

CATHERINE BÉDARD

**INNERVATION DOPAMINERGIQUE ET  
SÉROTONINERGIQUE DU STRIATUM DANS LES  
MALADIES DE PARKINSON ET D'HUNTINGTON**

Mémoire présenté  
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval  
dans le cadre du programme de maîtrise en Neurobiologie  
pour l'obtention du grade de Maître ès Sciences (M.Sc.)

**FACULTÉ DE MÉDECINE  
UNIVERSITÉ LAVAL  
QUÉBEC**

2010

## RÉSUMÉ

Contrairement à la dopamine (DA), le rôle de la sérotonine (5-HT) dans les maladies neurodégénératives affectant les ganglions de la base est mal connu. L'objectif de cette étude était donc de caractériser l'état de l'innervation DA et 5-HT du striatum chez des patients ayant souffert de la maladie de Parkinson (MP) ou de la maladie d'Huntington (MH) en comparaison avec des individus contrôles appariés pour l'âge. Des anticorps contre la tyrosine hydroxylase (TH) et le transporteur de la sérotonine (SERT) ont été utilisés comme marqueurs des profils axonaux DA et 5-HT, respectivement. La densité et les patrons de l'innervation DA et 5-HT ont été déterminés en examinant des sections coronales du striatum afin de détecter des variations dans la densité optique. Cette approche semi-quantitative a été validée par des estimations stéréologiques de la densité des varicosités axonales marquées. Une diminution significative de l'intensité du marquage TH accompagnée d'une baisse dans la densité des varicosités axonales TH+ a été notée à travers tout le striatum des patients atteints de MP et de MH. À l'opposé, l'intensité du marquage SERT et la densité des varicosités axonales SERT+ étaient augmentés dans le striatum des patients souffrant de MP et de MH. Ces résultats indiquent que la voie dopaminergique nigrostriée est significativement altérée dans la MH, comme dans la MP. Cependant, l'altération présente dans la MH pourrait être secondaire à la perte massive des neurones épineux de taille moyenne, lesquels sont les cibles principales des axones DA. L'augmentation de l'innervation 5-HT striatale observée dans la MP pourrait être due à un mécanisme neuronal compensant pour la dénervation DA. Dans la MH, l'atrophie striatale prononcée pourrait expliquer l'augmentation de la densité de l'innervation 5-HT striatale remarquée dans cette maladie. Les résultats de notre étude suggèrent l'existence d'une interaction complexe entre les systèmes DA et 5-HT au niveau striatal pour assurer un contrôle fiable et adéquat du comportement moteur.

## ABSTRACT

In contrast to our vast knowledge of the dopamine (DA) system, much less is known about the involvement of serotonin (5-HT) in neurodegenerative diseases affecting the basal ganglia. Therefore, we designed a study that aimed at characterizing the status of the DA and 5-HT systems that innervate the striatum in patients deceased with Parkinson's (PD) or Huntington's disease (HD), compared to age-matched controls. Antibodies against tyrosine hydroxylase (TH) and 5-HT transporter (SERT) were used as markers of DA and 5-HT axonal profiles, respectively. The density and pattern of TH and SERT immunoreactive axons were determined by scanning coronal sections of the striatum at pre-commissural, commissural and post-commissural levels to detect optical density variations. This semi-quantitative approach was validated and complemented by direct stereological estimates of the density of labeled axon varicosities. A significant diminution of TH immunoreactivity accompanied by a decrease in the density of TH+ terminals occurred throughout the entire extent of the striatum in both PD and HD patients. In contrast, the intensity of SERT immunostaining and the density of SERT+ axon varicosities were increased in the striatum of PD and HD patients compared to controls. These findings indicate that the nigrostriatal DA system is significantly altered in both PD and HD. However, in contrast to PD, where DA depletion is thought to be the primary cause of the disease, the DA system alteration observed in HD might be secondary to the massive loss of medium-sized spiny projection neurons, which are the major targets of DA axons. The increase in striatal 5-HT innervation observed in PD might be part of a neuronal mechanism designed to compensate for the DA denervation. In HD, the marked atrophy of the striatum might explain, at least in part, the increase in the density of the 5-HT innervation. Altogether, these findings suggest a complex relationship between DA and 5-HT systems at striatal level to ensure a reliable motor control.



## AVANT-PROPOS

Ce travail est présenté sous forme de mémoire avec article. L'article intitulé *Alteration of dopamine and serotonin striatal afferents in Parkinson's and Huntington's diseases* a récemment été soumis pour publication dans la revue *Brain*. Les résultats des différentes étapes de mon étude ont fait l'objet de présentations par affiche dans les congrès annuels de la *Society for Neuroscience* à l'automne 2007 et 2008. Les résultats finaux de cette recherche ont été présentés à la *9<sup>th</sup> International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Disease* qui s'est tenue à Prague en mars 2009. J'ai accompli la majeure partie des travaux de recherche qui font l'objet de l'article inséré dans ce mémoire, dont je suis la première auteure. Plus précisément, j'ai effectué la majorité des manipulations expérimentales, la collecte et l'analyse des résultats, la revue de littérature, la préparation des figures ainsi que la rédaction de l'article. Le Dr André Parent a joué un rôle primordial en dirigeant ces travaux de recherche et, avec la collaboration du Dr Martin Parent, en procédant à la correction et à la mise en forme de l'article scientifique. Le Dr Martin Parent a également participé à l'élaboration de la méthode stéréologique nécessaire à la réalisation de ce projet. La Dre Emmanuelle Pourcher a fourni le matériel pathologique humain ainsi que les données cliniques des patients qui se sont avérées indispensables lors de l'analyse des résultats. Finalement, Marie-Josée Wallman a réalisé une partie des manipulations expérimentales et a apporté un support technique tout au long de l'accomplissement de cette étude.

Plusieurs personnes ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire et je désire donc leur transmettre mes remerciements les plus sincères. Premièrement, je tiens à remercier le Dr André Parent de m'avoir permis d'entreprendre et de mener à terme ce projet de maîtrise. Sa grande disponibilité et la confiance dont il m'a fait preuve ont fait de cette expérience l'une des plus agréables et enrichissantes. Ce fut un honneur de faire partie du laboratoire de ce chercheur passionné et captivant qui, malgré une réputation qui le précède, fait preuve de grande modestie. Je souhaite exprimer mes remerciements à Martin Parent pour son



aide avec l'approche stéréologique, ses précieux conseils lors de la rédaction de l'article et son dévouement aux projets auxquels il participe. Je ne peux passer sous silence la contribution de mademoiselle Wallman, que je surnomme affectueusement ma « maman de laboratoire ». Marie-Josée m'a montré tous les rudiments des techniques employées dans notre laboratoire et a été pour moi une conseillère de premier ordre et une formidable assistante de laboratoire. Marie-Josée est également une amie qui a su rendre les congrès et les journées de travail encore plus agréables. Je veux remercier Doris Côté pour le divertissement qu'elle m'aura offert, que ce soit avec ses petits problèmes d'ordinateur ou plus particulièrement, avec son merveilleux sens de l'humour. Je désire également souligner le travail de chef qu'elle fait pour établir et maintenir l'ordre dans la banque de cerveaux. Je veux remercier les membres du laboratoire d'Armen Saghatelian avec qui j'ai partagé bien plus que des *journal club* hebdomadaires; Vincent Breton-Provencher pour son expertise sur la nourriture de la cafétéria de Robert-Giffard, sur Illustrator et sur les choses « in & out » à faire dans une présentation, Lynda David pour sa générosité et ses encouragements, Morgane Lemasson pour avoir partagé une « maison » avec moi, Lusine Bozoyan pour son enthousiasme, Marina Snapyan pour son aide technique et finalement Armen pour son grand savoir. Mon expérience n'aurait pas été la même si je n'avais pas été entourée de gentils collègues d'étude tels que mon voisin de bureau Reza Zomorodi, Sylvain Chauvette, Josée Seigneur, Rémy Parent, Daniel Kroeger, Jérôme Boucher, et bien d'autres.

