsi que la génération de courants de ChR2 ($Amp_1 = -1197 \pm 912.7$ pA, N=2, n=3) (**Figure 57D-E**) validant ainsi la stratégie.

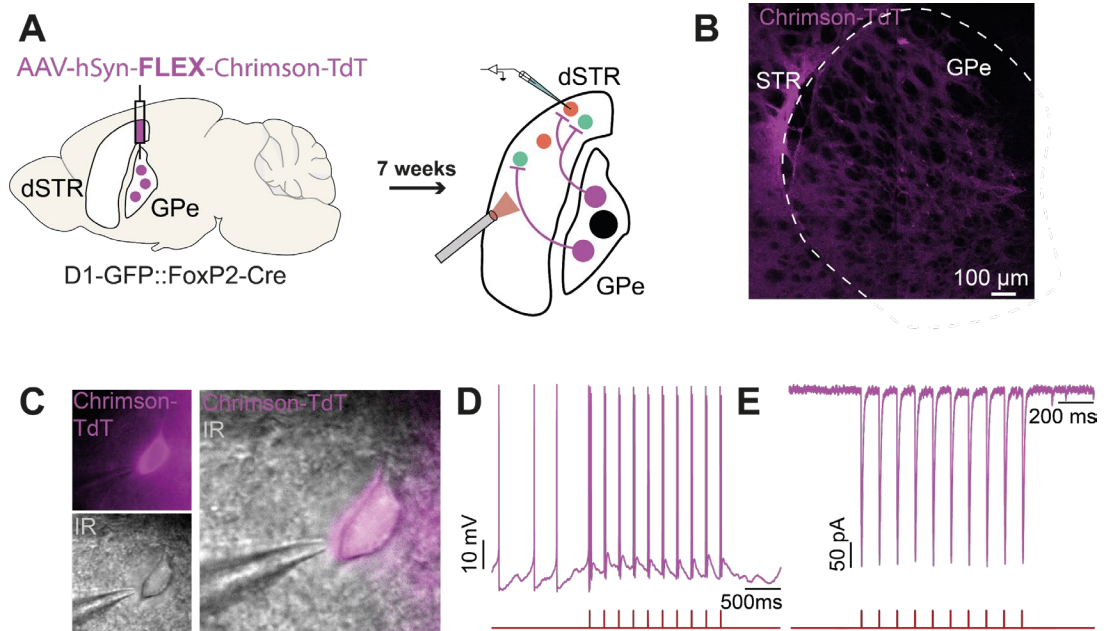


Figure 57 : Validation de la stratégie optogénétique

A. Stratégie virale et présentation de l'expérience. Des souris D1-GFP::FoxP2-cre reçoivent une injection intrapallidale d'un virus cre-dépendant contenant une Chrimson couplée à un

tag (TdT). 7 semaines plus tard, les neurones du STR sont enregistrés en patch-clamp pendant la stimulation lumineuse des neurones ARKY. **B.** Site d'injection du virus, restreint au GPe. **C.** Neurone arkypallidal enregistré (IR) exprimant la Chrimson (violet). **D.** Neurone arkypallidal répondant à la stimulation lumineuse en configuration cellule entière mode courant imposé (gauche) ou voltage imposé (droite).

c. Caractérisation de la transmission ARKY-MSN en condition physiologique

Puis les neurones dMSN et iMSN ont été enregistrés pendant l'optostimulation des terminaisons axonales des neurones ARKY. Leur nature a été validé par une immunohistochimie post-enregistrement grâce au remplissage des neurones enregistrés par de la biocytine (**Figure 58A**). De plus, leur localisation a pu être cartographiée (**Figure 58C**). Le pourcentage de neurones répondant l'optostimulation des neurones ARKY est comparable entre les deux sous-populations (**Figure 58B** ; iMSN = 41% ; dMSN = 39% ; χ^2 $p=0.85$). De nouveau, la nature GABAergique des CPSI enregistrés chez les neurones striataux a été confirmée par l'application de GBZ (**Figure 58D**). Pour tous les paramètres analysés des CPSI enregistrés, nous n'avons observé aucune différence significative lors de la comparaison entre les iMSN et dMSN (**Figure 58E-G**). L'amplitude des dix CPSI (ANOVA deux-voies, $F(9, 198) = 0.5392$, $p=0.85$), les PPR (ANOVA deux-voies : $F(9, 198) = 0.3274$, $p=0.97$), la latence du premier CPSI (MW-U : $p=0.44$) ainsi que son rise-time (MW-U : $p=0.78$) et decay-time (MW-U : $p=0.92$) sont comparables entre les iMSN et dMSN.

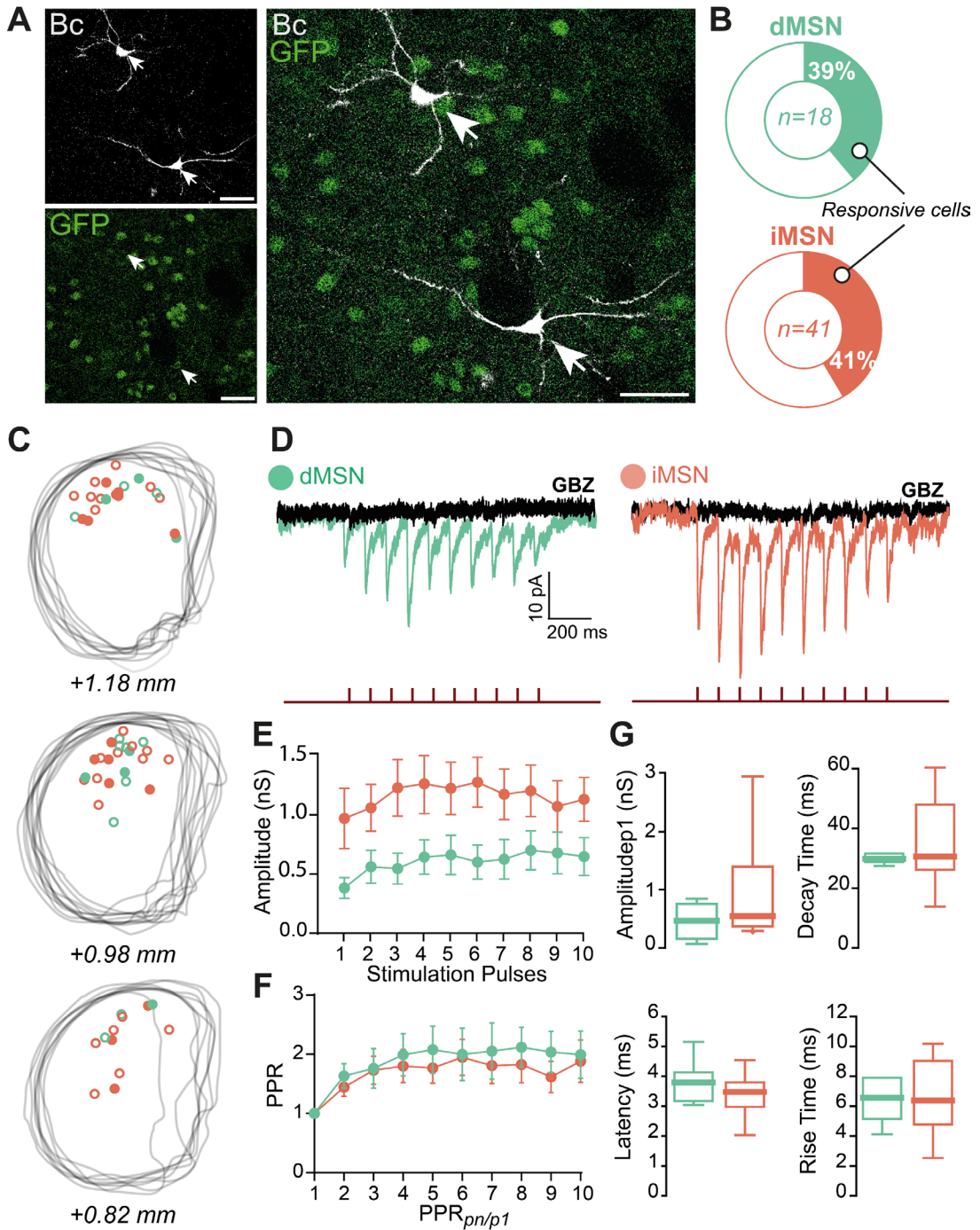


Figure 58 : La transmission ARKY-iMSN est comparable à la transmission ARKY-dMSN.

A. Neurones dMSN (GFP⁺) ou iMSN (GFP⁻) enregistrés pendant les expériences de patch-clamp ont été remplis à la biocytine et post-révélés par immunohistochimie. **B.** Pourcentage de neurones dMSN ou iMSN présentant des réponses de type CPSI (plein) ou non (vide) lors de la stimulation optogénétique des neurones pallidaux. **C.** Représentation graphique de la localisation de tous les neurones striataux enregistrés, sur différents niveaux antéro-postérieurs du STR. Sont représentés les neurones dMSN (vert) et iMSN (rouge), répondant (plein) ou non (vide) à la stimulation optogénétique des neurones pallidaux. **D.** Traces représentatives de CPSI enregistrés chez des neurones dMSN et iMSN, abolis lors de l'application de GABAZINE, un antagoniste des récepteurs GABA_A (GBZ, 10 μM). **E.** Amplitude de chaque CPSI induit les pulses de stimulation d'un train de 10 pulses à 10 Hz. **F.** *Paired-pulse ratio* (PPR) pour chaque pic de stimulation (PPR1 : $\text{Amplitude}_{\text{pic}_n^1} / \text{Amplitude}_{\text{pic}_{n+1}}$... PPR10 : $\text{Amplitude}_{\text{pic}_{n+10}} / \text{Amplitude}_{\text{pic}_n^1}$). **G.** Paramètres des CPSI enregistrés (Amplitude du premier pic, Latence, Decay et Rise Time). Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90%. Les graphiques en courbe représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviation standard à la moyenne). N=10, n=24.

d. Altérations de la transmission ARKY-STR en conditions pathologiques

A la suite de la caractérisation de la voie arky-pallido-striatale, nous avons souhaité étudier ses modifications en conditions pathologiques. Ainsi, nous avons réalisé les mêmes étapes décrites précédemment ([III.2.c](#)) et avons traitées les souris afin d'étudier la transmission en condition 6-OHDA et L-DOPA OFF (**Figure 59A**). La nature des neurones enregistrés a, de même que précédemment, été confirmée par une immunohistochimie post-enregistrement (**Figure 59B**). Nous avons enregistré les CPSI des neurones striataux et avons comparé leurs paramètres.

Les neurones dMSN des souris 6-OHDA et L-DOPA OFF ne présentent pas de différence significative pour les paramètres de latence (KW : $p=0.16$), de rise-time (KW : $p=0.75$) et de decay-time (KW : $p=0.43$) (**Figure 59E**). Cependant, la conductance du premier CPSI est plus importante chez les souris dyskinétique (**Figure 59C-E**, CTL : $\text{Amp} = 0.25 \pm 0.06 \text{ nS}$; L-DOPA OFF : $\text{Amp} = 1.85 \pm 0.76 \text{ nS}$; KW H=10.59 $p<0.01$ suivi d'un test de Dunn's : CTL vs. L-DOPA OFF $p<0.01$). L'analyse du PRR n'a pas montré de différence significative (**Figure 59D**, ANOVA deux-voies F (18, 153) = 1.173, $p=0.29$).

Néanmoins, l'analyse des neurones iMSN des souris parkinsoniennes et dyskinétiques a montré une augmentation de la conductance de la majeure partie

des CPSI enregistrés (**Figure 59F-G**, exemple CPSI₄ ; CTL : Amp₄ = 0.84 ± 0.17 nS ; 6-OHDA : Amp₄ = 2.62 ± 0.63 nS ; L-DOPA OFF : Amp₄ = 4.26 ± 0.89 nS ; ANOVA deux-voies F (18, 405) = 3.400, p<0.0001 suivie d'un test de Sidak : CTL vs. 6-OHDA p<0.05 et CTL vs. L-DOPA OFF p<0.01). En revanche, aucune différence n'a été observée pour les paramètres de latence (KW : p=0.16), rise-time (KW : p=0.20) et de decay-time (KW : p=0.89) (**Figure 59H**). De plus, aucune différence n'a été observée pour le PPR (**Figure 59G**, ANOVA deux-voies F (18, 405) = 1.050, p=0.40).

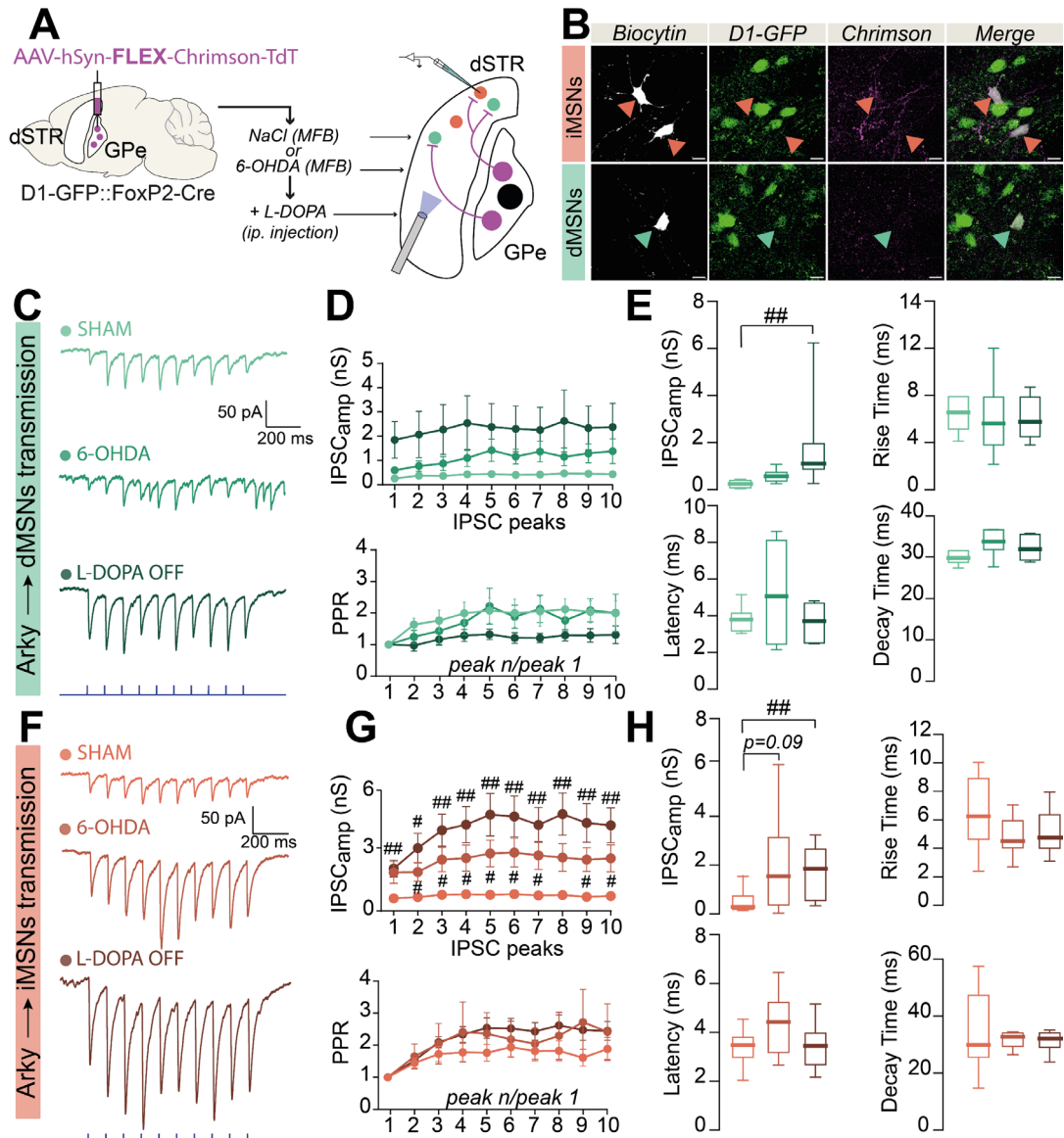


Figure 59: La transmission synaptique ARKY-iMSN est augmentée en conditions pathologiques.

A. Stratégie virale et présentation de l'expérience. Des souris D1-GFP::FoxP2-cre reçoivent une injection intrapallidale d'un virus cre-dépendant contenant une Chrimson couplée à un tag (TdT). 2 semaines plus tard, les souris reçoivent une injection intracérébrale d'une solution de saline (NaCl) ou de 6-OHDA dans le MFB. Enfin, un groupe reçoit aussi une injection *i.p.* de L-DOPA quotidienne. Puis, les neurones du STR sont enregistrés en patch-clamp pendant la stimulation lumineuse des neurones ARKY. **B.** Neurones dMSN (GFP⁺) ou iMSN (GFP⁻) enregistrés pendant les expériences de patch-clamp ont été remplis à la biocytine et post-révéls par immunohistochimie. **C.** Traces représentatives de CPSI enregistrés chez des neurones dMSN dans les trois conditions CTL, 6-OHDA et L-DOPA

OFF. **D.** Amplitude de chaque CPSI induit les pulses de stimulation d'un train de 10 pulses à 10 Hz (haut). *Paired-pulse ratio*(PPR) pour chaque pic de stimulation (PPR1 : $\text{Amplitude}_{\text{pic}_n^{\circ 1}} / \text{Amplitude}_{\text{pic}_n^{\circ 1}}$... PPR10 : $\text{Amplitude}_{\text{pic}_n^{\circ 10}} / \text{Amplitude}_{\text{pic}_n^{\circ 1}}$) (bas). **E.** Paramètres des CPSI enregistrés (Amplitude du premier pic, Latence, *Decay* et *Rise Time*). **F-H.** Même description qu'en C-E pour les neurones iMSN. Les graphiques en boîte-à-moustaches indiquent la médiane, l'intervalle interquartile et valeurs de l'intervalle 10%-90%. ##p<0.01 après un test post-hoc suivant une ANOVA une voie. Les graphiques en courbe représentent la valeur moyenne et l'intervalle représente la SEM (déviation standard à la moyenne), #p<0.05, ###p<0.01 après un test post-hoc suivant une ANOVA deux voies. CTL/6-OHDA/L-DOPA OFF ; N=10/3/5, n=24/12/19.

DISCUSSION

I. Les neurones pallidaux présentent des caractéristiques différentes en condition physiologiques

1. Les neurones ARKY et PRO présentent des afférences distinctes

Les neurones ARKY sont reconnus pour leur implication dans le contrôle moteur, ce qui a motivé leur étude sous cet angle. Certaines de leurs afférences, notamment au sein des GB, étaient déjà documentées dans la littérature. En revanche, leurs connexions en dehors du circuit des GB restaient peu caractérisées. Bien que des descriptions des connexions du GPe existent, celles-ci ne distinguent pas les différentes sous-populations neuronales.

Dans le but de comparer les afférences des neurones ARKY et PRO, nous avons donc utilisé deux lignées transgéniques différentes : les souris FoxP2-cre et les PV-cre, respectivement (**Figure 29**, **Figure 30**).

Les deux afférences majeures des neurones PRO et des neurones ARKY sont le STR dorsal et le GPe lui-même. En revanche, la connectivité des deux sous-populations diffère par le nombre de régions afférentes différentes qui les innervent ainsi que par la « nature » des régions afférentes. En effet, le nombre de régions afférentes des neurones ARKY est le double de celui des neurones PRO (environ 20 régions afférentes pour les neurones PRO vs. environ 40 pour les neurones ARKY). Les neurones PRO semblent être innervés presque en totalité, par des régions considérées comme « motrices » (structures des GB, cortex moteurs, thalamus) comparé aux neurones ARKY. Ces derniers, en plus de recevoir des afférences de régions motrices, reçoivent aussi des afférences de régions limbiques (ex : amygdale, notamment le CEA et la BLA, MRN) et de nombreux cortex (ex : visuel, auditif, viscéral) suggérant une implication plus diverse des neurones ARKY dans les fonctions cérébrales. Ces résultats coïncident avec les données de la littérature, notamment avec un article publié durant l'écriture de ce manuscrit décrivant les afférences des neurones ARKY et PRO (Ma et al., 2025). Certaines afférences neuromodulatrices projettent vers le GPe (*cf Introduction III.2.a*). Au regard de nos résultats, ces afférences semblent être biaisées vers les neurones ARKY : comme la SNc (ARKY : 0.1% vs. PRO : 0%), le DR (ARKY : 0.1% vs. PRO 0.03%), ou encore

l'amygdale (BLA : ARKY 0.49% vs. PRO : 0% ou CEA ; ARKY 1.27% vs. PRO 0.07%). Enfin, le GPe a été impliqué dans la régulation de l'apprentissage de la peur, notamment *via* une voie CEA-GPe, qui pourrait être spécifique aux neurones ARKY (Giovanniello et al., 2020). Ce lien fonctionnel renforce l'hypothèse d'un rôle plus étendu des neurones ARKY dans les circuits émotionnels.

L'une des principales difficultés a été de cibler spécifiquement les neurones ARKY. Pour cela, nous avons utilisé une lignée transgénique FoxP2-cre, en nous appuyant sur l'expression restreinte du facteur de transcription FoxP2 par ces neurones. Toutefois, FoxP2 est exprimé de manière étendue dans le STR frontalier, ce qui complique le ciblage sélectif des neurones ARKY. Ainsi, une injection de faibles volumes de virus s'avère nécessaire afin de limiter l'infection hors cible. Cette contrainte réduit le nombre de cellules primo-infectées par le virus helper, sans pour autant compromettre la cartographie des afférences. En revanche, elle pourrait expliquer le faible nombre de neurones quantifiés dans les régions « secondaires » (régions qui représentent moins de 1% des afférences totales). De plus, une des limitations de cette partie du projet concerne le nombre d'animaux dont les afférences ont été cartographiées. Seulement deux souris PV-cre ont été incluses dans l'étude des afférences, les six autres présentant des neurones primo-infectés dans le STR. Ainsi, la cartographie des neurones PRO nécessiterait deux animaux de plus pour atteindre une description anatomique convenable.

2. Deux sous-populations fonctionnellement distinctes co-existent dans le GPe.

L'existence de deux sous-populations dans le GPe a été mise en évidence chez le rongeur (Mallet et al., 2012). Cependant, l'existence d'une dichotomie au sein de cette région avait déjà été observée, notamment chez le singe. Dès 1991, Filion et Tremblay montraient que les neurones du GPe pouvaient être regroupés en deux groupes distincts selon leur activité spontanée *in vivo* chez le primate (*Macaca fascicularis* : Macaque crabier) anesthésié : les neurones du GPe HFP (pour *High Frequency Pauser*, 92% des neurones enregistrés) avec une fréquence de décharge

rapide (environ 70-80 Hz) et les LFB (7% des neurones enregistrés) présentant une fréquence de décharge plus basse (environ 10-15 Hz) (Filion and Tremblay, 1991). En 2023, Katabi et ses collègues ont aussi mis en évidence l'existence de deux sous-populations neuronales au sein du GPe lors d'une tâche comportementale chez le primate (*Macaca fascicularis*) présentant les mêmes caractéristiques décrites par Filion et Tremblay 30 ans plus tôt (Katabi et al., 2023).

Cependant, très peu d'études se sont intéressées aux marqueurs moléculaires de ces sous-populations, ni sur leurs profils électrophysiologiques.

Ainsi, une étude anatomique a été réalisée en collaboration avec l'équipe du Dr Bézard et en particulier avec Marie-Hélène Canon afin de déterminer si la dichotomie décrite chez le rongeur existe chez le primate (*Macaca fascicularis*). Les résultats obtenus (**Figure 31**) montrent qu'il existe en effet une sous-population de neurones pallidiaux exprimant la protéine PV ($\approx 50\%$) et une sous-population exprimant le facteur de transcription FoxP2 ($\approx 15\%$). Les pourcentages sont comparables à ceux observés chez le rongeur (Abdi et al., 2015). L'existence de neurones PV⁺ avait déjà été démontrée (Fernández-Suárez et al., 2012) mais la présence de neurones FoxP2⁺ au sein du GPe de primate n'avait jamais été caractérisée avant notre étude.

De plus, nous avons eu l'opportunité d'enregistrer des neurones pallidiaux de deux Macaques en patch-clamp (**Figure 32-34**). L'un de ces macaques (M3) avait reçu une injection intrastriatale de marqueur rétrograde (*retrobeads*) permettant d'identifier les neurones enregistrés comme neurones pallido-striataux dont la majorité sont des neurones ARKY.

Deux de ces neurones ont été catégorisés comme neurones pPRO car ils exhibaient des propriétés électrophysiologiques comparables aux neurones PRO décrits chez le rongeur (Abdi et al., 2015) : une fréquence de décharge élevée et une activité spontanée régulière (**Figure 32**). De plus, ces neurones présentent une fréquence de décharge induite élevée (**Figure 34**). Chez le primate M3, le neurone pPRO n'était pas positif pour le marquage rétrograde (*résultat non montré*).

Deux des neurones enregistrés ont été catégorisés comme pARK. Leurs caractéristiques électrophysiologiques se rapprochent des données accessibles sur

le profil électrophysiologique des neurones ARKY chez le rongeur (Abdi et al., 2015), à savoir une fréquence de décharge faible associée à une activité spontanée irrégulière (**Figure 32**). Cependant, ils présentent une activité spontanée sous forme de bouffées (*bursts*) entrecoupées de périodes de pauses. Cette observation est comparable à ce qui a pu être décrit *in vivo* (Katabi et al., 2023). Les bouffées et l'irrégularité de l'activité de ces neurones sont complètement abolies par l'application d'antagonistes des récepteurs glutamatergiques et GABAergique (**Figure 32G**) suggérant une influence importante des afférences synaptiques dans le profil d'activité de ces neurones. De plus, les neurones pARK présentent une fréquence induite plus faible que les neurones pPRO (**Figure 34**). Chez le singe M3, le neurone pARK que nous avons enregistré est positif pour le marquage rétrograde, donc identifié comme pallido-striatal (*non montré*).

En revanche, des caractéristiques similaires entre les neurones pPRO et pARK ont été observées. Les propriétés des PA ne montrent pas de différences entre les deux types de neurones (**Figure 33**). De plus, les quatre neurones présentent un sag (**Figure 34**) démontrant la présence de canaux HCN, comme il a été décrit dans la littérature (Abdi et al., 2015; Chan et al., 2004). Nos données chez le PNH démontrent donc que la dichotomie PRO/ARKY est conservée entre les espèces.

II. Les neurones ARKY sont silencieux chez la souris dyskinétique traitée à la L-DOPA

Les neurones ARKY ont été très peu étudiés dans le contexte de la MP et aucune étude n'a décrit l'activité des neurones ARKY en condition dyskinétique. Dans ce cadre, nous avons souhaité étudier les potentielles modifications d'activité des neurones ARKY de façon longitudinale dans les trois conditions physiopathologiques : contrôle, après déplétion dopaminergique (6-OHDA) et après traitement chronique à la L-DOPA (en condition L-DOPA OFF et ON).

Les résultats obtenus par imagerie calcique *in vivo* (**Figure 38**, **Figure 39**) montrent que l'activité des neurones ARKY ne semble pas modifiée après déplétion

dopaminergique. Ces résultats ne concordent pas avec les données disponibles dans la littérature, qui rapportent des altérations de l'activité des neurones ARKY dans des modèles animaux de la MP. Les quelques données disponibles aujourd'hui proviennent d'enregistrements de ces neurones *in vivo* en condition anesthésiée et montrent une augmentation du profil « *bursty* » de leur activité spontanée associée à une synchronisation des neurones ARKY entre eux (Filion and Tremblay, 1991; Mallet et al., 2008).

Toutefois, il convient de souligner que notre étude repose sur l'enregistrement de l'activité calcique de ces neurones. À ce jour, la relation exacte entre un événement calcique et l'activité électrique neuronale (PA, fréquence de décharge, etc.) reste imparfaitement caractérisée. Des travaux ont montré que le couplage entre PA et signal calcique dépend du type neuronal et des propriétés de l'indicateur calcique utilisé (Vanwalleghem et al., 2021). Cette incertitude méthodologique limite donc la comparaison directe entre nos données et celles obtenues à partir d'enregistrements électrophysiologiques classiques.

Les neurones ARKY enregistrés chez les souris ayant reçu un traitement chronique à la L-DOPA après déplétion dopaminergique ne montrent pas non plus d'altération de leur activité calcique avant leur injection de L-DOPA quotidienne (L-DOPA OFF) (**Figure 38**). Cependant, lors des dyskinésies, et donc en condition L-DOPA ON, nous avons observé une diminution très importante de leur activité calcique : les neurones deviennent presque tous silencieux (**Figure 39**).

Une étude récente a identifié les neurones activés durant les dyskinésies (Shen et al., 2024). Cette population du GPe est majoritairement composée de neurones Nkx2.1⁺ (≈70%) qui correspondent aux neurones PRO. De plus, moins de 20% des neurones activés pendant les dyskinésies étaient FoxP2⁺, c'est-à-dire des neurones ARKY. Ces données correspondent à celles que nous avons obtenues *in vivo*, qui montrent que 80% (53/65) des neurones ARKY deviennent silencieux lors des dyskinésies.

Cette découverte essentielle nous a ensuite amenés à comprendre les mécanismes à l'origine du silence de ces neurones lors des dyskinésies. Deux grandes hypothèses ont émergé :

- (1) La déplétion dopaminergique, combinée au traitement par L-DOPA, induirait des **modifications intrinsèques** des neurones ARKY. Ces altérations pourraient être responsables de leur silence observé en condition L-DOPA ON.
- (2) Des **modifications des afférences synaptiques** des neurones ARKY pourraient survenir en conditions pathologiques, entraînant une inhibition excessive de ces neurones. Cette hyper-inhibition pourrait expliquer leur absence d'activité en condition L-DOPA ON.

1. La L-DOPA, réduit l'activité intrinsèque des neurones ARKY via l'activation des récepteurs dopaminergiques D2.

Dans le but de répondre à la première hypothèse (1), nous avons dans un premier temps, réalisé des enregistrements des neurones ARKY en patch-clamp dans les trois conditions : contrôle, 6-OHDA et L-DOPA OFF (**Figure 40-42**). Nous avons observé qu'en condition 6-OHDA, l'activité spontanée intrinsèque des neurones ARKY est diminuée, reflétant les données de la littérature ([Pamukcu et al., 2020](#)). De plus, nous avons montré une diminution de l'excitabilité des ARKY en condition 6-OHDA (diminution de la fréquence de décharge induite). Le traitement chronique à la L-DOPA permet de rétablir des fréquences de décharge spontanée et induite équivalentes à celle des neurones en condition contrôle.

Ces résultats ne permettent cependant pas d'expliquer le silence des neurones ARKY observé *in vivo* lors des dyskinésies. Ainsi, afin de « mimer » la condition L-DOPA ON, nous avons, lors des enregistrements des neurones ARKY en patch-clamp chez des souris dyskinétiques, appliqué de la L-DOPA sur les tranches (**Figure 44**). Nous avons pu observer une diminution de la fréquence de décharge des neurones ARKY après application de la L-DOPA, associée à une hyperpolarisation de leur potentiel de membrane au repos. De plus, la L-DOPA a entraîné une diminution de la résistance membranaire, de l'hyperpolarisation médiée par une injection de courant hyperpolarisant et de l'amplitude du sag. Ces résultats

suggèrent donc que l'effet aigu de la L-DOPA est de diminuer l'excitabilité des neurones ARKY et qu'elle est accompagnée de changement de conductance.

Les résultats ayant été obtenus chez des souris déplétées en dopamine traitées chroniquement à la L-DOPA, nous avons souhaité déterminer l'effet du même composé sur l'excitabilité des neurones ARKY chez des souris contrôles. Pour cela, nous avons réalisé la même expérience chez des souris non-déplétées en DA et n'ayant jamais reçu d'injection de L-DOPA (**Figure 43**). Étrangement, la L-DOPA n'a aucun effet sur l'activité spontanée, la fréquence de décharge induite ou encore sur des propriétés membranaires des neurones ARKY.

Pourtant, dans la littérature, la L-DOPA est décrite comme pouvant avoir des effets sur l'activité des neurones (Guatteo et al., 2013). Des travaux sur la L-DOPA et son activité en tant que neurotransmetteur ont été menés depuis la découverte de la production cérébrale endogène de L-DOPA par Goshima et ses collègues dans les années 90 (Goshima et al., 1988). Par la suite, un récepteur spécifique à la L-DOPA, le GPR143, codé par le gène de l'albinisme oculaire 1 (OA1), a été découvert et a permis de définir la L-DOPA comme un neurotransmetteur, qui n'agit pas seulement par le biais de la production de DA (Lopez et al., 2008). De plus, d'anciennes études portant sur la présence de récepteurs dopaminergiques dans le GPe, ont montré que les neurones PPE⁺ (aujourd'hui définis comme les neurones ARKY (cf *Introduction-IV.1*)), expriment le récepteur D2 dopaminergique (Hoover and Marshall, 2004, 2002).

En se basant sur les données de la littérature, nous avons souhaité revisiter ces résultats par les techniques d'hybridation *in situ* en fluorescence actuelles. Dans un premier temps, nous avons confirmé la présence spécifique de récepteurs D2 au sein du GPe (**Figure 45**). Puis nous avons démontré que le récepteur D2 est majoritairement exprimé par les neurones ARKY en condition contrôle (80% des neurones D2⁺ coexpriment FoxP2) et exclusivement par les neurones ARKY en condition dyskinétique (**Figure 46-19**). Cependant, seulement 40% des neurones ARKY semblent exprimer le récepteur D2 dopaminergique en condition contrôle et ce pourcentage n'évolue pas en condition dyskinétique (**Figure 47**). Il a été montré que la déplétion en DA entraîne une hypersensibilité à la L-DOPA dans le STR (Ueda

et al., 1995). Ce phénomène pourrait en effet expliquer pourquoi la L-DOPA n'a aucun effet sur l'activité des neurones ARKY en condition contrôle mais entraîne une diminution de leur activité après la déplétion dopaminergique *via* un mécanisme d'hypersensibilité des récepteurs D2.