Enfin, je souhaite remercier mes proches. Merci à mes parents qui m'ont toujours supportée et encouragée à poursuivre de longues études, puissent-ils considérer leurs investissements fructueux! Merci à mes frères, Marc-André et Jean-Philippe, ainsi qu'à mes amis pour leur soutien moral. Un merci tout spécial à mon amoureux, Julien, qui a partagé quotidiennement toutes les émotions et épreuves reliées à l'accomplissement d'une maîtrise sans toutefois obtenir le diplôme qui y est rattaché. Je le remercie également pour ses compétences d'ingénieur qui me furent utiles à quelques reprises lors de la réalisation de ce projet.

*"There's nothing in this universe that  
can't be explained. Eventually."*

*Dr. Gregory House*



# TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	ii
ABSTRACT .....	iii
AVANT-PROPOS .....	iv
TABLE DES MATIÈRES.....	vii
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures .....	x
Liste des abréviations .....	xi
CHAPITRE 1. INTRODUCTION .....	1
1.1. Deux maladies motrices opposées.....	1
1.1.1. La maladie de Parkinson, un désordre hypokinétique .....	1
1.1.2. La maladie d'Huntington, un désordre hyperkinétique .....	10
1.2. Le striatum .....	17
1.2.1. Une porte d'entrée dans les ganglions de la base .....	17
1.2.2. Son organisation anatomique et cytologique .....	21
1.2.3. Un système en boucle .....	24
1.3. L'implication de différents systèmes de neurotransmetteurs .....	29
1.3.1. Les connexions afférentes au striatum .....	29
1.3.2. Des interactions entre les systèmes dopaminergique et sérotoninergique .....	31
1.3.3. Le système dopaminergique .....	32
1.3.4. Le système sérotoninergique.....	36
1.4. Objectifs de recherche .....	40
CHAPITRE 2. ALTERATION OF DOPAMINE AND SEROTONIN STRIATAL AFFERENTS IN PARKINSON'S AND HUNTINGTON'S DISEASES.....	41
2.1. Résumé .....	42
2.2. Abstract .....	43
2.3. Introduction.....	44
2.4. Material and methods .....	47
2.4.1. Tissue collection .....	47
2.4.2. Immunohistochemistry.....	50
2.4.3. Quantitative assessments of TH and SERT innervation .....	51
2.4.4. Statistical analysis .....	52

2.5.	Results.....	53
2.5.1.	General TH and SERT striatal immunolabeling features .....	53
2.5.2.	Morphological aspect of striatal TH and SERT immunoreactive axon varicosities .....	53
2.5.3.	Variation of TH and SERT immunolabeled striatal innervation .....	55
2.5.4.	Regional distribution of striatal TH and SERT immunoreactivity.....	55
2.5.5.	Anteroposterior distribution of striatal TH and SERT immunoreactivity ..	56
2.5.6.	Density of striatal TH and SERT immunoreactive axon varicosities.....	59
2.6.	Discussion.....	63
2.6.1.	Methodological considerations.....	63
2.6.2.	Decreased striatal DA innervation in PD and HD.....	64
2.6.3.	Increased striatal 5-HT innervation in PD and HD.....	67
2.7.	Concluding remarks.....	70
2.8.	Acknowledgements.....	70
CHAPITRE 3. CONCLUSIONS.....		71
BIBLIOGRAPHIE .....		73



# LISTE DES TABLEAUX

## CHAPITRE 1

Tableau 1.1. Critères cliniques utilisés par la banque de cerveaux « Queen Square » pour diagnostiquer la maladie de Parkinson.....	3
--	---

## CHAPITRE 2

Table 2.1. Clinical data on the control brains used in this study .....	48
Table 2.2 Clinical data on the pathological brains used in this study .....	49

# LISTE DES FIGURES

## CHAPITRE 1

Figure 1.1.	Expression figée et posture fléchie caractéristiques d'un patient souffrant de la maladie de Parkinson .....	5
Figure 1.2.	Neuropathologie de la substance noire dans la maladie de Parkinson .....	7
Figure 1.3.	Corps de Lewy typique .....	9
Figure 1.4.	Progression de la maladie d'Huntington illustrée selon les degrés d'atrophie du striatum, tel que défini par Vonsattel.....	14
Figure 1.5.	Localisation topographique des ganglions de la base dans le cerveau...	18
Figure 1.6.	Circuit formant une boucle fermée entre le cortex cérébral, les ganglions de la base, le thalamus et le cortex cérébral.....	19
Figure 1.7.	Les territoires associatif, sensorimoteur et limbique des ganglions de la base .....	20
Figure 1.8.	Exemples des neurones présents au sein du striatum .....	23
Figure 1.9.	Modèle de l'organisation des ganglions de la base .....	26
Figure 1.10.	Principaux systèmes d'afférences striatales .....	30
Figure 1.11.	Innervation dopaminergique .....	34
Figure 1.12.	Innervation sérotoninergique.....	38

## CHAPITRE 2

Figure 2.1.	High magnification of TH- and SERT-immunostained sections taken at the anterior (pre-commissural) level of the human striatum in controls, PD and HD.....	54
Figure 2.2.	Regional distribution of TH (A) and SERT (B) immunostaining in the striatum of pathological (PD and HD) cases compared to controls .....	57
Figure 2.3.	Anteroposterior distribution of TH (A) and SERT (B) immunostaining in the striatum of pathological (PD and HD) cases compared to controls..	58
Figure 2.4.	Scatter plots showing individual data of TH (A) and SERT (B) immunostaining for pathological cases and controls.....	60
Figure 2.5.	Density of TH (A) and SERT (B) striatal immunoreactive axon varicosities in 2 PD and 2 HD patients, and their respective controls....	61



## LISTE DES ABRÉVIATIONS

5-HIAA	:	acide 5-hydroxyindolacétique
5-HT	:	sérotonine ou <i>serotonin</i>
AADC	:	<i>aromatic L-amino acid decarboxylase</i>
AChE	:	acétylcholinestérase
ATV	:	aire tegmentale ventrale
CB	:	calbindine
CD	:	noyau caudé
ChAT	:	choline acétyltransférase
CM/Pf	:	centromédian/parafasciculaire
CR	:	calrétinine
DA	:	dopamine
DAT	:	transporteur de la dopamine ou <i>dopamine transporter</i>
DR	:	noyau raphé dorsal
DYN	:	dynorphine
ENK	:	enképhaline
GABA	:	acide gamma-aminobutyrique
GAD	:	décarboxylase de l'acide glutamique
GB	:	ganglions de la base
GP	:	globus pallidus
GPe	:	globus pallidus externe
GPi	:	globus pallidus interne
HD	:	<i>Huntington's disease</i>
Htt	:	Huntingtine
IRM	:	imagerie par résonance magnétique
L-dopa	:	L-3,4-dihydroxyphenylalanine ou levodopa
MH	:	maladie d'Huntington
MnR	:	noyau raphé médian

MP	:	maladie de Parkinson
MPTP	:	1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine
MRI	:	<i>magnetic resonance imaging</i>
MSN	:	neurones épineux de taille moyenne
MSPN	:	<i>medium-sized spiny projection neurons</i>
NA	:	noyau accumbens
NADPH-d	:	enzyme nicotinamide adénine dinucléotide phosphate-diaphorase
NST	:	noyau sous-thalamique
PD	:	<i>Parkinson's disease</i>
PET	:	<i>positron emission tomography</i>
PPN	:	noyau pédonculopontin
PUT	:	putamen
PV	:	parvalbumine
SERT	:	transporteur de la sérotonine ou <i>serotonin transporter</i>
SN	:	substance noire ou <i>substantia nigra</i>
SNc	:	substance noire compacte
SNr	:	substance noire réticulée
SP	:	substance P
TH	:	tyrosine hydroxylase
VMAT2	:	<i>vesicular monoamine transporter 2</i>



# CHAPITRE 1. INTRODUCTION

## 1.1. DEUX MALADIES MOTRICES OPPOSÉES

### 1.1.1. LA MALADIE DE PARKINSON, UN DÉSORDRE HYPOKINÉTIQUE

#### 1.1.1.1. *Un survol*

Il y a bientôt 200 ans, un médecin anglais du nom de James Parkinson décrit pour la première fois un syndrome qu'il appelât « paralyse agitante » dans sa monographie *An essay on the Shaking Palsy* (1817). À l'intérieur de cet essai, il détailla les symptômes cardinaux de la maladie observés chez 6 patients; les tremblements au repos, la posture fléchie, la pauvreté de mouvement et le *freezing* (Parkinson, 2002). Il aura fallu plusieurs années avant que Jean-Martin Charcot, le père de la neurologie, attribue le nom de maladie de Parkinson (MP) à ce désordre neurologique décrit précédemment par James Parkinson (Charcot, 1869).

La MP idiopathique est le deuxième trouble neurodégénératif le plus fréquent après la maladie d'Alzheimer; elle affecte plus d'un million de personnes en Amérique du Nord (Lang et Lozano, 1998; Steece-Collier *et al.*, 2002). La grande majorité des cas de MP sont sporadiques et de cause inconnue, tandis que des mutations génétiques sont rapportées dans 10% du nombre total de cas (Fahn et Sulzer, 2004). L'âge constitue le principal facteur de risque, tel que démontré par une incidence de la maladie augmentant avec l'âge; 17.4 nouveaux cas par 100 000 personnes par année dans les âges de 50 à 59 ans et 93.1 dans les âges de 70 à 79 ans (Bower *et al.*, 1999). La MP se déclare vers l'âge de 60 ans et se prolonge en moyenne pendant 15 ans, la pneumonie étant la cause de décès la plus commune (Lees *et al.*, 2009). Certaines études fournissent des indications stipulant que les hommes seraient 1.5 fois plus

sujets que les femmes à développer la MP, mais cette différence n'est pas observée dans toutes les études d'incidence (Lees *et al.*, 2009).

La MP comporte diverses manifestations cliniques dont la principale est l'hypokinésie, c'est-à-dire la lenteur et la pauvreté des mouvements (Fahn et Sulzer, 2004). Le terme parkinsonisme est attribué à l'ensemble des symptômes cliniques relatifs à des problèmes moteurs tels que la bradykinésie (ralentissement dans l'exécution des mouvements volontaires et involontaires), le tremblement au repos, la rigidité musculaire, la perte de réflexes posturaux, la posture fléchie ainsi que le phénomène de *freezing* (immobilisation du sujet). Le parkinsonisme comporte différentes causes, outre la MP à laquelle on réfère comme étant le parkinsonisme primaire. Parmi ces autres causes, on note le parkinsonisme secondaire, incluant le parkinsonisme induit par les drogues ainsi que le parkinsonisme postencéphalitique. La paralysie supranucléaire progressive, la démence à corps de Lewy, la dégénérescence corticobasale et l'atrophie multisystémique constituent les syndromes parkinsoniens « plus ». Finalement, le parkinsonisme représente l'une des caractéristiques de désordres hérédodégénératifs tels que la maladie d'Huntington juvénile et la maladie de Wilson (Fahn et Sulzer, 2004). Afin de distinguer la MP des autres catégories de parkinsonisme, différents critères de diagnostic existent, notamment le *Queen Square brain bank clinical diagnostic criteria* (Tableau 1.1) (Lees *et al.*, 2009). Malgré tout, le déclenchement d'une symptomatologie unilatérale, la présence de tremblements au repos ainsi qu'une réponse clinique à un traitement adéquat à la levodopa (L-dopa) constituent trois indices clés d'un diagnostic de MP (Fahn, 2003). Cependant, seulement l'examen neuropathologique permet un diagnostic exact de MP (Lang et Lozano, 1998).

En considérant la progression de la MP et de ses manifestations cliniques, il est possible de diviser l'évolution de la maladie en 5 stades décrits par Hoehn et Yahr (1967). Cette graduation reflète le degré relatif d'atteinte au fonctionnement du sujet : le premier stade implique une symptomatologie unilatérale; le deuxième stade, des symptômes bilatéraux; le troisième stade, une déficience dans l'équilibre et les réflexes posturaux; le quatrième, une incapacité sévère qui n'empêche tout de même



Diagnostic du syndrome parkinsonien	Critères d'exclusion pour la maladie de Parkinson	Critères de support pour la maladie de Parkinson
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bradykinésie</li> <li>- Au moins l'un des symptômes suivants:               <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Rigidité musculaire</li> <li>✓ Tremblement au repos (4-6 Hz)</li> <li>✓ Instabilité posturale non causée par des déficits visuels, vestibulaires, cérébelleux ou une dysfonction proprioceptive</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✗ Histoire d'AVC répétitifs avec une progression des symptômes en paliers</li> <li>✗ Traumatismes crâniens répétitifs</li> <li>✗ Encéphalite ancienne</li> <li>✗ Crises oculogyres</li> <li>✗ Traitement aux neuroleptiques au début des symptômes</li> <li>✗ Plus d'un parent atteint</li> <li>✗ Rémission soutenue</li> <li>✗ Manifestations strictement unilatérales après 3 ans</li> <li>✗ Paralysie du regard supranucléaire</li> <li>✗ Signes cérébelleux</li> <li>✗ Manifestations autonomiques sévères précoces</li> <li>✗ Démence sévère précoce avec atteinte des praxies, de la mémoire et du langage</li> <li>✗ Signes de Babinski</li> <li>✗ Détection d'une tumeur cérébrale ou d'hydrocéphalie communicante par tomодensitométrie</li> <li>✗ Mauvaise réponse à haute dose de L-dopa (en l'absence de malabsorption)</li> <li>✗ Exposition au MPTP</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Trois critères ou plus sont requis pour un diagnostic définitif de maladie de Parkinson:               <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Début unilatéral</li> <li>✓ Présence de tremblement au repos</li> <li>✓ Symptomatologie progressive</li> <li>✓ Asymétrie persistante principalement du côté duquel la maladie a débuté</li> <li>✓ Excellente réponse à la L-dopa</li> <li>✓ Chorée sévère induite par la L-dopa</li> <li>✓ Réponse à la L-dopa pour 5 ans ou plus</li> <li>✓ Durée clinique de 10 ans ou plus</li> <li>✓ Hypoosmie</li> <li>✓ Hallucination visuelle</li> </ul> </li> </ul>

**Tableau 1.1. Critères cliniques utilisés par la banque de cerveaux « Queen Square » pour diagnostiquer la maladie de Parkinson**

Critères pour le diagnostic clinique de la maladie de Parkinson idiopathique. Les critères de diagnostic du syndrome parkinsonien ajoutés aux critères de support pour la MP facilitent le diagnostic de cette maladie, tout en excluant d'autres pathologies ayant une symptomatologie similaire à l'aide des critères d'exclusion. Tableau adapté de Lees et collègues (2009).



pas l'individu de se tenir debout et de marcher sans assistance; lors du dernier stade, le patient doit être alité ou doit se déplacer en chaise roulante (Hoehn et Yahr, 1967). Dans les stades avancés de la maladie, les patients se tiennent dans une posture fléchie et ils ne démontrent aucune expression faciale (Figure 1.1); de plus, ils ont un discours monotone ressemblant à un marmonnement (Lees *et al.*, 2009). Outre les symptômes moteurs, les individus atteints de la MP souffrent notamment de troubles cognitifs et comportementaux (démence, pertes de mémoire, dysfonctions exécutives, dépression), de troubles du sommeil et d'olfaction altérée (Comella *et al.*, 1998; Poewe et Luginger, 1999; Gagnon *et al.*, 2002; Katzenschlager et Lees, 2004; Muslimovic *et al.*, 2005; Lees *et al.*, 2009).

Malgré la nature sporadique de la MP, des facteurs environnementaux ont été identifiés comme possibles causes. Parmi ces facteurs, notons la toxine 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP), certains pesticides et herbicides (la roténone, un inhibiteur du complexe 1 mitochondrial et le paraquat) et la vie en milieu rural (Elbaz et Tranchant, 2007). La MP comporte également une base génétique, tel que démontré par des mutations dans des gènes liés au parkinsonisme. Les mutations dans les gènes de la parkine, DJ-1, PINK1 et ATP13A2 sont transmises de façon autosomale récessive et seraient responsables d'un parkinsonisme qui débute à un âge plus jeune, avec une progression plus lente et une bonne réponse à des traitements dopaminergiques (Lees *et al.*, 2009). Les mutations se trouvant dans les gènes de l' $\alpha$ -synucléine, *leucine rich repeat kinase 2* et glucocérébrosidase, transmises de façon autosomale dominante, engendreraient la formation de corps de Lewy (Lees *et al.*, 2009). Les mutations dans les protéines  $\alpha$ -synucléine et parkine seraient à l'origine d'un défaut dans le système ubiquitine/protéasome générant l'agrégation de protéines cytotoxiques et pourraient être impliquées dans la genèse de la maladie ainsi que dans les formes familiales de parkinsonisme (Olanow et McNaught, 2006; Lees *et al.*, 2009).