Pour approfondir notre étude du mécanisme *via* lequel la L-DOPA diminue l'activité des neurones ARKY, nous avons réitérer les mêmes expériences avec un agoniste des récepteurs D2. Nous avons montré que le sumanirol, un agoniste hautement spécifique des récepteurs D2, a un effet similaire chez des souris dyskinétiques (**Figure 49**). Il entraîne une diminution de l'activité des neurones lors de son application dans le bain d'enregistrement. De plus, l'application de l'agoniste des récepteurs D2 n'a aucun effet sur l'activité des neurones ARKY en condition contrôle, comme nous avons pu l'observer avec la L-DOPA (**Figure 48**). Nous pouvons ajouter que l'effet de la L-DOPA en présence de sulpiride, un antagoniste des récepteurs D2, n'entraîne pas de diminution de l'activité des neurones ARKY (**Figure 50**). Ces résultats suggèrent donc que l'effet inhibiteur de l'activité des neurones ARKY par la L-DOPA, chez des souris dyskinétiques, est médié par les récepteurs D2.

Des études récentes réalisées par l'équipe de Goshima, ont montré que le récepteur GPR143 pouvait être couplé au récepteur D2 pour le potentialiser dans le STR ([Masukawa et al., 2023](#)) et que cet effet était sélectif de la forme longue du récepteur D2 (D2L) présent uniquement au niveau post-synaptique ([Tajika et al., 2024](#)). En effet, à l'inverse du D2L, la forme courte du récepteur D2 (D2S), localisée au niveau pré-synaptique (SNc), peut aussi être couplée au récepteur GPR143, qui, lorsqu'il est activé par la L-DOPA, entraîne une inhibition du récepteur D2.

Aux vues des données de la littérature et de nos résultats, nous avons proposé un mécanisme d'action de la L-DOPA récapitulé sur la **Figure 60**.

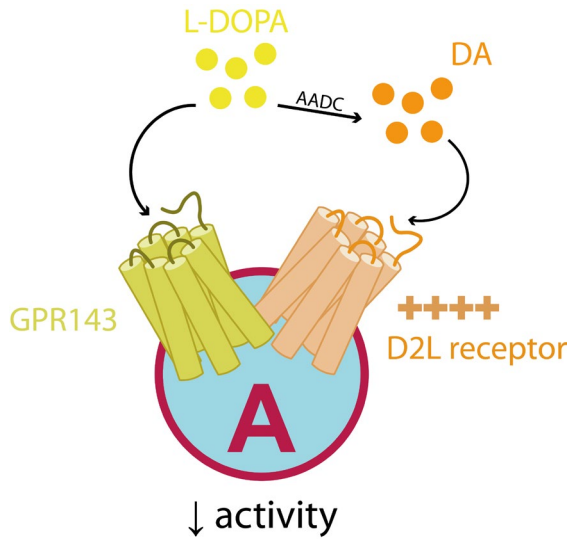


Figure 60 : Mécanisme hypothétique de l'action de la L-DOPA sur les neurones ARKY en condition dyskinétique

La L-DOPA se fixe sur son récepteur GPR143 couplé au récepteur D2L. L'activation du GPR143 entraîne une potentialisation du récepteur D2 dopaminergique. La dopamine, obtenue à partir de la L-DOPA *via* la conversion par l'AADC, se fixe sur le récepteur D2 potentialisé. Le récepteur D2 est activé et induit une diminution de l'activité du neurone ARKY (A).

Les neurones ARKY exprimeraient à leur surface les récepteurs D2 sous leur forme longue, D2L, et GPR143. Ce dernier serait activé par la L-DOPA et potentialiserait ensuite le récepteur D2 auquel il est couplé. La L-DOPA est convertie en DA *via* l'AADC grâce à la présence de fibres sérotoninergiques. La conversion de la DA par les fibres sérotoninergiques a été démontrée dans le STR (Nevalainen et al., 2011) et la présence de ces fibres dans le GPe a été observée chez le ouistiti (Zeng et al., 2010). Dans cette étude, ils ont même démontré que le nombre de varicosités sérotoninergiques étaient augmenté chez les animaux MPTP traités chroniquement à la L-DOPA. Ce même mécanisme pourrait donc permettre, dans notre modèle, de convertir la L-DOPA en DA. Ainsi, la DA issue de la conversion de la L-DOPA se fixerait sur le récepteur D2 afin de l'activer. Celui-ci étant potentialisé, il induirait une diminution importante de l'activité des neurones ARKY.

Des expériences supplémentaires seraient indispensables pour valider cette hypothèse. Il serait notamment nécessaire de prouver la présence du récepteur GPR143 dans les neurones ARKY du GPe.

2. L'hyperactivité de la connexion PRO-ARKY participe au silence des neurones ARKY en condition dyskinétique.

La deuxième hypothèse (2) propose que les afférences des ARKY, impliquées dans le contrôle moteur, subissent des altérations après déplétion dopaminergique et traitement chronique à la L-DOPA qui ont pour conséquence d'inhiber les neurones ARKY.

Afin de tester cette hypothèse, nous nous sommes intéressés aux deux afférences inhibitrices majeures de ces neurones : le STR et le GPe en lui-même.

Le STR est l'afférence majeure des neurones pallidaux, notamment des ARKY (**Figure 29**). La connexion STR-GPe est connue depuis longtemps car elle fait partie de la voie indirecte canonique du circuit des GB décrit par Albin (Albin et al., 1989). Cependant, il a depuis été montré que les neurones iMSN projettent en majorité sur les neurones PRO (Aristieta et al., 2021; Cazorla et al., 2014) dans le cadre de la voie indirecte. De récentes études ont ainsi mis en évidence que les neurones ARKY reçoivent des afférences striatales *via* les dMSN et plus particulièrement des collatérales de la voie directe dMSN-SNr (Cazorla et al., 2014; Ketzef and Silberberg, 2021; Labouesse et al., 2023). Nous nous sommes donc intéressés à la voie dMSN-ARKY et avons étudié ses possibles modifications en conditions pathologiques (**Figure 51**). Nous avons observé que la transmission synaptique entre les neurones dMSN et les neurones ARKY n'est pas modifiée en condition 6-OHDA. Ce résultat contraste avec la seule autre étude ayant examiné l'impact de la déplétion dopaminergique sur la connexion dMSN-GPe. Cette étude utilise également le modèle 6-OHDA, mais s'intéresse à la connexion dMSN-Npas1, qui ne cible pas spécifiquement les neurones ARKY. Les auteurs ont toutefois montré qu'après la déplétion dopaminergique, la force de la connexion dMSN-Npas1 était significativement augmentée, un effet potentiellement attribuable à une augmentation des contacts synaptiques (Cui et al., 2021a).

En revanche, nous avons observé une diminution très importante de l'amplitude des CPSI enregistrés chez les souris dyskinétiques. Cette réduction d'amplitude était associée à une diminution de la force de cette synapse car elle n'était plus en

capacité d'inhiber les neurones ARKY comme en condition contrôle. De plus, la dynamique de la transmission synaptique est inversée : la probabilité de relargage présente une dépression synaptique ($PPR < 1$), contrastant avec les conditions contrôle et 6-OHDA dans lesquelles une facilitation synaptique ($PPR > 1$) est observée, suggérant une altération des mécanismes présynaptiques de libération (**Figure 51**). Ces altérations peuvent être expliquées par un mécanisme compensatoire. En effet, un sous-groupe de neurones de la voie directe des GB est impliqué dans les dyskinésies induites par la L-DOPA, ces dernières étant associées à une hyperactivation de cette voie (Bateup et al., 2010; Fieblinger et al., 2018; Girasole et al., 2018; Ryan et al., 2018; Sagot et al., 2018) qui relargue une quantité plus importante de GABA, au niveau de la SNr, en présence de L-DOPA (Rangel-Barajas et al., 2008). Ainsi, l'hyperactivation de la voie directe durant les dyskinésies entraîne une augmentation des signaux transmis par les dMSN au GPe, et plus particulièrement aux neurones ARKY *via* leurs collatérales. Une modulation compensatoire pourrait alors s'opérer afin de réduire le relargage de GABA à la synapse dMSN-ARKY, dans le but de réguler l'excès d'activité synaptique. Cependant, les mécanismes compensatoires opérant au niveau de cette synapse n'expliquent pas le silence des neurones ARKY.

Dans un second temps, nous avons alors étudié la deuxième afférence inhibitrice majeure des neurones ARKY, les neurones PRO. Les collatérales locales du GPe ont déjà été mises en évidence (Jones et al., 2023; Ketzef and Silberberg, 2021). Cependant, avant d'étudier cette connexion, nous avons souhaité quantifier les connexions PRO-ARKY et plus spécifiquement PV^+ -FoxP2⁺ (**Figure 52**) dans le but de mieux caractériser anatomiquement les connexions que nous allions étudier fonctionnellement. Nous avons pu mettre en évidence que les neurones PV^+ représentaient la moitié des afférences locales des neurones ARKY, les autres neurones étant certainement le reste des neurones PRO ($Nkx2.1^+$) car aucune connexion ARKY-ARKY n'a pu être mise en évidence précédemment (Ketzef and Silberberg, 2021).

La transmission synaptique PRO-ARKY a été étudiée dans les trois conditions physiopathologiques (contrôle, 6-OHDA et L-DOPA OFF) (**Figure 53**).

Nous avons pu observer que cette connexion tendait à être diminuée en condition 6-OHDA. Cependant le nombre de neurones enregistré est trop faible pour observer une différence significative. Ainsi, des enregistrements supplémentaires seront nécessaires pour valider cette observation. Puis, cette transmission synaptique retrouve des valeurs normales (comparable aux valeurs chez des animaux contrôles) avec traitement chronique à la L-DOPA suggérant un rétablissement de la connexion synaptique PRO-ARKY par le traitement chronique.

A partir de ces résultats, nous proposons un mécanisme pouvant contribuer au silence des neurones ARKY. Après déplétion dopaminergique, les neurones PRO présentent une activité légèrement augmentée avec un profil « *bursty* » (Boraud et al., 1998). Puis, le traitement chronique à la L-DOPA entraîne une augmentation drastique de leur activité : ils passent de 50-70 Hz *in vivo* à 100-120 Hz (Shen et al., 2024 et données du laboratoire). L'augmentation de leur activité, associée à la récupération de la synapse par le traitement chronique aurait pour conséquence une hyper-inhibition des neurones ARKY pouvant contribuer à leur silence pendant les dyskinésies.

Dans ce chapitre, nous avons montré que les neurones ARKY étaient silencieux lors des dyskinésies induites par la L-DOPA. Nous avons tenté d'élucider les mécanismes pouvant être responsables de ce silence. L'hypersensibilité des récepteurs D2 *via* lesquels la L-DOPA médie une inhibition de l'activité des neurones ARKY (**Figure 60**), associée à l'augmentation de la connexion et de la force synaptique entre les neurones PRO et ARKY pourraient exercer un effet synergique puissant entraînant le silence des neurones ARKY après injection de L-DOPA chez des souris déplétée en dopamine.

Des expériences complémentaires seraient nécessaires pour prouver la causalité entre le silence des neurones ARKY et la génération des DIL. L'activation optogénétique des neurones ARKY durant les dyskinésies permettraient potentiellement de rétablir des mouvements normaux et donc un contrôle du mouvement volontaire. En plus d'établir un lien causal entre l'activité silencieuse des neurones ARKY et les DIL, ces expériences contribueraient à positionner les

neurones ARKY comme des cibles thérapeutiques potentielles dans le contexte des DIL.

III. La voie pallidostriatale est augmentée chez les souris dyskinétique

Le chapitre précédent faisait l'état d'un silence des neurones ARKY pendant les dyskinésies et visait à comprendre les potentiels mécanismes mis en jeu dans ce phénomène. Dans cette partie, nous allons décrire la voie arky-pallido-striatale, responsable du signal STOP, en condition physiologique et tentait de comprendre ses modifications suite à la déplétion en dopamine et suite au traitement chronique à la L-DOPA.

1. Les projections arky-pallidales ciblent préférentiellement la matrice, sans sélectivité pour les dMSN ou iMSN.

Dans un premier temps, nous avons voulu décrire et valider fonctionnellement la voie pallido-striatale (**Figure 54**, **Figure 55**). Nous avons pu montrer que les neurones pallidaux projettent à la fois aux neurones dMSN et iMSN, aussi bien au niveau de la proportion que des caractéristiques des transmissions synaptiques. Cette voie avait déjà été étudiée mais nos résultats ne concordent pas avec cette littérature. En effet, cette étude montre que la transmission synaptique GPe-iMSN est plus forte que la transmission GPe-dMSN (Glajch et al., 2016). Cependant, le nombre important de neurones que nous avons enregistrés, ainsi que leur répartition dispersée dans le STR dorsal, assurent une représentation fiable des MSN de cette région. De plus, les sites d'injection restreints au GPe ont été validés chez tous les animaux. Rien ne peut donc, dans notre étude, expliquer la différence observée avec la littérature.

Puis, nous avons souhaité être spécifique des neurones ARKY. Dans un premier temps, nous avons étudié la voie arky-pallido-striatale en condition physiologique. À notre connaissance, aucune étude n'avait jusqu'à présent exploré la spécificité

compartimentale des projections des neurones ARKY dans le STR. Nous avons donc quantifié le nombre de synapses des neurones ARKY projetant vers le STR, en distinguant chaque compartiment et sous-région striatale : dans le DMS et le DLS, ainsi que dans la matrice et les striosomes. (**Figure 56**). Nous avons observé que la matrice était préférentiellement innervée par les neurones ARKY en comparaison avec les striosomes, indépendamment de la sous-région striatale. Le compartiment striosomal a été décrit comme « associatif » ou « limbique » de par ses projections et les comportements qui lui sont associés, alors que la matrice a été considérée impliquée dans les comportements « moteurs » (Prager and Plotkin, 2019). Les neurones ARKY étant largement décrits comme acteurs principaux du contrôle moteur (Aristieta et al., 2021; Dodson et al., 2015), le fait que leurs projections soient localisées majoritairement au niveau d'un compartiment « moteur » semble donc cohérent.

Puis, nous avons ensuite caractériser fonctionnellement la voie arky-pallido-striatale (**Figure 57, Figure 58**). Nous avons observé que la transmission synaptique entre les ARKY et les dMSN ou iMSN est comparable, ce qui diffère encore de la littérature (Glajch et al., 2016). Cependant, la voie étudiée dans cette étude était légèrement différente, puisqu'il s'agissait de la voie Npas1⁺-STR. En effet, les neurones Npas1⁺ du GPe regroupent à la fois une partie des neurones PRO et des neurones ARKY, ce qui rend nos résultats partiellement comparables. Néanmoins, l'observation qu'ils rapportent concernant la transmission Npas1⁺-STR est cohérente avec leurs résultats sur la voie GPe-STR : la transmission synaptique est plus forte pour la voie Npas1⁺-iMSN que pour la voie Npas1⁺-dMSN. De manière similaire, nos résultats relatifs à la voie GPe-STR concordent avec les observations plus ciblées sur les neurones ARKY.

Toutefois, étant donné que les connexions des neurones ARKY avec les deux types de neurones MSN sont similaires, cela suggère que le signal STOP au niveau du striatum agit de manière non sélective pour moduler globalement l'activité motrice. En revanche, les courants synaptiques enregistrés chez les MSN en réponse à l'optostimulation des neurones ARKY sont plutôt petits (≈ 10 à 50 pA) ce qui semble peu cohérent avec l'idée d'un signal STOP fort et global au niveau du STR. Une des

explications serait que cette voie entrerait en jeu dans l'intégration des signaux corticaux au sein du STR.

Cette hypothèse est étayée par des observations antérieures : les synapses arkypallido-striatales ne sont pas situées au niveau du soma des neurones MSN, mais sur leurs dendrites (Glajch et al., 2016) et plus précisément sur les épines dendritiques (Mallet et al., 2012), un emplacement stratégique impliqué dans le filtrage des informations afférentes corticales. En effet, il a été démontré, notamment dans l'hippocampe, que l'inhibition GABAergique localisée au niveau des épines dendritiques peut filtrer les signaux excitateurs, voire les bloquer complètement (Kobayashi et al., 2019). Il a également été montré que, dans le cortex préfrontal, les récepteurs GABA_B localisés sur les dendrites modulent fortement l'entrée de calcium en inhibant directement les canaux calciques voltage-dépendants. Cette inhibition altère la capacité des dendrites et des épines à intégrer les signaux excitateurs, avec des conséquences notables sur la plasticité synaptique. (Chalifoux and Carter, 2011). Il est donc envisageable que les neurones ARKY jouent un rôle similaire dans le STR, en modulant et en contrôlant les signaux excitateurs d'origine corticale. Toutefois, des expériences complémentaires seront nécessaires pour valider cette hypothèse.

2. La transmission synaptique ARKY-STR est augmentée en conditions pathologiques.

Pour mieux comprendre les modifications synaptiques s'opérant suite au silence des neurones ARKY, nous avons étudié les altérations des connexions synaptiques entre les neurones ARKY et les MSN après déplétion dopaminergique et traitement à la L-DOPA (**Figure 59**). La transmission synaptique entre les neurones ARKY et les dMSN/iMSN tend à être augmentée suite à la déplétion dopaminergique, et est significativement renforcée après administration de L-DOPA. Cette observation est en partie comparable à ce qui a été montré dans la littérature (Glajch et al., 2016). Dans cette étude, les auteurs ont notamment montré que l'augmentation de la force synaptique de cette connexion peut être due à un rapprochement des contacts

synaptiques vers le soma des neurones striataux. De plus, Glakch et ses collègues ont observé une surexpression des récepteurs post-synaptiques GABA_A après déplétion dopaminergique ce qui peut contribuer à l'augmentation de la force synaptique.

Plusieurs hypothèses pourraient expliquer la potentialisation de la transmission synaptique en conditions pathologiques. Les neurones ARKY devenant silencieux pendant le traitement à la L-DOPA, un mécanisme compensatoire pourrait se mettre en place pour contrebalancer le manque de GABA délivré au niveau du STR, en augmentant la transmission synaptique.