**Figure 1.1. Expression figée et posture fléchie caractéristiques d'un patient souffrant de la maladie de Parkinson**

La posture du sujet et son expression faciale illustrent la rigidité qui affecte ses muscles. L'aspect refermé des mains représente le tremblement au niveau distal des membres du patient. Figure provenant de Lees et collègues (2009).

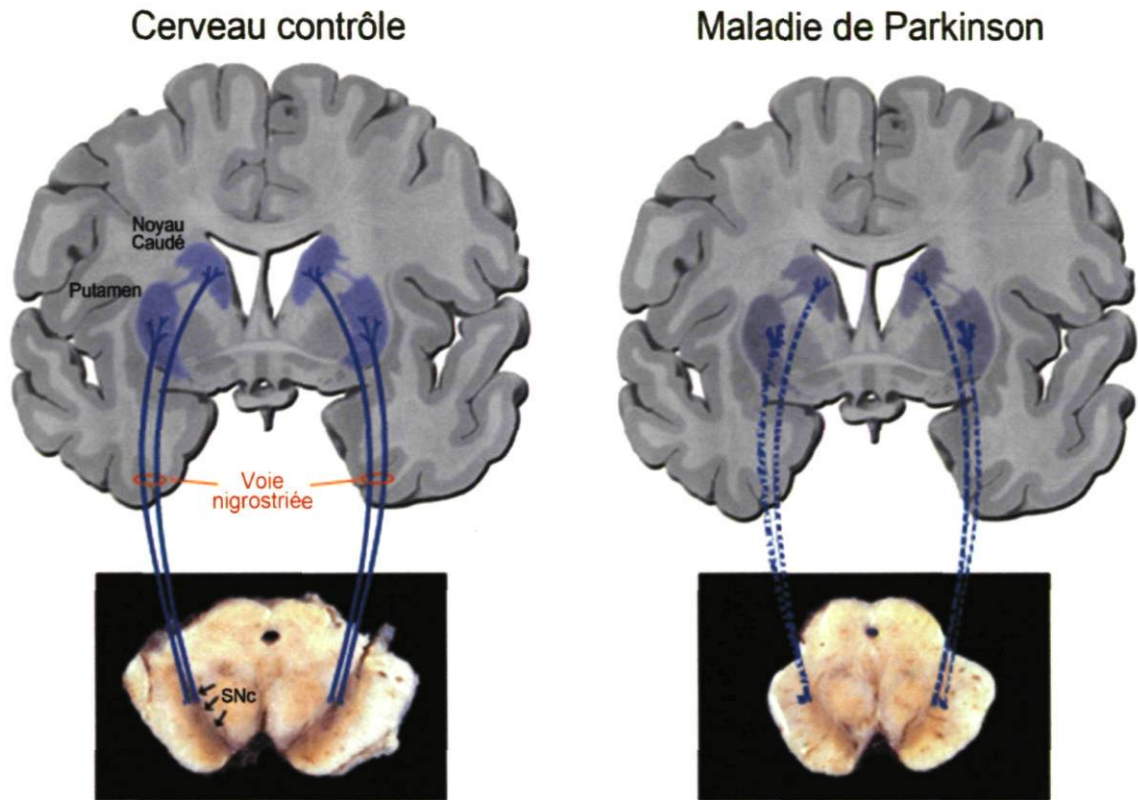


### 1.1.1.2. Des évidences neuropathologiques

La MP se caractérise pathologiquement par une perte massive de neurones dopaminergiques nigrostriés ainsi que par la présence d'inclusions sphériques intraneuronales, nommées corps de Lewy (Schulz et Falkenburger, 2004). Suite au diagnostic clinique, ce sont ces deux caractéristiques qui permettent un diagnostic définitif de la MP (Schulz et Falkenburger, 2004).

Le processus dégénératif de la MP s'avère très sélectif quant aux neurones qu'il cible. Les neurones de la substance noire (SN) riches en neuromélanine sont plus touchés que ceux ne contenant pas ce pigment (Mann et Yates, 1983; Hirsch *et al.*, 1988). D'ailleurs, la perte de ces neurones génère une dépigmentation de la substance noire compacte (SNc) telle que révélée lors de l'examen neuropathologique (Figure 1.2). De plus, les neurones dopaminergiques se trouvant dans la région ventrale de la SNc et projetant au putamen (PUT) sont plus affectés que ceux de la région dorsale projetant au noyau caudé (CD) (Gibb et Lees, 1991). En accord avec cette observation, la dégénérescence des projections nigrostriées engendre une déplétion de dopamine (DA) plus prononcée dans le PUT que dans le CD, tandis que le contenu en DA du noyau accumbens (NA) demeure bien préservé jusque dans les stades plus avancés de la maladie (Bernheimer *et al.*, 1973; Price *et al.*, 1978; Hornykiewicz et Kish, 1987; Kish *et al.*, 1988; Wilson *et al.*, 1996). Une étude a rapporté une réduction en DA de l'ordre de 95% dans le PUT comparativement à 80% dans le CD (Hornykiewicz, 2001). Il semblerait que les premiers signes et symptômes de la maladie surviennent lorsque la mort neuronale excède un seuil critique de 50 à 60% de neurones de la SNc et de 70 à 80% de terminaisons axonales dopaminergiques dans le striatum (Agid, 1991). Passé ce seuil, la dégénérescence progresse lentement et les désordres moteurs ne cessent de s'accroître. Ce processus graduel suggère l'existence de divers mécanismes compensatoires se produisant avant l'apparition des premiers symptômes, masquant et retardant ainsi l'aspect clinique de la MP (voir revue Bezard et Gross, 1998).

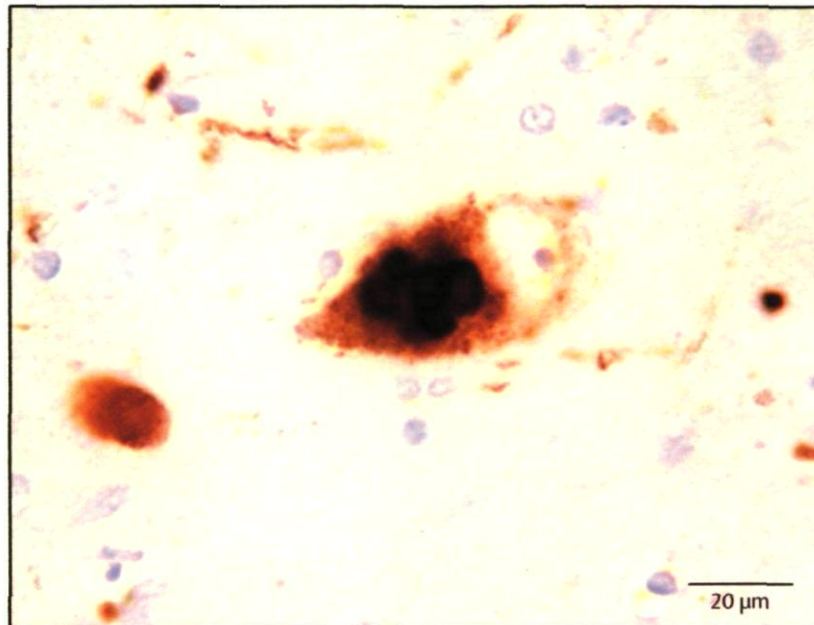




**Figure 1.2. Neuropathologie de la substance noire dans la maladie de Parkinson**

L'image de gauche illustre la voie nigrostriée intacte ainsi qu'une pigmentation normale de la substance noire chez un sujet sain. L'image de droite démontre une altération à la voie dopaminergique en provenance de la substance noire compacte se terminant dans le putamen et le noyau caudé d'un individu atteint de la maladie de Parkinson. La perte de pigmentation de la substance noire est également visible chez cet individu. Abréviations : SNc, substance noire compacte.