D'un autre côté, il a été montré que les synapses cortico-pallidales perdent leur capacité de dépotentialisation chez des animaux développant des DIL (Picconi et al., 2003). Ainsi, si le rôle des neurones ARKY est de moduler l'intégration corticale, un mécanisme compensatoire pourrait se mettre en place pour essayer de réguler les synapses corticostriatales altérées en condition dyskinétique et maintenir une forme d'homéostasie.

CONCLUSION

Cette thèse a mis en lumière que la déplétion dopaminergique suivie d'un traitement chronique à la L-DOPA pouvait altérer des neurones clés dans le contrôle moteur : les neurones ARKY. Dans la MP, les symptômes moteurs apparaissant au début de la maladie (bradykinésie, rigidité, instabilité posturale), ainsi qu'après plusieurs années de traitement à la L-DOPA (dyskinésies), pourraient être en lien avec des altérations des neurones ARKY impliquant un remodelage du microcircuit dans lequel ils occupent une place centrale. Nous proposons donc une hypothèse de dérégulation d'une partie du circuit des GB dans laquelle les neurones ARKY sont impliqués, qui pourrait être responsable de la génération des dyskinésies L-DOPA induites dans la **Figure 61**.

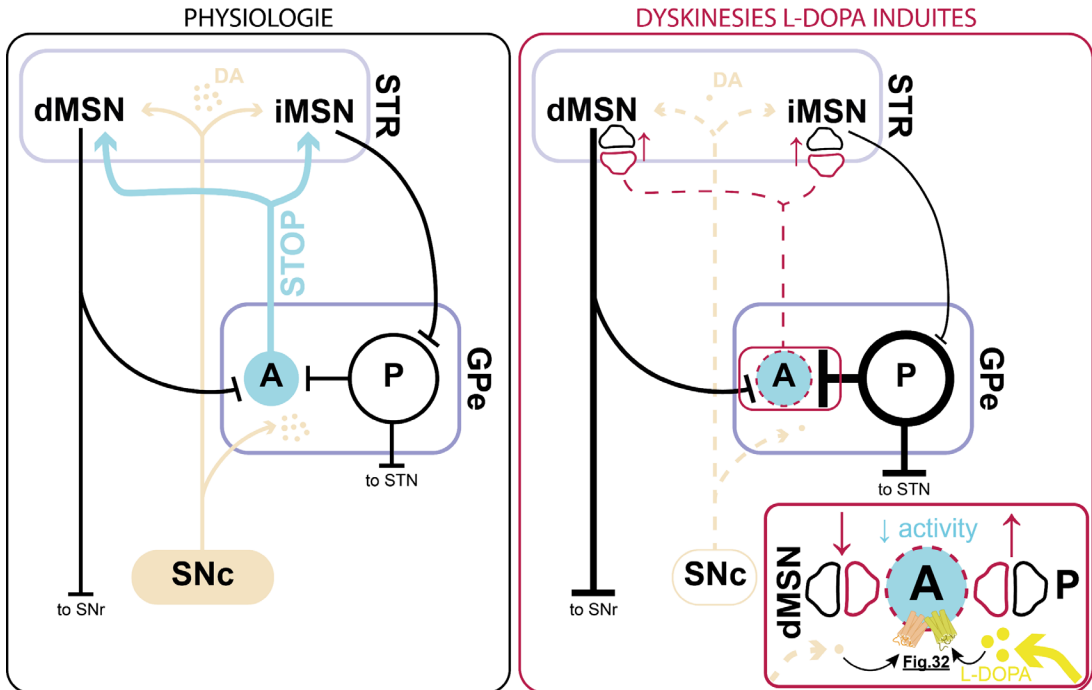


Figure 61 : Hypothèse de remodelage du circuit des GB en condition dyskinétique

Ce schéma regroupe les altérations connues au niveau du circuit des GB dans les DIL afin de proposer une nouvelle hypothèse de dérégulation des GB en condition dyskinétique : dégénération des fibres dopaminergiques de la SNc (Bernheimer et al., 1973), hyperactivité de la voie directe et hypoactivité de la voie indirecte (Ryan et al., 2018), activité augmentée des neurones PRO (Shen et al., 2024) et les altérations mises en avant dans ce projet de thèse : modifications des synapses (dMSN-ARKY, PRO-ARKY, ARKY-MSN) ; altération de l'activité des ARKY en présence de L-DOPA, silence des neurones ARKY *in vivo*, hypothèse de la modulation des récepteurs GPR143 et D2 à la membrane des ARKY (Figure 32).

BIBLIOGRAPHIE

- Abdi, A., Mallet, N., Mohamed, F.Y., Sharott, A., Dodson, P.D., Nakamura, K.C., Suri, S., Avery, S.V., Larvin, J.T., Garas, F.N., Garas, S.N., Vinciati, F., Morin, S., Bezard, E., Baufreton, J., Magill, P.J., 2015. Prototypic and arkypallidal neurons in the dopamine-intact external globus pallidus. *J Neurosci* 35, 6667–6688. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4662-14.2015>
- Abecassis, Z.A., Berceau, B.L., Win, P.H., García, D., Xenias, H.S., Cui, Q., Pamukcu, A., Cherian, S., Hernández, V.M., Chon, U., Lim, B.K., Kim, Y., Justice, N.J., Awatramani, R., Hooks, B.M., Gerfen, C.R., Boca, S.M., Chan, C.S., 2020. Npas1+-Nkx2.1+ Neurons Are an Integral Part of the Cortico-pallido-cortical Loop. *J Neurosci* 40, 743–768. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1199-19.2019>
- Abedi, P.M., Delaville, C., Deurwaerdère, P.D., Benjelloun, W., Benazzouz, A., 2013. Intrapallidal administration of 6-hydroxydopamine mimics in large part the electrophysiological and behavioral consequences of major dopamine depletion in the rat. *Neuroscience* 236, 289–297. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.01.043>
- Albin, R.L., Young, A.B., Penney, J.B., 1989. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends in Neurosciences* 12, 366–375. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(89\)90074-X](https://doi.org/10.1016/0166-2236(89)90074-X)
- Alexander, G.E., Crutcher, M.D., DeLong, M.R., 1991. Chapter 6 Basal ganglia-thalamocortical circuits: Parallel substrates for motor, oculomotor, “prefrontal” and “limbic” functions, in: *Progress in Brain Research*. Elsevier, pp. 119–146. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)62678-3](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)62678-3)
- Alonso-Frech, F., Zamarbide, I., Alegre, M., Rodríguez-Oroz, M.C., Guridi, J., Manrique, M., Valencia, M., Artieda, J., Obeso, J.A., 2006. Slow oscillatory activity and levodopa-induced dyskinesias in Parkinson’s disease. *Brain* 129, 1748–1757. <https://doi.org/10.1093/brain/awl103>
- Amemori, K., Gibb, L.G., Graybiel, A.M., 2011. Shifting Responsibly: The Importance of Striatal Modularity to Reinforcement Learning in Uncertain Environments. *Front Hum Neurosci* 5, 47. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2011.00047>
- 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* 143, 477–486. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.08.033>
- Aristieta, A., Barresi, M., Azizpour Lindi, S., Barrière, G., Courtand, G., de la Crompe, B., Guilhemsang, L., Gauthier, S., Fioramonti, S., Baufreton, J., Mallet, N.P., 2021. A Disynaptic Circuit in the Globus Pallidus Controls Locomotion Inhibition. *Curr Biol* 31, 707–721.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.11.019>
- Bahuguna, J., Tetzlaff, T., Kumar, A., Hellgren Kotaleski, J., Morrison, A., 2017. Homologous Basal Ganglia Network Models in Physiological and Parkinsonian Conditions. *Front Comput Neurosci* 11, 79. <https://doi.org/10.3389/fncom.2017.00079>

- Baker, M., Kang, S., Hong, S.-I., Song, M., Yang, M.A., Peyton, L., Essa, H., Lee, S.W., Choi, D.-S., 2023. External globus pallidus input to the dorsal striatum regulates habitual seeking behavior in male mice. *Nat Commun* 14, 4085. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39545-8>
- Balleine, B.W., Delgado, M.R., Hikosaka, O., 2007. The Role of the Dorsal Striatum in Reward and Decision-Making. *J. Neurosci.* 27, 8161–8165. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1554-07.2007>
- Bartlett, L.E., Mendez, I., 2005. Dopaminergic Reinnervation of the Globus Pallidus by Fetal Nigral Grafts in the Rodent Model of Parkinson's Disease. *Cell Transplant* 14, 119–127. <https://doi.org/10.3727/000000005783983241>
- Bateup, H.S., Santini, E., Shen, W., Birnbaum, S., Valjent, E., Surmeier, D.J., Fisone, G., Nestler, E.J., Greengard, P., 2010. Distinct subclasses of medium spiny neurons differentially regulate striatal motor behaviors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 14845–14850. <https://doi.org/10.1073/pnas.1009874107>
- Baufreton, J., Atherton, J.F., Surmeier, D.J., Bevan, M.D., 2005. Enhancement of Excitatory Synaptic Integration by GABAergic Inhibition in the Subthalamic Nucleus. *J Neurosci* 25, 8505–8517. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1163-05.2005>
- Baufreton, J., Kirkham, E., Atherton, J.F., Menard, A., Magill, P.J., Bolam, J.P., Bevan, M.D., 2009. Sparse but selective and potent synaptic transmission from the globus pallidus to the subthalamic nucleus. *J Neurophysiol* 102, 532–545. <https://doi.org/10.1152/jn.00305.2009>
- Beccano-Kelly, D.A., Volta, M., Munsie, L.N., Paschall, S.A., Tatarnikov, I., Co, K., Chou, P., Cao, L.-P., Bergeron, S., Mitchell, E., Han, H., Melrose, H.L., Tapia, L., Raymond, L.A., Farrer, M.J., Milnerwood, A.J., 2015. LRRK2 overexpression alters glutamatergic presynaptic plasticity, striatal dopamine tone, postsynaptic signal transduction, motor activity and memory. *Human Molecular Genetics* 24, 1336–1349. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu543>
- Beier, K.T., Kim, C.K., Hoerbelt, P., Hung, L.W., Heifets, B.D., DeLoach, K.E., Mosca, T.J., Neuner, S., Deisseroth, K., Luo, L., Malenka, R.C., 2017. Rabies screen reveals GPe control of cocaine-triggered plasticity. *Nature* 549, 345–350. <https://doi.org/10.1038/nature23888>
- Benabid, A.-L., Koudsié, A., Benazzouz, A., Fraix, V., Ashraf, A., Le Bas, J.F., Chabardes, S., Pollak, P., 2000. Subthalamic Stimulation for Parkinson's Disease. *Archives of Medical Research* 31, 282–289. [https://doi.org/10.1016/S0188-4409\(00\)00077-1](https://doi.org/10.1016/S0188-4409(00)00077-1)
- Benabid, A.L., Koudsie, A., Benazzouz, A., Vercueil, L., Fraix, V., Chabardes, S., Lebas, J.F., Pollak, P., 2001. Deep brain stimulation of the corpus luyssi (subthalamic nucleus) and other targets in Parkinson's disease. Extension to new indications such as dystonia and epilepsy. *J Neurol* 248 Suppl 3, III37-47. <https://doi.org/10.1007/pl00007825>
- Benazzouz, A., Gross, C., Féger, J., Boraud, T., Bioulac, B., 1993. Reversal of Rigidity and Improvement in Motor Performance by Subthalamic High-frequency Stimulation in MPTP-treated Monkeys. *Eur J of Neuroscience* 5, 382–389. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1993.tb00505.x>

- Ben-Shlomo, Y., Darweesh, S., Llibre-Guerra, J., Marras, C., San Luciano, M., Tanner, C., 2024. The epidemiology of Parkinson's disease. *The Lancet* 403, 283–292. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01419-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01419-8)
- Bergman, H., Wichmann, T., DeLong, M.R., 1990. Reversal of Experimental Parkinsonism by Lesions of the Subthalamic Nucleus. *Science* 249, 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, 507–520. <https://doi.org/10.1152/jn.1994.72.2.507>
- 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, 415–455. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(73\)90175-5](https://doi.org/10.1016/0022-510X(73)90175-5)
- Betarbet, R., Sherer, T.B., MacKenzie, G., Garcia-Osuna, M., Panov, A.V., Greenamyre, J.T., 2000. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci* 3, 1301–1306. <https://doi.org/10.1038/81834>
- Bevan, M.D., Booth, P.A.C., Eaton, S.A., Bolam, J.P., 1998. Selective Innervation of Neostriatal Interneurons by a Subclass of Neuron in the Globus Pallidus of the Rat. *J Neurosci* 18, 9438–9452. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-22-09438.1998>
- Björklund, A., Nilsson, F., Mattsson, B., Hoban, D.B., Parmar, M., 2022. A Combined α -Synuclein/Fibril (SynFib) Model of Parkinson-Like Synucleinopathy Targeting the Nigrostriatal Dopamine System. *J Parkinsons Dis* 12, 2307–2320. <https://doi.org/10.3233/JPD-223452>
- Bogacz, R., Moraud, E.M., Abdi, A., Magill, P.J., Baufreton, J., 2016. Properties of Neurons in External Globus Pallidus Can Support Optimal Action Selection. *PLOS Computational Biology*.
- Bogers, J.S., Bloem, B.R., Den Heijer, J.M., 2023. The Etiology of Parkinson's Disease: New Perspectives from Gene-Environment Interactions. *J Parkinsons Dis* 13, 1281–1288. <https://doi.org/10.3233/JPD-230250>
- Bohnslav, J., 2025. [jbohnslav/deepethogram](https://jbohnslav.com/deepethogram).
- Bonnavion, P., Varin, C., Fakhfouri, G., Martinez Olondo, P., De Groote, A., Cornil, A., Lorenzo Lopez, R., Pozuelo Fernandez, E., Isingrini, E., Rainer, Q., Xu, K., Tzavara, E., Vigneault, E., Dumas, S., de Kerchove d'Exaerde, A., Giros, B., 2024. Striatal projection neurons coexpressing dopamine D1 and D2 receptors modulate the motor function of D1- and D2-SPNs. *Nat Neurosci* 27, 1783–1793. <https://doi.org/10.1038/s41593-024-01694-4>
- Boraud, T., Bezard, E., Bioulac, B., Gross, C., 1996. High frequency stimulation of the internal Globus Pallidus (GPi) simultaneously improves parkinsonian symptoms and reduces the firing frequency of GPi neurons in the MPTP-treated monkey. *Neuroscience Letters* 215, 17–20. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(96\)12943-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(96)12943-8)

- Boraud, T., Bezard, E., Guehl, D., Bioulac, B., Gross, C., 1998. Effects of L-DOPA on neuronal activity of the globus pallidus externalis (GPe) and globus pallidus internalis (GPi) in the MPTP-treated monkey. *Brain Research* 787, 157–160. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)01563-1](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)01563-1)
- Boraud, T., Bezard, E., Guehl, D., Bioulac, B., Gross, C., 1997. GPe and globus pallidus internalis GPi in the MPTP-treated monkey.
- Braak, H., De Vos, R.A.I., Bohl, J., Del Tredici, K., 2006. Gastric α -synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neuroscience Letters* 396, 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.11.012>
- Braak, H., Rüb, U., Gai, W.P., Del Tredici, K., 2003. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm* 110, 517–536. <https://doi.org/10.1007/s00702-002-0808-2>
- Braak, Heiko, Tredici, K.D., Rüb, U., De Vos, R.A.I., Jansen Steur, E.N.H., Braak, E., 2003. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging* 24, 197–211. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(02\)00065-9](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00065-9)
- Branchi, I., D'Andrea, I., Armida, M., Cassano, T., Pèzzola, A., Potenza, R.L., Morgese, M.G., Popoli, P., Alleva, E., 2008. Nonmotor symptoms in Parkinson's disease: Investigating early-phase onset of behavioral dysfunction in the 6-hydroxydopamine-lesioned rat model. *J of Neuroscience Research* 86, 2050–2061. <https://doi.org/10.1002/jnr.21642>
- Brown, H., Difrancesco, D., 1980. Voltage-clamp investigations of membrane currents underlying pace-maker activity in rabbit sino-atrial node. *The Journal of Physiology* 308, 331–351. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1980.sp013474>
- Brown, P., Oliviero, A., Mazzone, P., Insola, A., Tonali, P., Lazzaro, V.D., 2001. Dopamine Dependency of Oscillations between Subthalamic Nucleus and Pallidum in Parkinson's Disease. *J. Neurosci.* 21, 1033–1038. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-03-01033.2001>
- Bugaysen, J., Bar-Gad, I., Korngreen, A., 2013. Continuous Modulation of Action Potential Firing by a Unitary GABAergic Connection in the Globus Pallidus In Vitro. *J Neurosci* 33, 12805–12809. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1970-13.2013>
- Burton, A.C., Nakamura, K., Roesch, M.R., 2015. From ventral-medial to dorsal-lateral striatum: Neural correlates of reward-guided decision-making. *Neurobiol Learn Mem* 0, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.05.003>
- Cazorla, M., de Carvalho, F.D., Chohan, M.O., Shegda, M., Chuhma, N., Rayport, S., Ahmari, S.E., Moore, H., Kellendonk, C., 2014. Dopamine D2 Receptors Regulate the Anatomical and Functional Balance of Basal Ganglia Circuitry. *Neuron* 81, 153–164. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.041>
- Cenci, M.A., Lee, C.S., 1998. L-DOPA-induced dyskinesia in the rat is associated with striatal overexpression of prodynorphin- and glutamic acid decarboxylase mRNA. *European Journal of Neuroscience*.

- Chalifoux, J.R., Carter, A.G., 2011. GABAB receptor modulation of voltage-sensitive calcium channels in spines and dendrites. *J Neurosci* 31, 4221–4232. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4561-10.2011>
- Chan, C.S., Glajch, K.E., Gertler, T.S., Guzman, J.N., Mercer, J.N., Lewis, A.S., Goldberg, A.B., Tkatch, T., Shigemoto, R., Fleming, S.M., Chetkovich, D.M., Osten, P., Kita, H., Surmeier, D.J., 2011. HCN Channelopathy in External Globus Pallidus Neurons in Models of Parkinson's Disease. *Nat Neurosci* 14, 85–92. <https://doi.org/10.1038/nn.2692>
- Chan, C.S., Shigemoto, R., Mercer, J.N., Surmeier, D.J., 2004. HCN2 and HCN1 channels govern the regularity of autonomous pacemaking and synaptic resetting in globus pallidus neurons. *J Neurosci* 24, 9921–9932. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2162-04.2004>
- Charara, A., Parent, A., 1994. Brainstem dopaminergic, cholinergic and serotonergic afferents to the pallidum in the squirrel monkey. *Brain Research* 640, 155–170. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91870-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91870-8)
- Charles, K., 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* 33, 1010–1015. <https://doi.org/10.1002/mds.27377>
- Chazalon, M., Paredes-Rodriguez, E., Morin, S., Martinez, A., Cristóvão-Ferreira, S., Vaz, S., Sebastiao, A., Panatier, A., Boué-Grabot, E., Miguelez, C., Baufreton, J., 2018. GAT-3 Dysfunction Generates Tonic Inhibition in External Globus Pallidus Neurons in Parkinsonian Rodents. *Cell Reports* 23, 1678–1690. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.04.014>
- Chen, M., Zhu, Y., Zhang, R., Yu, R., Hu, Y., Wan, H., Yao, D., Guo, D., 2023. A model description of beta oscillations in the external globus pallidus. *Cogn Neurodyn* 17, 477–487. <https://doi.org/10.1007/s11571-022-09827-w>
- Chen, M.C., Ferrari, L., Sacchet, M.D., Foland-Ross, L.C., Qiu, M.-H., Gotlib, I.H., Fuller, P.M., Arrigoni, E., Lu, J., 2015. Identification of a direct GABAergic pallidocortical pathway in rodents. *Eur J Neurosci* 41, 748–759. <https://doi.org/10.1111/ejn.12822>
- Chen, X.-Y., Xue, Y., Wang, H., Zhu, S.-H., Hao, X.-M., Chen, L., 2013. Modulation of firing activity by endogenous GABA receptors in the globus pallidus of MPTP-treated parkinsonian mice. *Neurosci Bull* 29, 701–707. <https://doi.org/10.1007/s12264-013-1351-x>
- Chung, C.Y., Koprach, J.B., Siddiqi, H., Isacson, O., 2009. Dynamic Changes in Presynaptic and Axonal Transport Proteins Combined with Striatal Neuroinflammation Precede Dopaminergic Neuronal Loss in a Rat Model of AAV α -Synucleinopathy. *J Neurosci* 29, 3365–3373. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5427-08.2009>
- Cicchetti, F., Drouin-Ouellet, J., Gross, R.E., 2010. Viability of the rotenone model in question. *Trends in Pharmacological Sciences* 31, 142–143. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.12.008>
- Cicchetti, F., Lapointe, N., Roberge-Tremblay, A., Saint-Pierre, M., Jimenez, L., Ficke, B.W., Gross, R.E., 2005. Systemic exposure to paraquat and maneb

- models early Parkinson's disease in young adult rats. *Neurobiol Dis* 20, 360–371. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.03.018>
- Clark, I.E., Dodson, M.W., Jiang, C., Cao, J.H., Huh, J.R., Seol, J.H., Yoo, S.J., Hay, B.A., Guo, M., 2006. *Drosophila pink1* is required for mitochondrial function and interacts genetically with parkin. *Nature* 441, 1162–1166. <https://doi.org/10.1038/nature04779>
- Colucci, M., Cervio, M., Faniglione, M., De Angelis, S., Pajoro, M., Levandis, G., Tassorelli, C., Blandini, F., Feletti, F., De Giorgio, R., Dellabianca, A., Tonini, S., Tonini, M., 2012. Intestinal dysmotility and enteric neurochemical changes in a Parkinson's disease rat model. *Autonomic Neuroscience* 169, 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2012.04.005>
- Cooper, A.J., Stanford, I.M., 2002. Calbindin D-28k positive projection neurones and calretinin positive interneurons of the rat globus pallidus. *Brain Research* 929, 243–251. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)03263-2](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)03263-2)
- Corbit, V.L., Whalen, T.C., Zitelli, K.T., Crilly, S.Y., Rubin, J.E., Gittis, A.H., 2016. Pallidostriatal Projections Promote β Oscillations in a Dopamine-Depleted Biophysical Network Model. *J Neurosci* 36, 5556–5571. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0339-16.2016>
- Crompe, B.D.L., Aristieta, A., Leblois, A., Elsherbiny, S., Boraud, T., Mallet, N.P., 2020. The globus pallidus orchestrates abnormal network dynamics in a model of Parkinsonism. *Nat Commun* 11, 1570. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15352-3>
- Cruz, A.V., Mallet, N., Magill, P.J., Brown, P., Averbeck, B.B., 2011. Effects of dopamine depletion on information flow between the subthalamic nucleus and external globus pallidus. *Journal of Neurophysiology* 106, 2012–2023. <https://doi.org/10.1152/jn.00094.2011>
- Cui, Q., Du, X., Chang, I.Y.M., Pamukcu, A., Lilascharoen, V., Berceau, B.L., García, D., Hong, D., Chon, U., Narayanan, A., Kim, Y., Lim, B.K., Chan, C.S., 2021a. Striatal Direct Pathway Targets Npas1+ Pallidal Neurons. *J Neurosci* 41, 3966–3987. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2306-20.2021>
- Cui, Q., Pamukcu, A., Cherian, S., Chang, I.Y.M., Berceau, B.L., Xenias, H.S., Higgs, M.H., Rajamanickam, S., Chen, Y., Du, X., Zhang, Y., McMorro, H., Abecassis, Z.A., Boca, S.M., Justice, N.J., Wilson, C.J., Chan, C.S., 2021b. Dissociable Roles of Pallidal Neuron Subtypes in Regulating Motor Patterns. *J Neurosci* 41, 4036–4059. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2210-20.2021>
- Cui, Q., Pitt, J.E., Pamukcu, A., Poulin, J.-F., Mabrouk, O.S., Fiske, M.P., Fan, I.B., Augustine, E.C., Young, K.A., Kennedy, R.T., Awatramani, R., Chan, C.S., 2016. Blunted mGluR Activation Disinhibits Striatopallidal Transmission in Parkinsonian Mice. *Cell Rep* 17, 2431–2444. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.10.087>
- Dauer, W., Przedborski, S., 2003. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. *Neuron* 39, 889–909. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00568-3](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00568-3)
- De La Crompe, B., Coulon, P., Diester, I., 2020. Functional interrogation of neural circuits with virally transmitted optogenetic tools. *Journal of Neuroscience Methods* 345, 108905. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2020.108905>

- Debeir, T., Ginestet, L., François, C., Laurens, S., Martel, J.-C., Chopin, P., Marien, M., Colpaert, F., Raisman-Vozari, R., 2005. Effect of intrastriatal 6-OHDA lesion on dopaminergic innervation of the rat cortex and globus pallidus. *Experimental Neurology* 193, 444–454. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2005.01.007>
- Decressac, M., Mattsson, B., Lundblad, M., Weikop, P., Björklund, A., 2012. Progressive neurodegenerative and behavioural changes induced by AAV-mediated overexpression of α -synuclein in midbrain dopamine neurons. *Neurobiology of Disease* 45, 939–953. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.12.013>
- Del Rey, N.L.-G., García-Cabezas, M.Á., 2023. Cytology, architecture, development, and connections of the primate striatum: Hints for human pathology. *Neurobiol Dis* 176, 105945. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105945>
- Delgado-Zabalza, L., Mallet, N.P., Glangetas, C., Dabee, G., Garret, M., Miguelez, C., Baufreton, J., 2023. Targeting parvalbumin-expressing neurons in the substantia nigra pars reticulata restores motor function in parkinsonian mice. *Cell Reports* 42, 113287. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.113287>
- Delzor, A., Dufour, N., Petit, F., Guillemier, M., Houitte, D., Auregan, G., Brouillet, E., Hantraye, P., Déglon, N., 2012. Restricted Transgene Expression in the Brain with Cell-Type Specific Neuronal Promoters. *Hum Gene Ther Methods* 23, 242–254. <https://doi.org/10.1089/hgtb.2012.073>
- Dhellemmes, T., 2025. [tdhellemmes/B3D-Img](https://www.youtube.com/watch?v=tdhellemmes/B3D-Img).
- Di Bisceglie Caballero, S., Ces, A., Liberge, M., Ambroggi, F., Amalric, M., Ouagazzal, A.-M., 2023. Optogenetic Globus Pallidus Stimulation Improves Motor Deficits in 6-Hydroxydopamine-Lesioned Mouse Model of Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci* 24, 7935. <https://doi.org/10.3390/ijms24097935>
- DiFiglia, M., Pasik, P., Pasik, T., 1976. A Golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkeys - PubMed.
- Ding, F., Luan, L., Ai, Y., Walton, A., Gerhardt, G.A., Gash, D.M., Grondin, R., Zhang, Z., 2008. Development of a stable, early stage unilateral model of Parkinson's disease in middle-aged rhesus monkeys. *Exp Neurol* 212, 431–439. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.04.027>
- Disease, M.D.S.T.F. on R.S. for P., 2003. The Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS): Status and recommendations. *Movement Disorders* 18, 738–750. <https://doi.org/10.1002/mds.10473>
- Dodson, P.D., Larvin, J.T., Duffell, J.M., Garas, F.N., Doig, N.M., Kessar, N., Duguid, I.C., Bogacz, R., Butt, S.J.B., Magill, P.J., 2015. Distinct developmental origins manifest in the specialized encoding of movement by adult neurons of the external globus pallidus. *Neuron* 86, 501–513. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.03.007>
- Dovonou, A., Bolduc, C., Soto Linan, V., Gora, C., Peralta III, M.R., Lévesque, M., 2023. Animal models of Parkinson's disease: bridging the gap between disease hallmarks and research questions. *Translational Neurodegeneration* 12, 36. <https://doi.org/10.1186/s40035-023-00368-8>
- Eid, L., Parent, A., Parent, M., 2016. Asynaptic feature and heterogeneous distribution of the cholinergic innervation of the globus pallidus in primates.

- Brain Struct Funct 221, 1139–1155. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0960-0>
- English, D.F., Ibanez-Sandoval, O., Stark, E., Tecuapetla, F., Buzsáki, G., Deisseroth, K., Tepper, J.M., Koos, T., 2012. GABAergic circuits mediate the reinforcement-related signals of striatal cholinergic interneurons. *Nat Neurosci* 15, 123–130. <https://doi.org/10.1038/nn.2984>
- Fahn, S., 2015. The medical treatment of Parkinson disease from James Parkinson to George Cotzias. *Movement Disorders* 30, 4–18. <https://doi.org/10.1002/mds.26102>
- Fahn, S., Elton, R.L., 1987. Recent Developments in Parkinson's Disease 153–163.
- Fan, K.Y., Baufreton, J., Surmeier, D.J., Chan, C.S., Bevan, M.D., 2012. Proliferation of external globus pallidus-subthalamic nucleus synapses following degeneration of midbrain dopamine neurons. *J Neurosci* 32, 13718–13728. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5750-11.2012>
- Fearnley, J.M., Lees, A.J., 1991. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain* 114, 2283–2301. <https://doi.org/10.1093/brain/114.5.2283>
- Fernández-Suárez, D., Celorio, M., Lanciego, J.L., Franco, R., Aymerich, M.S., 2012. Loss of parvalbumin-positive neurons from the globus pallidus in animal models of Parkinson disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 71, 973–982. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3182717cba>
- Fieblinger, T., Zanetti, L., Sebastianutto, I., Breger, L.S., Quintino, L., Lockowandt, M., Lundberg, C., Cenci, M.A., 2018. Striatonigral neurons divide into two distinct morphological-physiological phenotypes after chronic L-DOPA treatment in parkinsonian rats. *Sci Rep* 8, 10068. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28273-5>
- Filion, M., Tremblay, L., 1991. Abnormal spontaneous activity of globus pallidus neurons in monkeys with MPTP-induced parkinsonism. *Brain Research* 547, 140–144. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)90585-J](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)90585-J)
- Flaherty, A., Graybiel, A., 1994. Input-output organization of the sensorimotor striatum in the squirrel monkey. *J. Neurosci.* 14, 599–610. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-02-00599.1994>
- Flandin, P., Kimura, S., Rubenstein, J.L.R., 2010. The Progenitor Zone of the Ventral Medial Ganglionic Eminence Requires Nkx2-1 to Generate Most of the Globus Pallidus But Few Neocortical Interneurons. *J. Neurosci.* 30, 2812–2823. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4228-09.2010>
- Fortin, M., Parent, A., 1994. Calretinin labels a specific neuronal subpopulation in primate globus pallidus. *Neuroreport* 5, 2097–2100. <https://doi.org/10.1097/00001756-199410270-00027>
- Friedman, A., Homma, D., Gibb, L.G., Amemori, K., Rubin, S.J., Hood, A.S., Riad, M.H., Graybiel, A.M., 2015. A Corticostriatal Path Targeting Striosomes Controls Decision-Making under Conflict. *Cell* 161, 1320–1333. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.04.049>
- Fujiyama, F., Nakano, T., Matsuda, W., Furuta, T., Udagawa, J., Kaneko, T., 2016. A single-neuron tracing study of arkypallidal and prototypic neurons in healthy

- rats. *Brain Struct Funct* 221, 4733–4740. <https://doi.org/10.1007/s00429-015-1152-2>
- Fujiyama, F., Sohn, J., Nakano, T., Furuta, T., Nakamura, K.C., Matsuda, W., Kaneko, T., 2011. Exclusive and common targets of neostriatofugal projections of rat striosome neurons: a single neuron-tracing study using a viral vector: Single-labeling of striosome neurons. *European Journal of Neuroscience* 33, 668–677. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07564.x>
- Gagnon, D., Eid, L., Coudé, D., Whissel, C., Di Paolo, T., Parent, A., Parent, M., 2018. Evidence for Sprouting of Dopamine and Serotonin Axons in the Pallidum of Parkinsonian Monkeys. *Front Neuroanat* 12, 38. <https://doi.org/10.3389/fnana.2018.00038>
- Galaj, E., Barrera, E.D., Lynch, O.L., Diodati, R., Thomas, A., Schneider, P., Lenhard, H., Vashisht, A., Ranaldi, R., 2022. Muscarinic and NMDA Receptors in the Substantia Nigra Play a Role in Reward-Related Learning. *Int J Neuropsychopharmacol* 26, 80–90. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyac076>
- Galvan, A., Hu, X., Smith, Y., Wichmann, T., 2011. Localization and pharmacological modulation of GABA-B receptors in the globus pallidus of parkinsonian monkeys. *Exp Neurol* 229, 429–439. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2011.03.010>
- Galvan, A., Villalba, R.M., West, S.M., Maidment, N.T., Ackerson, L.C., Smith, Y., Wichmann, T., 2005. GABAergic Modulation of the Activity of Globus Pallidus Neurons in Primates: In Vivo Analysis of the Functions of GABA Receptors and GABA Transporters. *Journal of Neurophysiology* 94, 990–1000. <https://doi.org/10.1152/jn.00068.2005>
- Garma, L.D., Harder, L., Barba-Reyes, J.M., Marco Salas, S., Díez-Salguero, M., Nilsson, M., Serrano-Pozo, A., Hyman, B.T., Muñoz-Manchado, A.B., 2024. Interneuron diversity in the human dorsal striatum. *Nat Commun* 15, 6164. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-50414-w>
- Gelman, D., Griveau, A., Dehorter, N., Teissier, A., Varela, C., Pla, R., Pierani, A., Marín, O., 2011. A Wide Diversity of Cortical GABAergic Interneurons Derives from the Embryonic Preoptic Area. *J. Neurosci.* 31, 16570–16580. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4068-11.2011>
- Gertler, T.S., Chan, C.S., Surmeier, D.J., 2008. Dichotomous Anatomical Properties of Adult Striatal Medium Spiny Neurons. *J Neurosci* 28, 10814–10824. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2660-08.2008>
- Giossi, C., Bahuguna, J., Rubin, J.E., Verstynen, T., Vich, C., 2024a. Arky pallidal neurons in the external globus pallidus can mediate inhibitory control by altering competition in the striatum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 121, e2408505121. <https://doi.org/10.1073/pnas.2408505121>
- Giossi, C., Rubin, J.E., Gittis, A., Verstynen, T., Vich, C., 2024b. Rethinking the external globus pallidus and information flow in cortico-basal ganglia-thalamic circuits. *European Journal of Neuroscience* 60, 6129–6144. <https://doi.org/10.1111/ejn.16348>
- Giovanniello, J., Yu, K., Furlan, A., Nachtrab, G.T., Sharma, R., Chen, X., Li, B., 2020. A Central Amygdala-Globus Pallidus Circuit Conveys Unconditioned