La formation de corps de Lewy dans les différents sites pathologiques constitue un changement caractéristique de la MP accompagnant la perte neuronale (Schulz et Falkenburger, 2004). Les corps de Lewy représentent en fait des agrégats éosinophiliques sphériques de protéines composés principalement d' $\alpha$ -synucléine ainsi que de parkine, ubiquitine, synphiline et de neurofilaments. Leur diamètre est habituellement supérieur à 15  $\mu\text{m}$  et leur structure est organisée en un noyau dense et granulovésiculaire entouré d'un halo (Figure 1.3). Ces agrégats se développent dans les corps neuronaux, de même que dans les dendrites, générant des bourgeonnements appelés neurites de Lewy (Schulz et Falkenburger, 2004). Ces inclusions ne sont toutefois pas spécifiques à la MP, puisqu'elles se retrouvent également dans des désordres neurodégénératifs apparentés tels que la démence à corps de Lewy, l'Alzheimer et même chez des sujets sains âgés (Gibb et Lees, 1988). Néanmoins, le rôle des corps de Lewy dans la MP demeure nébuleux; seraient-ils impliqués dans la pathogenèse, simplement une conséquence de celle-ci ou encore une tentative de protection de la part du neurone? En interférant avec divers processus intracellulaires, l'accumulation et l'agrégation de protéines anormales peuvent s'avérer toxiques pour la cellule. De cette façon, l'augmentation de protéines ayant subi des dommages oxydatifs et des modifications post-traductionnelles pourrait induire ou contribuer à la neurodégénérescence dans la MP (Goldberg, 2003; McNaught et Olanow, 2006). Une autre école de pensée explique toutefois la présence d'agrégats de protéines comme étant le résultat d'un défaut de clairance médiée par le système ubiquitine/protéasome, attribuant ainsi aux corps de Lewy le rôle de marqueur de processus pathogénique dans la MP (Ciechanover et Brundin, 2003; Bennett *et al.*, 2005). Finalement, il a été suggéré que les corps de Lewy agissent d'une façon similaire aux agrésomes, c'est-à-dire qu'ils serviraient à séquestrer, compartimenter et isoler les protéines anormales en amas insolubles, par tentative cytoprotective pour limiter ou prévenir les effets nocifs de ces protéines (Kopito, 2000; Tanaka *et al.*, 2004; McNaught et Olanow, 2006).



**Figure 1.3. Corps de Lewy typique**

Exemple d'un neurone survivant dans la substance noire d'un patient souffrant de la maladie de Parkinson. Le neurone contient une grande quantité de corps de Lewy composés d' $\alpha$ -synucléine, tel que révélé par immunohistochimie à l'aide d'anticorps dirigés contre cette protéine. Barre d'échelle : 20  $\mu$ m. Figure provenant de Lees et collègues (2009).



Outre l'atteinte des neurones de la voie nigrostriée, la MP affecte également d'autres populations neuronales qui subissent l'effet de mécanismes neurodégénératifs ainsi que la formation de corps de Lewy. Parmi celles-ci, notons les neurones sérotoninergiques en provenance du noyau raphé dorsal (DR) et médian (MnR), noradrénergiques du locus coeruleus, cholinergiques du noyau basal de Meynert, dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale (ATV), les neurones du noyau du nerf vague, du cortex cérébral, du noyau pédonculopontin (PPN), du bulbe olfactif, du thalamus, de l'hypothalamus, du système nerveux autonome et d'autres (Lang et Lozano, 1998; Schulz et Falkenburger, 2004).

## 1.1.2. LA MALADIE D'HUNTINGTON, UN DÉSORDRE HYPERKINÉTIQUE

### 1.1.2.1. *Un survol*

La maladie d'Huntington (MH) doit son nom au médecin généraliste américain George Huntington qui, à l'âge de 22 ans, fit la première description détaillée de cette affection neurologique dans un article intitulé *On Chorea* (1872). Avec la collaboration de son père et son grand-père, également médecins, il combina des observations effectuées sur plusieurs générations de familles de Long Island pour ainsi décrire une maladie rare, héréditaire, apparaissant à l'âge adulte et caractérisée par des troubles moteurs de type choréique et d'atteintes cognitives (Huntington, 2003). Vers la fin du 19<sup>e</sup> siècle, Anton apporta les premières évidences de la caractéristique pathologique centrale de la MH en reliant l'occurrence des mouvements choréiques avec une atrophie progressive du striatum (Vonsattel *et al.*, 2008). Puis en 1993, la recherche sur la MH bénéficia d'un souffle nouveau avec l'identification du gène HD responsable de la maladie (Huntington's Disease Collaborative Research Group, 1993). Cette découverte dirigea les recherches vers de nouvelles avenues s'adressant entre autres aux mécanismes moléculaires de la maladie.

La prévalence de la MH s'avère stable et est estimée entre 5 et 7 individus affectés par 100 000 dans la plupart des populations caucasiennes (Walker, 2007). La MH affecte autant les hommes que les femmes, mais sa prévalence varie considérablement selon les communautés ethniques et donc selon la situation géographique (la Finlande, le Japon, la Chine et l'Afrique subsaharienne étant moins touchés). Cette différence serait reliée à la fréquence augmentée d'allèles Huntingtine (Htt) comportant 28-35 répétitions de CAG chez les individus caucasiens (Squitieri *et al.*, 1994).

Contrairement à la MP caractérisée principalement par de l'akinésie, la MH se caractérise d'un point de vue clinique par de l'hyperkinésie, c'est-à-dire par des excès de mouvements. La MH porte également le nom de chorée d'Huntington en allusion au mot grec *choreia* qui signifie « danse », illustrant ainsi les mouvements involontaires spontanés et irréguliers qui affligent les sujets. Les premières manifestations de la maladie se déclarent généralement entre 35 et 42 ans, quoiqu'elles puissent survenir à tout moment entre 1 et 80 ans (Martin, 1984; Walker, 2007). Plus particulièrement, la maladie débute avant 21 ans dans le cas de la MH juvénile, ce qui représente environ 7% des cas de MH (Nance et Myers, 2001). Avant les premiers symptômes, les individus atteints de MH ont un bon état de santé et ne démontrent aucune anomalie clinique détectable. Cependant, la période présymptomatique est souvent associée à de subtils changements dans la personnalité, la cognition et le contrôle moteur. Le diagnostic est possible lorsque les patients développent de la chorée, de l'incoordination, de l'impersistance motrice et des saccades oculaires ralenties (Walker, 2007). Les symptômes psychiatriques et comportementaux des patients comportent des troubles d'humeur, de l'irritabilité, de la démence, des dépressions ainsi qu'un taux de suicide 5 à 10 fois plus élevé que dans la population générale (Dewhurst *et al.*, 1970; Di Maio *et al.*, 1993; Jensen *et al.*, 1993; Baliko *et al.*, 2004). Des dysfonctions cognitives, telles qu'un déclin des fonctions exécutives, accompagnent les troubles moteurs et suivent la progression de la maladie (Folstein *et al.*, 1983). L'espérance de vie d'un patient souffrant de MH est évaluée à 20 ans suivant le diagnostic. Étant donné son caractère héréditaire, la MH peut être dépistée à l'aide de



tests génétiques. Cependant, cette option s'avère peu populaire au sein des individus à risque pour la MH considérant le pronostic fatal de cette maladie (Laccone *et al.*, 1999). L'imagerie par résonance magnétique (IRM) et la tomodensitométrie permettent de suivre la progression de la maladie par l'évolution de l'atrophie du striatum et l'augmentation volumique des ventricules latéraux (Walker, 2007).

La MH est une maladie neurodégénérative héréditaire transmise de façon autosomale dominante. Le gène HD responsable de la MH est localisé sur le bras court du chromosome 4 et sa séquence codante contient une répétition du trinuéclotide CAG (codant pour l'acide aminé glutamine). La mutation à l'origine de la maladie consiste en une répétition anormale de ce trinuéclotide (Huntington's Disease Collaborative Research Group, 1993). Lorsque le nombre de répétitions de CAG excède 28, l'allèle mutant devient instable durant la réplication et ce nombre tend à augmenter ou diminuer légèrement au fil des transmissions intergénérationnelles (MacDonald *et al.*, 1999; Chattopadhyay *et al.*, 2003; Djousse *et al.*, 2004). De grandes augmentations dans le nombre de codons pathologiques sont majoritairement associées à une transmission paternelle, reflétant ainsi une plus grande instabilité dans la spermatogenèse que dans l'oogenèse (Trottier *et al.*, 1994; Kremer *et al.*, 1995). Le nombre de répétitions CAG est inversement relié à l'âge d'apparition de la maladie et il détermine aussi son degré de sévérité. En effet, la pénétrance de la MH est complète lorsque le nombre de répétitions du trinuéclotide atteint 41 ou plus, engendrant ainsi la forme de MH la plus répandue, c'est-à-dire celle qui se manifeste à l'âge mûr. Les plus longues répétitions sont responsables des cas sévères de MH infantile et juvénile (Huntington's Disease Collaborative Research Group, 1993). Un nombre de répétitions entre 36 et 40 représente une pénétrance incomplète associée à une apparition de la maladie plus tardive ou même, dans certain cas, à aucune manifestation (Rubinsztein *et al.*, 1996; McNeil *et al.*, 1997). Les individus qui présentent moins de 35 répétitions ne développent pas la maladie (Walker, 2007; Gil et Rego, 2008).

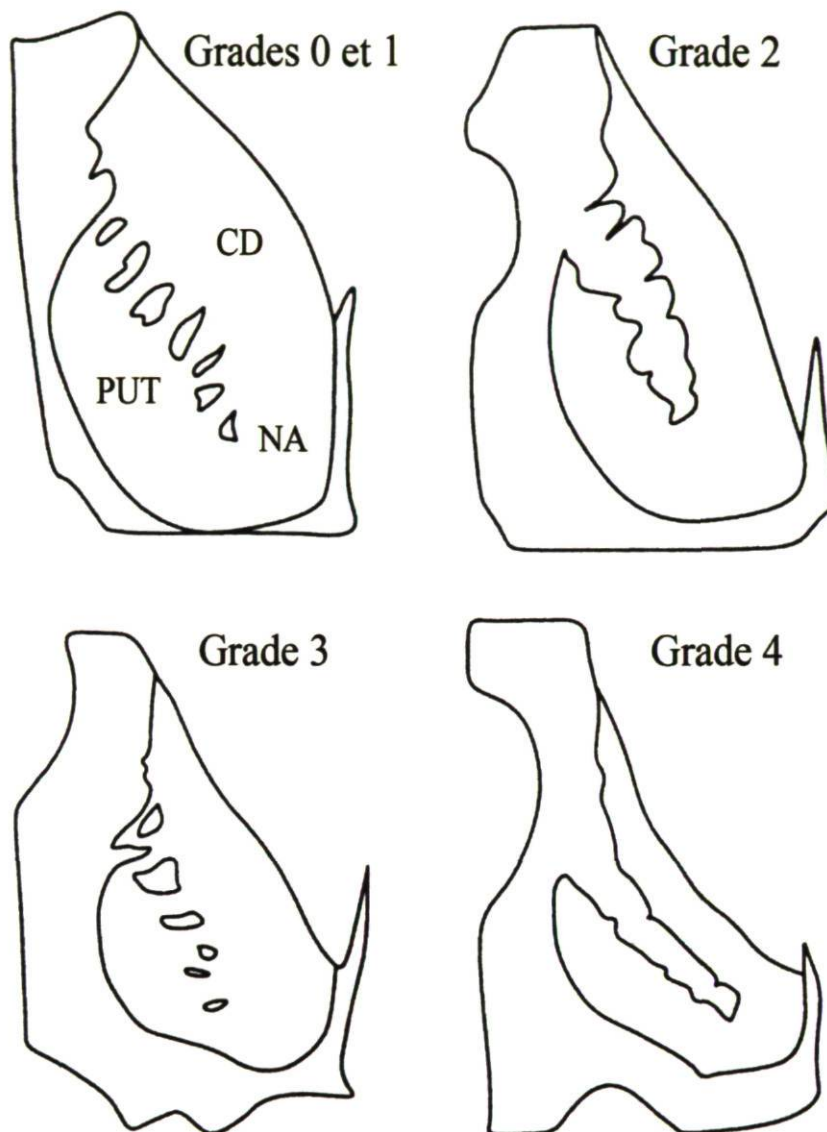
Le gène HD code pour la protéine Htt, d'un poids moléculaire d'environ 349 kDa. Cette protéine ubiquitaire est exprimée dans le cerveau par les neurones ainsi



que les cellules gliales (Landwehrmeyer *et al.*, 1995). Au niveau cellulaire, la protéine Htt est principalement localisée à l'intérieur du cytoplasme, mais elle peut également se retrouver dans le noyau (Velier *et al.*, 1998; Kegel *et al.*, 2002). Alors que la présence de la protéine Htt semble essentielle au bon développement de l'embryon, son rôle à l'âge adulte n'est pas encore élucidé (Duyao *et al.*, 1995; Nasir *et al.*, 1995; Zeitlin *et al.*, 1995; Dragatsis *et al.*, 2000). Étant donné ses nombreuses interactions protéines-protéines, des études lui attribuent un rôle dans différentes fonctions intracellulaires telles que le transport de protéines, le transport vésiculaire et l'ancrage au cytosquelette, l'endocytose induite par la clathrine, le signalement postsynaptique, la régulation transcriptionnelle et possiblement une fonction antiapoptotique. La mutation responsable de la MH résulte en une expansion consécutive de résidus glutamine à l'extrémité N-terminale de la Htt (Huntington's Disease Collaborative Research Group, 1993). Évidemment, la présence de cette extrémité de polyglutamine expansée peut perturber ou modifier la nature des interactions entre Htt et les autres protéines intervenantes en inhibant ou modifiant la fonction normale de ces protéines (Gil et Rego, 2008).

#### 1.1.2.2. Des évidences neuropathologiques

La neuropathologie caractéristique de la MH consiste en une atrophie progressive du striatum suite à une mort sélective et massive des neurones épineux de taille moyenne (MSN) (Vonsattel *et al.*, 2008). Vonsattel et collègues (1985) ont développé un système de gradation (0 à 4) pour évaluer la sévérité de la dégénérescence de la MH en fonction du patron spatiotemporal de dégénérescence striatale, selon des observations post-mortem (Figure 1.4). Au niveau macroscopique, le grade 0 ne diffère pas d'un cerveau sain. Il est cependant possible de détecter des changements microscopiques dans la tête du CD (perte neuronale de 30 à 40%) lors d'un examen histologique. Dans le grade 1, l'atrophie du CD se poursuit dans la queue et pour certains cas, dans le corps du CD. La tête du CD subit de l'astroglie et une perte neuronale de 50%, changements qui sont d'une moins grande ampleur dans la



**Figure 1.4. Progression de la maladie d'Huntington illustrée selon les degrés d'atrophie du striatum, tel que défini par Vonsattel**

**A.** Contrôle, grade 0 et 1 : aucun changement lors de l'examen macroscopique. **B.** Grade 2 : le noyau caudé est atrophie, cependant sa courbure convexe est préservée. **C.** Grade 3 : l'atrophie striatale varie de modérée à sévère et affecte le putamen en plus du noyau caudé. Le noyau caudé forme une ligne droite avec la bordure du ventricule latéral. **D.** Grade 4 : l'atrophie sévère du striatum fait en sorte que le noyau caudé et la capsule interne adoptent une courbure concave. Abréviations : CD, noyau caudé; NA, noyau accumbens; PUT, putamen. Figure provenant de Vonsattel et collègues (1985).



queue et dans le corps du CD. Le grade 2 est associé à une atrophie générale de faible à modérée, la courbure convexe de la tête du CD étant préservée. Le grade 3, quant à lui, se distingue par la ligne droite ou légèrement concave que forment le CD et la bordure du ventricule latéral. Finalement, le grade 4 comporte une atrophie sévère du striatum et jusqu'à 95% de perte neuronale. La dilatation du ventricule latéral augmente, ce qui confère un aspect concave au CD. La moitié des cerveaux évalués à un grade 4 démontrent une bonne préservation du NA (Vonsattel *et al.*, 2008).