- Stimulus-Related Information and Controls Fear Learning. *J Neurosci* 40, 9043–9054. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2090-20.2020>
- Girasole, A.E., Lum, M.Y., Nathaniel, D., Bair-Marshall, C.J., Guenther, C.J., Luo, L., Kreitzer, A.C., Nelson, A.B., 2018. A Subpopulation of Striatal Neurons Mediates Levodopa-Induced Dyskinesia. *Neuron* 97, 787-795.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.01.017>
- Gittis, A.H., Nelson, A.B., Thwin, M.T., Palop, J.J., Kreitzer, A.C., 2010. Distinct Roles of GABAergic Interneurons in the Regulation of Striatal Output Pathways. *J Neurosci* 30, 2223–2234. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4870-09.2010>
- Glajch, K.E., Kelper, D.A., Hegeman, D.J., Cui, Q., Xenias, H.S., Augustine, E.C., Hernández, V.M., Verma, N., Huang, T.Y., Luo, M., Justice, N.J., Chan, C.S., 2016. Npas1⁺ Pallidal Neurons Target Striatal Projection Neurons. *J. Neurosci.* 36, 5472–5488. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1720-15.2016>
- Glinka, Y.Y., Youdim, M.B.H., 1995. Inhibition of mitochondrial complexes I and IV by 6-hydroxydopamine. *European Journal of Pharmacology: Environmental Toxicology and Pharmacology* 292, 329–332. [https://doi.org/10.1016/0926-6917\(95\)90040-3](https://doi.org/10.1016/0926-6917(95)90040-3)
- Goldberg, J.A., Rokni, U., Boraud, T., Vaadia, E., Bergman, H., 2004. Spike Synchronization in the Cortex-Basal Ganglia Networks of Parkinsonian Primates Reflects Global Dynamics of the Local Field Potentials. *J. Neurosci.* 24, 6003–6010. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4848-03.2004>
- Goldstein, J.M., Barnett, A., Malick, J.B., 1975. The evaluation of anti-parkinson drugs on reserpine-induced rigidity in rats. *European Journal of Pharmacology* 33, 183–188. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(75\)90154-5](https://doi.org/10.1016/0014-2999(75)90154-5)
- Gos, A., Steiner, J., Trübner, K., Ungewickell, J., Mawrin, C., Karnecki, K., Kaliszan, M., Gos, T., 2024. Inverse pattern of GABAergic system impairment in the external versus internal globus pallidus in male heroin addicts. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 274, 445–452. <https://doi.org/10.1007/s00406-023-01656-0>
- Goshima, Y., Kubo, T., Misu, Y., 1988. Transmitter-Like Release of Endogenous 3,4-Dihydroxyphenylalanine from Rat Striatal Slices. *Journal of Neurochemistry* 50, 1725–1730. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1988.tb02470.x>
- Graybiel, A.M., Ragsdale, C.W., 1978. Histochemically distinct compartments in the striatum of human, monkeys, and cat demonstrated by acetylthiocholinesterase staining. *Proc Natl Acad Sci U S A* 75, 5723–5726.
- Greenamyre, J.T., Cannon, J.R., Drolet, R., Mastroberardino, P.-G., 2010. Lessons from the rotenone model of Parkinson’s disease. *Trends Pharmacol Sci* 31, 141–142. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.12.006>
- Griffiths, K.R., Lagopoulos, J., Hermens, D.F., Hickie, I.B., Balleine, B.W., 2015. Right external globus pallidus changes are associated with altered causal awareness in youth with depression. *Transl Psychiatry* 5, e653. <https://doi.org/10.1038/tp.2015.148>
- Gruber, A.J., McDonald, R.J., 2012. Context, emotion, and the strategic pursuit of goals: interactions among multiple brain systems controlling motivated

- behavior. *Front. Behav. Neurosci.* 6. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2012.00050>
- Guatteo, E., Yee, A., McKearney, J., Cucchiaroni, M.L., Armogida, M., Berretta, N., Mercuri, N.B., Lipski, J., 2013. Dual effects of L-DOPA on nigral dopaminergic neurons. *Experimental Neurology* 247, 582–594. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2013.02.009>
- Guilhemsang, L., Mallet, N.P., 2024. Arkypallidal neurons in basal ganglia circuits: Unveiling novel pallidostriatal loops? *Current Opinion in Neurobiology* 84, 102814. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2023.102814>
- Guo, C., Machado, N.L., Zhan, S., Yang, X., Yang, W., Lu, J., 2016. Identification of Cholinergic Pallidocortical Neurons. *CNS Neurosci Ther* 22, 863–865. <https://doi.org/10.1111/cns.12602>
- Güttler, C., Altschüler, J., Tanev, K., Böckmann, S., Haumesser, J.K., Nikulin, V.V., Kühn, A.A., van Riesen, C., 2021. Levodopa-Induced Dyskinesia Are Mediated by Cortical Gamma Oscillations in Experimental Parkinsonism. *Movement Disorders* 36, 927–937. <https://doi.org/10.1002/mds.28403>
- Halje, P., Tamtè, M., Richter, U., Mohammed, M., Cenci, M.A., Petersson, P., 2012. Levodopa-induced dyskinesia is strongly associated with resonant cortical oscillations. *J Neurosci* 32, 16541–16551. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3047-12.2012>
- Hardman, C.D., Halliday, G.M., 1999. The external globus pallidus in patients with Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy. *Mov Disord* 14, 626–633. [https://doi.org/10.1002/1531-8257\(199907\)14:4<626::aid-mds1012>3.0.co;2-u](https://doi.org/10.1002/1531-8257(199907)14:4<626::aid-mds1012>3.0.co;2-u)
- Hariz, M., Blomstedt, P., 2022. Deep brain stimulation for Parkinson's disease. *Journal of Internal Medicine* 292, 764–778. <https://doi.org/10.1111/joim.13541>
- Hauber, W., Lutz, S., 1999. Dopamine D1 or D2 receptor blockade in the globus pallidus produces akinesia in the rat. *Behavioural Brain Research* 106, 143–150. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(99\)00102-3](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(99)00102-3)
- Hawkes, C.H., Del Tredici, K., Braak, H., 2007. Parkinson's disease: a dual-hit hypothesis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 33, 599–614. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2007.00874.x>
- Hedges, V., 2022. Neurotransmitters: Catecholamines (Dopamine, Norepinephrine, Epinephrine).
- Hippenmeyer, S., Vrieseling, E., Sigrist, M., Portmann, T., Laengle, C., Ladle, D.R., Arber, S., 2005. A Developmental Switch in the Response of DRG Neurons to ETS Transcription Factor Signaling. *PLoS Biol* 3, e159. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030159>
- Hoover, B.R., Marshall, J.F., 2004. Molecular, chemical, and anatomical characterization of globus pallidus dopamine D2 receptor mRNA-containing neurons. *Synapse* 52, 100–113. <https://doi.org/10.1002/syn.20007>
- Hoover, B.R., Marshall, J.F., 2002. Further characterization of preproenkephalin mRNA-containing cells in the rodent globus pallidus. *Neuroscience* 111, 111–125. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(01\)00565-6](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(01)00565-6)

- Horsager, J., Borghammer, P., 2024. Brain-first vs. body-first Parkinson's disease: An update on recent evidence. *Parkinsonism & Related Disorders* 122. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2024.106101>
- Hunt, A.J., Dasgupta, R., Rajamanickam, S., Jiang, Z., Beierlein, M., Chan, C.S., Justice, N.J., 2018. Paraventricular hypothalamic and amygdalar CRF neurons synapse in the external globus pallidus. *Brain Struct Funct* 223, 2685–2698. <https://doi.org/10.1007/s00429-018-1652-y>
- Hutchison, W.D., Lozano, A.M., Davis, K.D., Saint-Cyr, J.A., Lang, A.E., Dostrovsky, J.O., 1994. Differential neuronal activity in segments of globus pallidus in Parkinson's disease patients. *Neuroreport* 5, 1533–1537. <https://doi.org/10.1097/00001756-199407000-00031>
- Inden, M., Kitamura, Y., Takeuchi, H., Yanagida, T., Takata, K., Kobayashi, Y., Taniguchi, T., Yoshimoto, K., Kaneko, M., Okuma, Y., Taira, T., Ariga, H., Shimohama, S., 2007. Neurodegeneration of mouse nigrostriatal dopaminergic system induced by repeated oral administration of rotenone is prevented by 4-phenylbutyrate, a chemical chaperone. *J Neurochem* 101, 1491–1504. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04440.x>
- Ip, C.W., Klaus, L.-C., Karikari, A.A., Visanji, N.P., Brotchie, J.M., Lang, A.E., Volkman, J., Koprach, J.B., 2017. AAV1/2-induced overexpression of A53T- α -synuclein in the substantia nigra results in degeneration of the nigrostriatal system with Lewy-like pathology and motor impairment: a new mouse model for Parkinson's disease. *Acta Neuropathologica Communications* 5, 11. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0416-x>
- Izco, M., Blesa, J., Verona, G., Cooper, J.M., Alvarez-Erviti, L., 2021. Glial activation precedes alpha-synuclein pathology in a mouse model of Parkinson's disease. *Neuroscience Research* 170, 330–340. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2020.11.004>
- Jackson, D.M., Westlind-Danielsson, A., 1994. Dopamine receptors: Molecular biology, biochemistry and behavioural aspects. *Pharmacology & Therapeutics* 64, 291–370. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(94\)90041-8](https://doi.org/10.1016/0163-7258(94)90041-8)
- Jackson-Lewis, V., Przedborski, S., 2007. Protocol for the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Nat Protoc* 2, 141–151. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.342>
- Jan, C., François, C., Tandé, D., Yelnik, J., Tremblay, L., Agid, Y., Hirsch, E., 2000. Dopaminergic innervation of the pallidum in the normal state, in MPTP-treated monkeys and in parkinsonian patients. *Eur J of Neuroscience* 12, 4525–4535. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2000.01351.x>
- Javed, N., Cascella, M., 2025. Neuroanatomy, Globus Pallidus, in: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Johansson, Y., Ketzef, M., 2023. Sensory processing in external globus pallidus neurons. *Cell Rep* 42, 111952. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111952>
- Johansson, Y., Silberberg, G., 2020. The Functional Organization of Cortical and Thalamic Inputs onto Five Types of Striatal Neurons Is Determined by Source and Target Cell Identities. *Cell Rep* 30, 1178-1194.e3. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.12.095>

- Jones, J.A., Higgs, M.H., Olivares, E., Peña, J., Wilson, C.J., 2023. Spontaneous Activity of the Local GABAergic Synaptic Network Causes Irregular Neuronal Firing in the External Globus Pallidus. *J Neurosci* 43, 1281–1297. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1969-22.2023>
- Kalia, L.V., Lang, A.E., 2015. Parkinson's disease. *The Lancet* 386, 896–912. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61393-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393-3)
- Kang, Shinwoo, Hong, S.-I., Kang, Seungwoo, Song, M., Yang, M.A., Essa, H., Baker, M., Lee, J., Bruce, R.A., Lee, S.W., Choi, D.-S., 2023. Astrocyte activities in the external globus pallidus regulate action-selection strategies in reward-seeking behaviors. *Sci Adv* 9, eadh9239. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adh9239>
- Kang, Shinwoo, Yang, M.A., Bennett, A., Kang, Seungwoo, Lee, S.W., Choi, D.-S., 2025. Pallidal prototypic neuron and astrocyte activities regulate flexible reward-seeking behaviors. *bioRxiv* 2025.02.10.637554. <https://doi.org/10.1101/2025.02.10.637554>
- Karube, F., Takahashi, S., Kobayashi, K., Fujiyama, F., 2019. Motor cortex can directly drive the globus pallidus neurons in a projection neuron type-dependent manner in the rat. *eLife* 8, e49511. <https://doi.org/10.7554/eLife.49511>
- Katabi, S., Adler, A., Deffains, M., Bergman, H., 2023. Dichotomous activity and function of neurons with low- and high-frequency discharge in the external globus pallidus of non-human primates. *Cell Rep* 42, 111898. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111898>
- Kawaguchi, Y., 1993. Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *J Neurosci* 13, 4908–4923. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.13-11-04908.1993>
- Kemp, J.M., Powell, T.P., 1971. The structure of the caudate nucleus of the cat: light and electron microscopy. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 262, 383–401. <https://doi.org/10.1098/rstb.1971.0102>
- Ketzef, M., Silberberg, G., 2021. Differential Synaptic Input to External Globus Pallidus Neuronal Subpopulations In Vivo. *Neuron* 109, 516-529.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.11.006>
- Kitai, S.T., Kocsis, J.D., Wood, J., 1976. Origin and characteristics of the cortico-caudate afferents: an anatomical and electrophysiological study. *Brain Res* 118, 137–141. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(76\)90848-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(76)90848-9)
- Kobayashi, C., Okamoto, K., Mochizuki, Y., Urakubo, H., Funayama, K., Ishikawa, T., Kashima, T., Ouchi, A., Szymanska, A.F., Ishii, S., Ikegaya, Y., 2019. GABAergic inhibition reduces the impact of synaptic excitation on somatic excitation. *Neurosci Res* 146, 22–35. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2018.09.014>
- Koos, T., Tepper, J.M., Wilson, C.J., 2004. Comparison of IPSCs Evoked by Spiny and Fast-Spiking Neurons in the Neostriatum. *J Neurosci* 24, 7916–7922. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2163-04.2004>
- Kovaleski, R.F., Callahan, J.W., Chazalon, M., Wokosin, D.L., Baufreton, J., Bevan, M.D., 2020. Dysregulation of external globus pallidus-subthalamic nucleus

- network dynamics in parkinsonian mice during cortical slow-wave activity and activation. *J Physiol* 598, 1897–1927. <https://doi.org/10.1113/JP279232>
- Kubota, H., Zhou, X., Zhang, X., Watanabe, H., Nagai, T., 2024. Pramipexole Hyperactivates the External Globus Pallidus and Impairs Decision-Making in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci* 25, 8849. <https://doi.org/10.3390/ijms25168849>
- Kühn, A.A., Kupsch, A., Schneider, G., Brown, P., 2006. Reduction in subthalamic 8–35 Hz oscillatory activity correlates with clinical improvement in Parkinson's disease. *Eur J of Neuroscience* 23, 1956–1960. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04717.x>
- Kumar, R., Agarwal, A.K., Seth, P.K., 1995. Free Radical-Generated Neurotoxicity of 6-Hydroxydopamine. *Journal of Neurochemistry* 64, 1703–1707. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1995.64041703.x>
- Kuoppamaki, M., Rothwell, J., Brown, R., Quinn, N., Bhatia, K., Jahanshahi, M., 2005. Parkinsonism following bilateral lesions of the globus pallidus: performance on a variety of motor tasks shows similarities with Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76, 482–490. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2003.020800>
- Labouesse, M.A., Torres-Herraez, A., Chohan, M.O., Villarin, J.M., Greenwald, J., Sun, X., Zahran, M., Tang, A., Lam, S., Veenstra-VanderWeele, J., Lacefield, C.O., Bonaventura, J., Michaelides, M., Chan, C.S., Yizhar, O., Kellendonk, C., 2023. A non-canonical striatopallidal Go pathway that supports motor control. *Nat Commun* 14, 6712. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-42288-1>
- Lal, R., singh, A., watts, S., Chopra, K., 2024. Experimental models of Parkinson's disease: Challenges and Opportunities. *European Journal of Pharmacology* 980, 176819. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2024.176819>
- Lanciego, J.L., Luquin, N., Obeso, J.A., 2012. Functional Neuroanatomy of the Basal Ganglia. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2, a009621. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009621>
- Lange, H., Thörner, G., Hopf, A., Schröder, K.F., 1976. Morphometric studies of the neuropathological changes in choreatic diseases. *Journal of the Neurological Sciences* 28, 401–425. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(76\)90114-3](https://doi.org/10.1016/0022-510X(76)90114-3)
- Langston, J.W., Ballard, P., Tetrud, J.W., Irwin, I., 1983. Chronic Parkinsonism in Humans Due to a Product of Meperidine-Analog Synthesis. *Science* 219, 979–980. <https://doi.org/10.1126/science.6823561>
- Lazaridis, I., Crittenden, J.R., Ahn, G., Hirokane, K., Yoshida, T., Wickersham, I.R., Mahar, A., Skara, V., Loftus, J.H., Parvataneni, K., Meletis, K., Ting, J.T., Hueske, E., Matsushima, A., Graybiel, A.M., 2024. Striosomes Target Nigral Dopamine-Containing Neurons via Direct-D1 and Indirect-D2 Pathways Paralleling Classic Direct-Indirect Basal Ganglia Systems. *bioRxiv* 2024.06.01.596922. <https://doi.org/10.1101/2024.06.01.596922>
- Lebouc, M., 2025. mlebouc/ABFileAnalyzer.
- Lee, Y., Han, N.-E., Kim, W., Kim, J.G., Lee, I.B., Choi, S.J., Chun, H., Seo, M., Lee, C.J., Koh, H.-Y., Kim, J.-H., Baik, J.-H., Bear, M.F., Choi, S.-Y., Yoon, B.-J., 2020. Dynamic Changes in the Bridging Collaterals of the Basal Ganglia