L'échelle de Vonsattel basée sur l'atrophie striatale corrèle également avec l'atrophie se produisant dans les régions du cerveau autre que le striatum. Dans les grades 1 et 2, les structures non striatales sont soit épargnées ou soit leur volume n'est que très peu diminué. Par contre, les grades 3 et 4 sont associés à une atrophie légère à prononcée de diverses structures; le globus pallidus (GP), le cortex cérébral (les couches III, V et VI), le thalamus, le noyau sous-thalamique (NST), la SN, la matière blanche et le cervelet. Une perte neuronale variable est observée selon les structures, sans astrogliose toutefois (Gil et Rego, 2008; Vonsattel *et al.*, 2008). Cette atrophie cérébrale généralisée peut entraîner une diminution du poids total du cerveau de l'ordre de 40% (Gusella, 2001).

Au sein du striatum, les populations neuronales comportent une vulnérabilité différentielle à la dégénérescence. En effet, les MSN de projection, comptant pour 95% de la population neuronale totale du striatum, dégèrent plus rapidement et plus sévèrement que les interneurones cholinergiques géants et les interneurones non épineux de taille moyenne (Figure 1.8) (Dawbarn *et al.*, 1985; Ferrante *et al.*, 1985; Beal *et al.*, 1988b; Beal *et al.*, 1988a). De plus, les neurones épineux contenant de l'énképhaline (ENK) et projetant au globus pallidus externe (GPe) sont plus vulnérables que ceux contenant de la substance P (SP) et projetant au globus pallidus interne (GPi) (Reiner *et al.*, 1988; Richfield *et al.*, 1995; Sapp *et al.*, 1995). Les interneurones contenant l'enzyme nicotinamide adénine dinucléotide phosphate-diaphorase (NADPH-d) s'avèrent plus résistants à la dégénérescence (Ferrante *et al.*, 1987a; Ferrante *et al.*, 1987b).



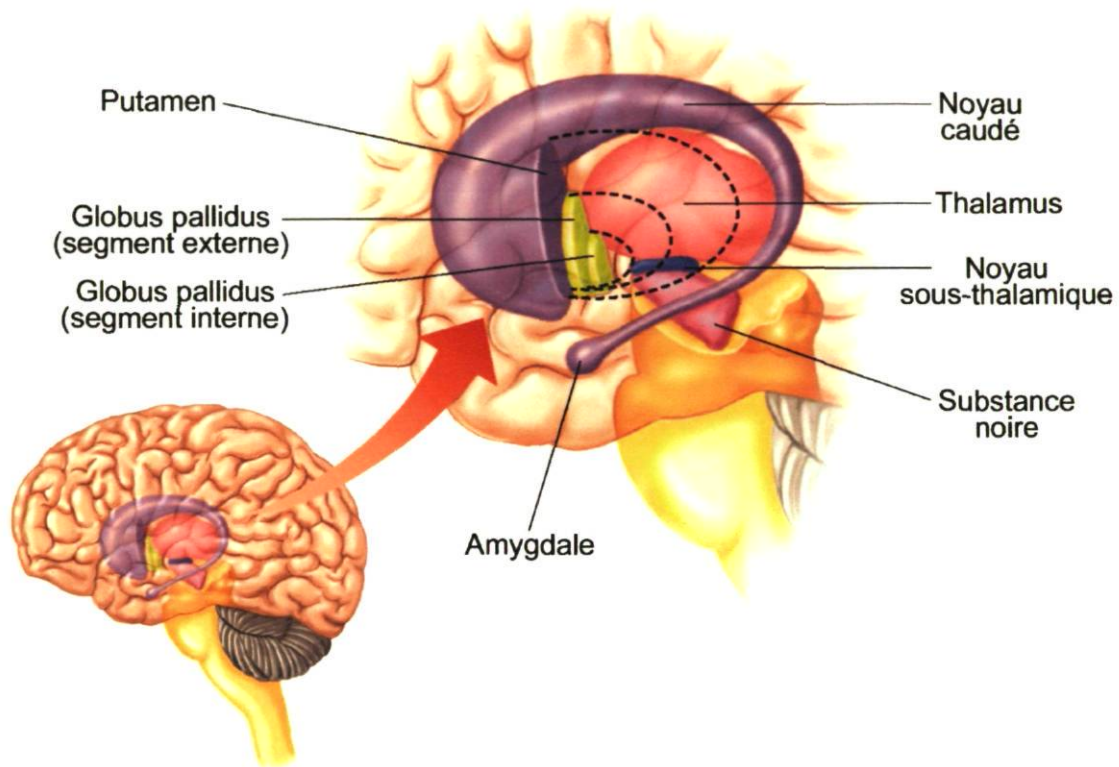
La présence d'inclusions intranucléaires (DiFiglia *et al.*, 1997) ou d'agrégats cytoplasmiques (Sapp *et al.*, 1999) dans les neurones est un second signe pathologique caractéristique de la MH. La protéine mutante Htt serait à l'origine de leur formation, son extrémité N-terminale s'accumulant dans le noyau et dans le cytoplasme des neurones du cortex, de l'hippocampe et du striatum (DiFiglia *et al.*, 1997; Maat-Schieman *et al.*, 1999). Le rôle des inclusions ou des agrégats dans le mécanisme de la maladie n'est pas défini à savoir s'ils sont toxiques, protecteurs ou conséquents à la MH. En effet, leur présence dans les neurones n'est pas en corrélation avec le degré de vulnérabilité de ceux-ci; les interneurons résistants à la neurodégénérescence étant ceux contenant davantage d'agrégats que les autres populations neuronales (Kuemmerle *et al.*, 1999). Malgré tout, Htt mutante engendre des dysfonctions intracellulaires aboutissant à la mort neuronale et à la dégénérescence de voies importantes. Différents mécanismes de neurodégénération semblent impliqués dans la pathologie de la MH. Parmi ceux-ci, notons l'excitotoxicité, la toxicité DA, l'altération métabolique, la dysfonction mitochondriale, le stress oxydatif, l'apoptose et l'autophagie (Vonsattel *et al.*, 2008).

## 1.2. LE STRIATUM

### 1.2.1. UNE PORTE D'ENTRÉE DANS LES GANGLIONS DE LA BASE

Quoique leur rôle n'est pas totalement défini, les ganglions de la base (GB) sont impliqués dans le contrôle des différents aspects du comportement moteur tel que démontré par différentes études cliniques et expérimentales (Marsden, 1982; Marsden, 1984; Alheid et Heimer, 1988). Une altération dans la circuiterie des GB peut entraîner des troubles moteurs variant de l'hypokinésie observée dans la MP à l'hyperkinésie présente dans la MH (Penney et Young, 1983; Albin *et al.*, 1989; Wichmann et DeLong, 1993). Les GB, également appelés noyaux gris centraux, sont formés d'un ensemble de structures sous-corticales de matière grise composé principalement du striatum, du GP, de la SN et du NST (Figure 1.5). Leur arrangement séquentiel permet l'intégration d'un système en boucle fermée cortico-GB-thalamo-cortical avec un relai au niveau du thalamus (Figure 1.6). Le NST, la SNc, le complexe centromédian/parafasciculaire (CM/Pf) du thalamus, le DR et le PPN jouent un rôle important dans la modulation de l'activité des composantes intrinsèques de la boucle, soit en les inhibant ou en les stimulant (Parent et Hazrati, 1995).