- Circuitry Control Stress-Related Behaviors in Mice. *Mol Cells* 43, 360–372. <https://doi.org/10.14348/molcells.2019.0279>
- Lemberger, T., Parlato, R., Dassel, D., Westphal, M., Casanova, E., Turiault, M., Tronche, F., Schiffmann, S.N., Schütz, G., 2007. Expression of Cre recombinase in dopaminergic neurons. *BMC Neurosci* 8, 4. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-8-4>
- Lilascharoen, V., Wang, E.H.-J., Do, N., Pate, S.C., Tran, A.N., Yoon, C.D., Choi, J.-H., Wang, X.-Y., Pribram, H., Park, Y.-G., Chung, K., Lim, B.K., 2021. Divergent pallidal pathways underlying distinct Parkinsonian behavioral deficits. *Nat Neurosci* 24, 504–515. <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00810-y>
- Liljeholm, M., O'Doherty, J.P., 2012. Contributions of the striatum to learning, motivation, and performance: an associative account. *Trends in Cognitive Sciences* 16, 467–475. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2012.07.007>
- Limousin, P., Pollak, P., Benazzouz, A., Hoffmann, D., Le Bas, J.-F., Perret, J.E., Benabid, A.-L., Broussolle, E., 1995. Effect on parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation. *The Lancet* 345, 91–95. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(95\)90062-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(95)90062-4)
- Liu, J., Shelkar, G.P., Sarode, L.P., Gawande, D.Y., Zhao, F., Clausen, R.P., Ugale, R.R., David, S.M., 2021. Facilitation of GluN2C-containing NMDA receptors in the external globus pallidus increases firing of fast spiking neurons and improves motor function in a hemiparkinsonian mouse model. *Neurobiology of Disease* 150, 105254. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2021.105254>
- Liu, W., Zhang, R., Feng, H., Luo, J., Zhu, H., 2023. Increased expression of Nav1.6 of reactive astrocytes in the globus pallidus is closely associated with motor deficits in a model of Parkinson's disease. *Glia* 71, 2850–2865. <https://doi.org/10.1002/glia.24455>
- Lopez, V.M., Decatur, C.L., Stamer, W.D., Lynch, R.M., McKay, B.S., 2008. L-DOPA Is an Endogenous Ligand for OA1. *PLoS Biol* 6, e236. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060236>
- Lotharius, J., Dugan, L.L., O'Malley, K.L., 1999. Distinct Mechanisms Underlie Neurotoxin-Mediated Cell Death in Cultured Dopaminergic Neurons. *J Neurosci* 19, 1284–1293. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-04-01284.1999>
- Lundblad, M., Andersson, M., Winkler, C., Kirik, D., Wierup, N., Cenci, M.A., 2002. Pharmacological validation of behavioural measures of akinesia and dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci* 15, 120–132. <https://doi.org/10.1046/j.0953-816x.2001.01843.x>
- Ma, M., Hu, J., Hao, Y., Zhang, K., Zhang, X., Zhu, M., Zhou, Z., Yuan, X., Yuan, F., 2025. Whole Brain Monosynaptic Input of Distinct Neurons in the Globus Pallidus Externa. *CNS Neuroscience & Therapeutics* 31, e70459. <https://doi.org/10.1111/cns.70459>
- 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, 313–330. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(01\)00281-0](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(01)00281-0)

- Mallet, N., Micklem, B.R., Henny, P., Brown, M.T., Williams, C., Bolam, J.P., Nakamura, K.C., Magill, P.J., 2012. Dichotomous organization of the external globus pallidus. *Neuron* 74, 1075–1086. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.04.027>
- Mallet, N., Pogosyan, A., Márton, L.F., Bolam, J.P., Brown, P., Magill, P.J., 2008. Parkinsonian Beta Oscillations in the External Globus Pallidus and Their Relationship with Subthalamic Nucleus Activity. *J. Neurosci.* 28, 14245–14258. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4199-08.2008>
- Mallet, N., Schmidt, R., Leventhal, D., Chen, F., Amer, N., Boraud, T., Berke, J.D., 2016. Arky pallidal Cells Send a Stop Signal to Striatum. *Neuron* 89, 308–316. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.12.017>
- Manning-Bog, A.B., McCormack, A.L., Li, J., Uversky, V.N., Fink, A.L., Di Monte, D.A., 2002. The herbicide paraquat causes up-regulation and aggregation of alpha-synuclein in mice: paraquat and alpha-synuclein. *J Biol Chem* 277, 1641–1644. <https://doi.org/10.1074/jbc.C100560200>
- Marin, C., Bonastre, M., Fuentes, M., Mullol, J., 2020. Lack of correlation between dyskinesia and pallidal serotonin transporter expression-induced by L-Dopa and Pramipexole in hemiparkinsonian rats. *Pharmacol Biochem Behav* 197, 173012. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2020.173012>
- Marshall, J.F., Henry, B.L., Billings, L.M., Hoover, B.R., 2001. The role of the globus pallidus D2 subfamily of dopamine receptors in pallidal immediate early gene expression. *Neuroscience* 105, 365–378. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(01\)00180-4](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(01)00180-4)
- Martig, A.K., Mizumori, S.J.Y., 2011. Ventral tegmental area and substantia nigra neural correlates of spatial learning. *Learn. Mem.* 18, 260–271. <https://doi.org/10.1101/lm.1895211>
- Mastro, K.J., Bouchard, R.S., Holt, H.A.K., Gittis, A.H., 2014. Transgenic Mouse Lines Subdivide External Segment of the Globus Pallidus (GPe) Neurons and Reveal Distinct GPe Output Pathways. *J Neurosci* 34, 2087–2099. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4646-13.2014>
- Mastro, K.J., Zitelli, K.T., Willard, A.M., Leblanc, K.H., Kravitz, A.V., Gittis, A.H., 2017. Cell-Specific Pallidal Intervention Induces Long-Lasting Motor Recovery in Dopamine Depleted Mice. *Nat Neurosci* 20, 815–823. <https://doi.org/10.1038/nn.4559>
- Masukawa, D., Kitamura, S., Tajika, R., Uchimura, H., Arai, M., Takada, Y., Arisawa, T., Otaki, M., Kanai, K., Kobayashi, K., Miyazaki, T., Goshima, Y., 2023. Coupling between GPR143 and dopamine D2 receptor is required for selective potentiation of dopamine D2 receptor function by L-3,4-dihydroxyphenylalanine in the dorsal striatum. *Journal of Neurochemistry* 165, 177–195. <https://doi.org/10.1111/jnc.15789>
- McGregor, M.M., McKinsey, G.L., Girasole, A.E., Bair-Marshall, C.J., Rubenstein, J.L.R., Nelson, A.B., 2019. Functionally Distinct Connectivity of Developmentally Targeted Striosome Neurons. *Cell Rep* 29, 1419-1428.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.09.076>
- McGregor, M.M., Nelson, A.B., 2019. Circuit Mechanisms of Parkinson's Disease. *Neuron* 101, 1042–1056. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.03.004>

- Mendez, J.S., Finn, B.W., 1975. Use of 6-hydroxydopamine to create lesions in catecholamine neurons in rats. *Journal of Neurosurgery* 42, 166–173. <https://doi.org/10.3171/jns.1975.42.2.0166>
- Menšíková, K., Matěj, R., Colosimo, C., Rosales, R., Tučková, L., Ehrmann, J., Hraboš, D., Kolaříková, K., Vodička, R., Vrtěl, R., Procházka, M., Nevrlý, M., Kaiserová, M., Kurčová, S., Otruba, P., Kaňovský, P., 2022. Lewy body disease or diseases with Lewy bodies? *npj Parkinsons Dis.* 8, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41531-021-00273-9>
- Meszaros, J., Cheung, T., Erler, M.M., Kang, U.J., Sames, D., Kellendonk, C., Sulzer, D., 2018. Evoked transients of pH-sensitive fluorescent false neurotransmitter reveal dopamine hot spots in the globus pallidus. *eLife* 7, e42383. <https://doi.org/10.7554/eLife.42383>
- Mink, J.W., 1996. The basal ganglia: focused selection and inhibition of competing motor programs. *Progress in Neurobiology* 50, 381–425. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(96\)00042-1](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(96)00042-1)
- Miyamoto, Y., Katayama, S., Shigematsu, N., Nishi, A., Fukuda, T., 2018. Striosome-based map of the mouse striatum that is conformable to both cortical afferent topography and uneven distributions of dopamine D1 and D2 receptor-expressing cells. *Brain Struct Funct* 223, 4275–4291. <https://doi.org/10.1007/s00429-018-1749-3>
- Morgante, L., Morgante, F., Moro, E., Epifanio, A., Girlanda, P., Ragonese, P., Antonini, A., Barone, P., Bonuccelli, U., Contarino, M.F., Capus, L., Ceravolo, M.G., Marconi, R., Ceravolo, R., D'Amelio, M., Savettieri, G., 2007. How many parkinsonian patients are suitable candidates for deep brain stimulation of subthalamic nucleus? Results of a questionnaire. *Parkinsonism & Related Disorders* 13, 528–531. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2006.12.013>
- Muñoz-Castañeda, R., Zingg, B., Matho, K.S., Chen, X., Wang, Q., Foster, N.N., Li, A., Narasimhan, A., Hirokawa, K.E., Huo, B., Bannerjee, S., Korobkova, L., Park, C.S., Park, Y.-G., Bienkowski, M.S., Chon, U., Wheeler, D.W., Li, Xiangning, Wang, Yun, Naeemi, M., Xie, P., Liu, L., Kelly, K., An, X., Attili, S.M., Bowman, I., Bludova, A., Cetin, A., Ding, L., Drewes, R., D'Orazi, F., Elowsky, C., Fischer, S., Galbavy, W., Gao, L., Gillis, J., Groblewski, P.A., Gou, L., Hahn, J.D., Hatfield, J.T., Hintiryan, H., Huang, J.J., Kondo, H., Kuang, X., Lesnar, P., Li, Xu, Li, Y., Lin, M., Lo, D., Mizrachi, J., Mok, S., Nicovich, P.R., Palaniswamy, R., Palmer, J., Qi, X., Shen, E., Sun, Y.-C., Tao, H.W., Wakemen, W., Wang, Yimin, Yao, S., Yuan, J., Zhan, H., Zhu, M., Ng, L., Zhang, L.I., Lim, B.K., Hawrylycz, M., Gong, H., Gee, J.C., Kim, Y., Chung, K., Yang, X.W., Peng, H., Luo, Q., Mitra, P.P., Zador, A.M., Zeng, H., Ascoli, G.A., Josh Huang, Z., Osten, P., Harris, J.A., Dong, H.-W., 2021. Cellular anatomy of the mouse primary motor cortex. *Nature* 598, 159–166. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03970-w>
- Muñoz-Manchado, A.B., Bengtsson Gonzales, C., Zeisel, A., Munguba, H., Bekkouche, B., Skene, N.G., Lönnerberg, P., Ryge, J., Harris, K.D., Linnarsson, S., Hjerling-Leffler, J., 2018. Diversity of Interneurons in the Dorsal Striatum Revealed by Single-Cell RNA Sequencing and PatchSeq. *Cell Rep* 24, 2179–2190.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.07.053>

- Muñoz-Manchado, A.B., Foldi, C., Szydlowski, S., Sjulson, L., Farries, M., Wilson, C., Silberberg, G., Hjerling-Leffler, J., 2016. Novel Striatal GABAergic Interneuron Populations Labeled in the 5HT3a(EGFP) Mouse. *Cereb Cortex* 26, 96–105. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu179>
- Nakano, K., Kayahara, T., Tsutsumi, T., Ushiro, H., 2000. Neural circuits and functional organization of the striatum. *J Neurol* 247, V1–V15. <https://doi.org/10.1007/PL00007778>
- Nambu, A., 2004. A new dynamic model of the cortico-basal ganglia loop, in: *Progress in Brain Research*. Elsevier, pp. 461–466. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(03\)43043-4](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(03)43043-4)
- Nambu, A., Tachibana, Y., Chiken, S., 2015. Cause of parkinsonian symptoms: Firing rate, firing pattern or dynamic activity changes? *Basal Ganglia* 5, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.baga.2014.11.001>
- Nambu, A., Takada, M., Inase, M., Tokuno, H., 1996. Dual somatotopical representations in the primate subthalamic nucleus: evidence for ordered but reversed body-map transformations from the primary motor cortex and the supplementary motor area. *J Neurosci* 16, 2671–2683. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-08-02671.1996>
- Nambu, A., Tokuno, H., Hamada, I., Kita, H., Imanishi, M., Akazawa, T., Ikeuchi, Y., Hasegawa, N., 2000. Excitatory Cortical Inputs to Pallidal Neurons Via the Subthalamic Nucleus in the Monkey. *Journal of Neurophysiology* 84, 289–300. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.1.289>
- Nevalainen, N., af Bjerkén, S., Lundblad, M., Gerhardt, G.A., Strömberg, I., 2011. Dopamine release from serotonergic nerve fibers is reduced in L-DOPA-induced dyskinesia. *J Neurochem* 118, 12–23. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07292.x>
- Nicklas, W.J., Youngster, S.K., Kindt, M.V., Heikkila, R.E., 1987. IV. MPTP, MPP+ and mitochondrial function. *Life Sciences* 40, 721–729. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(87\)90299-2](https://doi.org/10.1016/0024-3205(87)90299-2)
- Nóbrega-Pereira, S., Gelman, D., Bartolini, G., Pla, R., Pierani, A., Marín, O., 2010. Origin and Molecular Specification of Globus Pallidus Neurons. *J. Neurosci.* 30, 2824–2834. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4023-09.2010>
- Noda, S., Sato, S., Fukuda, T., Tada, N., Uchiyama, Y., Tanaka, K., Hattori, N., 2020. Loss of Parkin contributes to mitochondrial turnover and dopaminergic neuronal loss in aged mice. *Neurobiology of Disease* 136, 104717. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104717>
- 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. *Ann Neurol* 72, 893–901. <https://doi.org/10.1002/ana.23687>
- Okamoto, S., Sohn, J., Tanaka, T., Takahashi, M., Ishida, Y., Yamauchi, K., Koike, M., Fujiyama, F., Hioki, H., 2020. Overlapping Projections of Neighboring Direct and Indirect Pathway Neostriatal Neurons to Globus Pallidus External Segment. *iScience* 23, 101409. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101409>

- Olanow, C.W., Obeso, J.A., Stocchi, F., 2006. Drug Insight: continuous dopaminergic stimulation in the treatment of Parkinson's disease. *Nat Rev Neurol* 2, 382–392. <https://doi.org/10.1038/ncpneuro0222>
- Pagano, G., Ferrara, N., Brooks, D.J., Pavese, N., 2016. Age at onset and Parkinson disease phenotype. *Neurology* 86, 1400–1407. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002461>
- Pamukcu, A., Cui, Q., Xenias, H.S., Berceau, B.L., Augustine, E.C., Fan, I., Chalasani, S., Hantman, A.W., Lerner, T.N., Boca, S.M., Chan, C.S., 2020. Parvalbumin+ and Npas1+ Pallidal Neurons Have Distinct Circuit Topology and Function. *J Neurosci* 40, 7855–7876. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0361-20.2020>
- Pandey, S., Srivannithapoom, P., 2017. Levodopa-induced Dyskinesia: Clinical Features, Pathophysiology, and Medical Management. *Annals of Indian Academy of Neurology* 20, 190. https://doi.org/10.4103/aian.AIAN_239_17
- Parent, M., Parent, A., 2005. Single-axon tracing and three-dimensional reconstruction of centre médian-parafascicular thalamic neurons in primates: Efferent Projections of Primate CM/Pf Complex. *J. Comp. Neurol.* 481, 127–144. <https://doi.org/10.1002/cne.20348>
- Parker, J.G., Marshall, J.D., Ahanonu, B., Wu, Y.-W., Kim, T.H., Grewe, B.F., Zhang, Y., Li, J.Z., Ding, J.B., Ehlers, M.D., Schnitzer, M.J., 2018. Diametric neural ensemble dynamics in parkinsonian and dyskinetic states. *Nature* 557, 177–182. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0090-6>
- Pavón, N., Martín, A.B., Mendialdua, A., Moratalla, R., 2006. ERK Phosphorylation and FosB Expression Are Associated with L-DOPA-Induced Dyskinesia in Hemiparkinsonian Mice. *Biological Psychiatry* 59, 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.05.044>
- Petryszyn S, Parent A, Parent M, 2018. The calretinin interneurons of the striatum: comparisons between rodents and primates under normal and pathological conditions. *J Neural Transm (Vienna)* 125, 279–290. <https://doi.org/10.1007/s00702-017-1687-x>
- Picconi, B., Centonze, D., Håkansson, K., Bernardi, G., Greengard, P., Fisone, G., Cenci, M.A., Calabresi, P., 2003. Loss of bidirectional striatal synaptic plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia. *Nat Neurosci* 6, 501–506. <https://doi.org/10.1038/nn1040>
- Plenz, D., Kital, S.T., 1999. A basal ganglia pacemaker formed by the subthalamic nucleus and external globus pallidus. *Nature* 400, 677–682. <https://doi.org/10.1038/23281>
- Pollak Dorocic, I., Fürth, D., Xuan, Y., Johansson, Y., Pozzi, L., Silberberg, G., Carlén, M., Meletis, K., 2014. A Whole-Brain Atlas of Inputs to Serotonergic Neurons of the Dorsal and Median Raphe Nuclei. *Neuron* 83, 663–678. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.07.002>
- Porrás, G., Li, Q., Bezard, E., 2012. Modeling Parkinson's Disease in Primates: The MPTP Model. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2, a009308. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009308>

- Prager, E.M., Plotkin, J.L., 2019. COMPARTMENTAL FUNCTION AND MODULATION OF THE STRIATUM. *J Neurosci Res* 97, 1503–1514. <https://doi.org/10.1002/jnr.24522>
- Rajput, A.H., Sitte, H.H., Rajput, A., Fenton, M.E., Pifl, C., Hornykiewicz, O., 2008. Globus pallidus dopamine and Parkinson motor subtypes: Clinical and brain biochemical correlation. *Neurology* 70, 1403–1410. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000285082.18969.3a>
- Raket, L.L., Oudin Åström, D., Norlin, J.M., Kellerborg, K., Martinez-Martin, P., Odin, P., 2022. Impact of age at onset on symptom profiles, treatment characteristics and health-related quality of life in Parkinson's disease. *Sci Rep* 12, 526. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04356-8>
- Ramsay, R.R., Singer, T.P., 1986. Energy-dependent uptake of N-methyl-4-phenylpyridinium, the neurotoxic metabolite of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, by mitochondria. *Journal of Biological Chemistry* 261, 7585–7587. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)57434-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)57434-8)
- Rangel-Barajas, C., Silva, I., García-Ramírez, M., Sánchez-Lemus, E., Floran, L., Aceves, J., Erij, D., Florán, B., 2008. 6-OHDA-induced hemiparkinsonism and chronic L-DOPA treatment increase dopamine D1-stimulated [3H]-GABA release and [3H]-cAMP production in substantia nigra pars reticulata of the rat. *Neuropharmacology* 55, 704–711. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.06.002>
- Rentsch, P., Stayte, S., Morris, G.P., Vissel, B., 2019. Time dependent degeneration of the nigrostriatal tract in mice with 6-OHDA lesioned medial forebrain bundle and the effect of activin A on L-Dopa induced dyskinesia. *BMC Neuroscience* 20, 5. <https://doi.org/10.1186/s12868-019-0487-7>
- Roberts, D.C.S., Zis, A.P., Fibiger, H.C., 1975. Ascending catecholamine pathways and amphetamine-induced locomotor activity: Importance of dopamine and apparent non-involvement of norepinephrine. *Brain Research* 93, 441–454. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(75\)90182-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(75)90182-1)
- Rocha Cabrero, F., Morrison, E.H., 2023. Lewy Bodies, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Rouso, D.L., Qiao, M., Kagan, R.D., Yamagata, M., Palmiter, R.D., Sanes, J.R., 2016. Two pairs of ON and OFF retinal ganglion cells are defined by intersectional patterns of transcription factor expression. *Cell Rep* 15, 1930–1944. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.04.069>
- Ryan, M.B., Bair-Marshall, C., Nelson, A.B., 2018. Aberrant Striatal Activity in Parkinsonism and Levodopa-Induced Dyskinesia. *Cell Reports* 23, 3438–3446.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.059>
- Sabatini, B.L., 2012. Novel recombinant adeno-associated viruses for Cre activated and inactivated transgene expression in neurons. *Frontiers in Neural Circuits*.
- Sadek, A.R., Magill, P.J., Bolam, J.P., 2007. A Single-Cell Analysis of Intrinsic Connectivity in the Rat Globus Pallidus. *J Neurosci* 27, 6352–6362. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0953-07.2007>
- Sagot, B., Li, L., Zhou, F.-M., 2018. Hyperactive Response of Direct Pathway Striatal Projection Neurons to L-dopa and D1 Agonism in Freely Moving Parkinsonian Mice. *Front. Neural Circuits* 12. <https://doi.org/10.3389/fncir.2018.00057>

- Salvatore, M.F., 2024. Dopamine Signaling in Substantia Nigra and Its Impact on Locomotor Function—Not a New Concept, but Neglected Reality. *Int J Mol Sci* 25, 1131. <https://doi.org/10.3390/ijms25021131>
- Santos, J.R., Cunha, J.A.S., Dierschnabel, A.L., Campêlo, C.L.C., Leão, A.H.F.F., Silva, A.F., Engelberth, R.C.G.J., Izídio, G.S., Cavalcante, J.S., Abílio, V.C., Ribeiro, A.M., Silva, R.H., 2013. Cognitive, motor and tyrosine hydroxylase temporal impairment in a model of parkinsonism induced by reserpine. *Behavioural Brain Research* 253, 68–77. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.06.031>
- Sato, F., Lavallée, P., Lévesque, M., Parent, A., 2000. Single-axon tracing study of neurons of the external segment of the globus pallidus in primate. *J Comp Neurol* 417, 17–31.
- Sato, Fumi, Parent, M., Lévesque, M., Parent, A., 2000. Axonal branching pattern of neurons of the subthalamic nucleus in primates. *J. Comp. Neurol.* 424, 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)
- Sauer, B., 1998. Inducible Gene Targeting in Mice Using the Cre/lox System.
- Sauer, H., Oertel, W.H., 1994. Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesions with 6-hydroxydopamine: A combined retrograde tracing and immunocytochemical study in the rat. *Neuroscience* 59, 401–415. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)90605-X](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)90605-X)
- Saunders, A., Huang, K.W., Sabatini, B.L., 2016. Globus Pallidus Externus Neurons Expressing parvalbumin Interconnect the Subthalamic Nucleus and Striatal Interneurons. *PLoS One* 11, e0149798. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149798>
- Saunders, A., Oldenburg, I.A., Berezovskii, V.K., Johnson, C.A., Kingery, N.D., Elliott, H.L., Xie, T., Gerfen, C.R., Sabatini, B.L., 2015. A direct GABAergic output from the basal ganglia to frontal cortex. *Nature* 521, 85–89. <https://doi.org/10.1038/nature14179>
- Scheperjans, F., Aho, V., Pereira, P.A.B., Koskinen, K., Paulin, L., Pekkonen, E., Haapaniemi, E., Kaakkola, S., Eerola-Rautio, J., Pohja, M., Kinnunen, E., Murros, K., Auvinen, P., 2015. Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Movement Disorders* 30, 350–358. <https://doi.org/10.1002/mds.26069>
- Senoh, S., Witkop, B., 1959. Non-enzymatic Conversions of Dopamine to Norepinephrine and Trihydroxyphenethylamines¹. *J. Am. Chem. Soc.* 81, 6222–6231. <https://doi.org/10.1021/ja01532a028>
- Sharott, A., Vinciati, F., Nakamura, K.C., Magill, P.J., 2017. A Population of Indirect Pathway Striatal Projection Neurons Is Selectively Entrained to Parkinsonian Beta Oscillations. *J Neurosci* 37, 9977–9998. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0658-17.2017>
- Shen, C., Shen, B., Liu, D., Han, L., Zou, K., Gan, L., Ren, J., Wu, B., Tang, Y., Zhao, J., Sun, Y., Liu, F., Yu, W., Yao, H., Wu, J., Wang, J., 2024. Bidirectional regulation of levodopa-induced dyskinesia by a specific neural ensemble in globus pallidus external segment. *Cell Rep Med* 5, 101566. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2024.101566>

- Simola, N., Morelli, M., Carta, A.R., 2007. The 6-Hydroxydopamine Model of Parkinson's Disease. *Neurotoxicity Research*.
- Sohal, V.S., Zhang, F., Yizhar, O., Deisseroth, K., 2014. Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance.
- Spillantini, M.G., Schmidt, M.L., Lee, V.M.-Y., Trojanowski, J.Q., Jakes, R., Goedert, M., 1997. α -Synuclein in Lewy bodies. *Nature* 388, 839–840. <https://doi.org/10.1038/42166>
- Spix, T.A., Nanivadekar, S., Toong, N., Kaplow, I.M., Isett, B.R., Goksen, Y., Pfenning, A.R., Gittis, A.H., 2021. Population-specific neuromodulation prolongs therapeutic benefits of deep brain stimulation. *Science* 374, 201–206. <https://doi.org/10.1126/science.abi7852>
- Starr, P.A., Rau, G.M., Davis, V., Marks, W.J., Ostrem, J.L., Simmons, D., Lindsey, N., Turner, R.S., 2005. Spontaneous Pallidal Neuronal Activity in Human Dystonia: Comparison With Parkinson's Disease and Normal Macaque. *Journal of Neurophysiology* 93, 3165–3176. <https://doi.org/10.1152/jn.00971.2004>
- Stephenson-Jones, M., Yu, K., Ahrens, S., Tucciarone, J.M., van Huijstee, A.N., Mejia, L.A., Penzo, M.A., Tai, L.-H., Wilbrecht, L., Li, B., 2016. A basal ganglia circuit for evaluating action outcomes. *Nature* 539, 289–293. <https://doi.org/10.1038/nature19845>
- Straub, C., Saulnier, J.L., Bègue, A., Feng, D.D., Huang, K.W., Sabatini, B.L., 2016. Principles of Synaptic Organization of GABAergic Interneurons in the Striatum. *Neuron* 92, 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.09.007>
- Sunkin, S.M., Ng, L., Lau, C., Dolbeare, T., Gilbert, T.L., Thompson, C.L., Hawrylycz, M., Dang, C., 2013. Allen Brain Atlas: an integrated spatio-temporal portal for exploring the central nervous system. *Nucleic Acids Res* 41, D996–D1008. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1042>
- Sutton, A.C., Yu, W., Calos, M.E., Smith, A.B., Ramirez-Zamora, A., Molho, E.S., Piliitsis, J.G., Brochie, J.M., Shin, D.S., 2013. Deep brain stimulation of the substantia nigra pars reticulata improves forelimb akinesia in the hemiparkinsonian rat. *Journal of Neurophysiology* 109, 363–374. <https://doi.org/10.1152/jn.00311.2012>
- Sztainberg, Y., Kuperman, Y., Justice, N., Chen, A., 2011. An Anxiolytic Role for CRF Receptor Type 1 in the Globus Pallidus. *J Neurosci* 31, 17416–17424. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3087-11.2011>
- Tajika, R., Masukawa, D., Arai, M., Nawa, H., Goshima, Y., 2024. Opposite regulation by L-DOPA receptor GPR143 of the long and short forms of the dopamine D2 receptors. *Journal of Pharmacological Sciences* 156, 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2024.07.009>
- Takahashi, N., Miner, L.L., Sora, I., Ujike, H., Revay, R.S., Kostic, V., Jackson-Lewis, V., Przedborski, S., Uhl, G.R., 1997. VMAT2 knockout mice: Heterozygotes display reduced amphetamine-conditioned reward, enhanced amphetamine locomotion, and enhanced MPTP toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94, 9938–9943. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.18.9938>

- Tenchov, R., Sasso, J.M., Zhou, Q.A., 2025. Evolving Landscape of Parkinson's Disease Research: Challenges and Perspectives. *ACS Omega* 10, 1864–1892. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c09114>
- Teymourian, H., Tehrani, F., Longardner, K., Mahato, K., Podhajny, T., Moon, J.-M., Kotagiri, Y.G., Sempionatto, J.R., Litvan, I., Wang, J., 2022. Closing the loop for patients with Parkinson disease: where are we? *Nat Rev Neurol* 18, 497–507. <https://doi.org/10.1038/s41582-022-00674-1>
- Twelves, D., Perkins, K.S.M., Counsell, C., 2003. Systematic review of incidence studies of Parkinson's disease. *Movement Disorders* 18, 19–31. <https://doi.org/10.1002/mds.10305>
- Ueda, H., Sato, K., Okumura, F., Inoue, A., Nakata, Y., Ozaki, N., Yue, J.L., Misu, Y., 1995. Supersensitization of neurochemical responses by L-DOPA and dopamine receptor agonists in the striatum of experimental Parkinson's disease model rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 49, 169–177. [https://doi.org/10.1016/0753-3322\(96\)82617-5](https://doi.org/10.1016/0753-3322(96)82617-5)
- Ungerstedt, U., 1968. 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *European Journal of Pharmacology* 5, 107–110. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(68\)90164-7](https://doi.org/10.1016/0014-2999(68)90164-7)
- Valjent, E., Bertran-Gonzalez, J., Hervé, D., Fisone, G., Girault, J.-A., 2009. Looking BAC at striatal signaling: cell-specific analysis in new transgenic mice. *Trends in Neurosciences* 32, 538–547. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2009.06.005>
- Valjent, E., Biever, A., Gangarossa, G., Puighermanal, E., 2019. Dopamine signaling in the striatum. *Adv Protein Chem Struct Biol* 116, 375–396. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.01.004>
- Vanwalleghem, G., Constantin, L., Scott, E.K., 2021. Calcium Imaging and the Curse of Negativity. *Front Neural Circuits* 14, 607391. <https://doi.org/10.3389/fncir.2020.607391>
- Villalobos, N., Almazán-Alvarado, S., Magdaleno-Madrugal, V.M., 2022. Elevation of GABA levels in the globus pallidus disinhibits the thalamic reticular nucleus and desynchronized cortical beta oscillations. *J Physiol Sci* 72, 17. <https://doi.org/10.1186/s12576-022-00843-3>
- Vitek, J.L., Hashimoto, T., Peoples, J., DeLong, M.R., Bakay, R.A.E., 2004. Acute stimulation in the external segment of the globus pallidus improves parkinsonian motor signs. *Mov Disord.* 19, 907–915. <https://doi.org/10.1002/mds.20137>
- Wichmann, T., Soares, J., 2006. Neuronal Firing Before and After Burst Discharges in the Monkey Basal Ganglia Is Predictably Patterned in the Normal State and Altered in Parkinsonism. *Journal of Neurophysiology* 95, 2120–2133. <https://doi.org/10.1152/jn.01013.2005>
- Willis, T., 1664. *Cerebri Anatome Cui Accessit Nervorum Descriptio et Usus*, Impensis Jo. Martyn&Ja. Allestry. ed.
- Wilson, C., Chang, H., Kitai, S., 1990. Firing patterns and synaptic potentials of identified giant aspiny interneurons in the rat neostriatum. *J Neurosci* 10, 508–519. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.10-02-00508.1990>
- Xiong, Y., Neifert, S., Karuppagounder, S.S., Liu, Q., Stankowski, J.N., Lee, B.D., Ko, H.S., Lee, Y., Grima, J.C., Mao, X., Jiang, H., Kang, S.-U., Swing, D.A.,

- Iacovitti, L., Tessarollo, L., Dawson, T.M., Dawson, V.L., 2018. Robust kinase- and age-dependent dopaminergic and norepinephrine neurodegeneration in LRRK2 G2019S transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115, 1635–1640. <https://doi.org/10.1073/pnas.1712648115>
- Yang, M.A., Kang, S., Hong, S.-I., Lee, J., Bormann, N.L., Lee, S.W., Choi, D.-S., 2025. Astrocytes in the External Globus Pallidus Selectively Represent Routine Formation During Repeated Reward-Seeking in Mice. *eNeuro* 12, ENEURO.0552-24.2025. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0552-24.2025>
- Yasukawa, T., Kita, T., Xue, Y., Kita, H., 2004. Rat intralaminar thalamic nuclei projections to the globus pallidus: A biotinylated dextran amine anterograde tracing study. *J of Comparative Neurology* 471, 153–167. <https://doi.org/10.1002/cne.20029>
- Yelnik, J., Damier, P., Bejjani, B.P., Francois, C., Gervais, D., Dormont, D., Arnulf, I., M Bonnet, A., Cornu, P., Pidoux, B., Agid, Y., 2000. Functional mapping of the human globus pallidus: contrasting effect of stimulation in the internal and external pallidum in Parkinson's disease. *Neuroscience* 101, 77–87. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(00\)00364-x](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(00)00364-x)
- Yuan, X.-S., Wang, L., Dong, H., Qu, W.-M., Yang, S.-R., Cherasse, Y., Lazarus, M., Schiffmann, S.N., d'Exaerde, A. de K., Li, R.-X., Huang, Z.-L., 2017. Striatal adenosine A2A receptor neurons control active-period sleep via parvalbumin neurons in external globus pallidus. *eLife* 6, e29055. <https://doi.org/10.7554/eLife.29055>
- Yue, M., Hinkle, K., Davies, P., Trushina, E., Fiesel, F., Christenson, T., Schroeder, A., Zhang, L., Bowles, E., Behrouz, B., Lincoln, S., Beevers, J., Milnerwood, A., Kurti, A., McLean, P.J., Fryer, J.D., Springer, W., Dickson, D., Farrer, M., Melrose, H., 2015. Progressive dopaminergic alterations and mitochondrial abnormalities in LRRK2 G2019S knock in mice. *Neurobiol Dis* 78, 172–195. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.02.031>
- Zeng, B.-Y., Irvani, M.M., Jackson, M.J., Rose, S., Parent, A., Jenner, P., 2010. Morphological changes in serotonergic neurites in the striatum and globus pallidus in levodopa primed MPTP treated common marmosets with dyskinesia. *Neurobiology of Disease* 40, 599–607. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.08.004>
- Zhang, J., Russo, G.S., Mewes, K., Rye, D.B., Vitek, J.L., 2006. Lesions in monkey globus pallidus externus exacerbate parkinsonian symptoms. *Experimental Neurology* 199, 446–453. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.01.006>
- Zheng, Z.S., Reggente, N., Monti, M.M., 2023. Arousal Regulation by the External Globus Pallidus: A New Node for the Mesocircuit Hypothesis. *Brain Sci* 13, 146. <https://doi.org/10.3390/brainsci13010146>