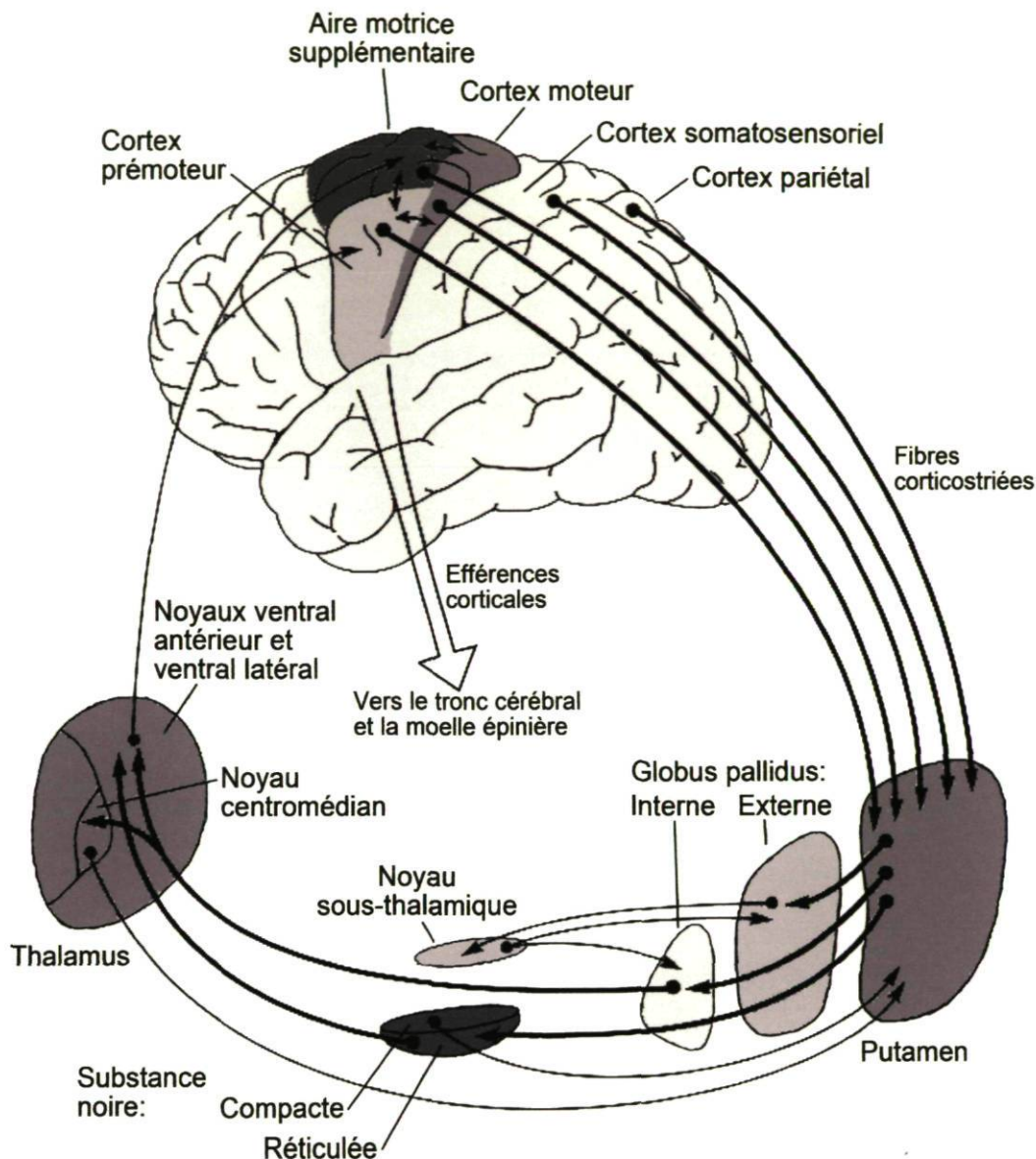
Étant donné les afférences massives et variées qu'il reçoit, le striatum constitue la composante réceptive et intégrative des GB, représentant ainsi la porte d'entrée de ceux-ci. Plus particulièrement, des études ont démontré que les afférences corticostriatales confèrent au striatum une subdivision en territoires fonctionnels distincts se chevauchant partiellement (Figure 1.7) (Parent, 1990). Le territoire associatif reçoit les projections du cortex associatif et comprend principalement la tête, le corps et la queue du CD ainsi que le PUT précommissural (Ragsdale et Graybiel, 1981). Les cortex moteur et somatosensoriel projettent dans le territoire sensorimoteur composé de la portion dorsolatérale du PUT postcommissural et du rebord dorsolatéral de la tête du CD (Kunzle, 1975). Le territoire limbique est formé du NA et des portions ventrales du CD et du PUT; ce dernier reçoit les afférences du



**Figure 1.5. Localisation topographique des ganglions de la base dans le cerveau**

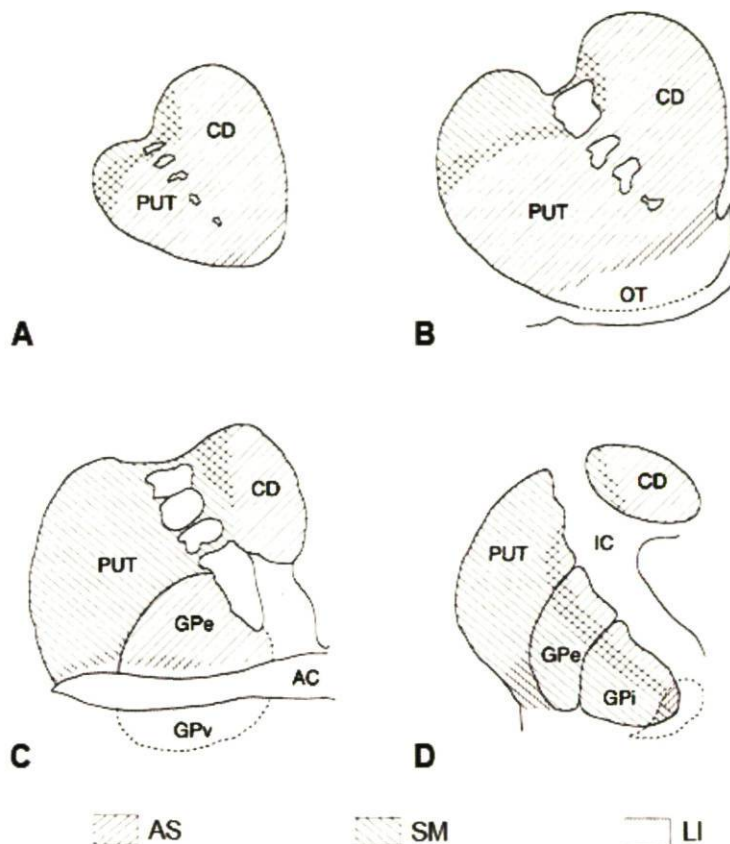
Principales structures composant les ganglions de la base ou leur étant associées : le striatum (composé du noyau caudé, du putamen et du noyau accumbens qui est non identifié sur cette figure), le globus pallidus (comprenant un segment externe et un segment interne), la substance noire (composée d'une partie compacte et d'une partie réticulée), le noyau sous-thalamique et le thalamus. Figure adaptée de <http://www.colorado.edu/intphys/Class/IPHY3430-200/image/basalnuclei.jpg>.





**Figure 1.6. Circuit formant une boucle fermée entre le cortex cérébral, les ganglions de la base, le thalamus et le cortex cérébral**

Ce schéma démontre l'implication des différentes structures du cerveau dans la boucle cortico-ganglions de la base-thalamo-corticale. Les différentes aires du cortex cérébral projettent massivement au striatum. Le noyau centromédian du thalamus et la substance noire compacte envoient également des afférences au striatum. On réfère au striatum comme étant la porte d'entrée des ganglions de la base alors que le globus pallidus interne et la substance noire réticulée sont les portes de sortie. Il existe deux voies à l'intérieur de ce circuit. La voie directe passe du striatum aux portes de sortie, tandis que la voie indirecte implique un passage dans le globus pallidus externe et le noyau sous-thalamique pour ensuite aboutir aux portes de sortie. Les noyaux thalamiques du tiers ventral servent de relai entre les ganglions de la base et le cortex cérébral. Figure adaptée de <http://www.mona.uwi.edu/fpas/courses/physiology/neurophysiology/BasalGanglia.htm>.



**Figure 1.7. Les territoires associatif, sensorimoteur et limbique des ganglions de la base**

Les schémas correspondent aux observations effectuées chez les primates. Ces représentations suivent un ordre rostrocaudal (A-D) et les aires doublement hachurées constituent une zone de chevauchement entre les territoires. Abréviations : AC, commissure antérieure; AS, associatif; CD, noyau caudé; IC, capsule interne; LI, limbique; OT, tubercule olfactif; PUT, putamen; SM, sensorimoteur. Figure provenant de Parent et Hazrati (1995).



cortex limbique et paralimbique ainsi que de l'amygdale et de l'hippocampe (Phillipson et Griffiths, 1985; Russchen *et al.*, 1985; Haber *et al.*, 1990). Quant au striatum, il projette aux deux segments du GP, soit le GPe et le GPi, et à la partie réticulée de la SN (SNr). Le GPi et la SNr projettent au thalamus et constituent donc les principales portes de sortie des GB. Le striatum peut exercer une influence directe ou indirecte sur ces structures, par ses efférences au GPi et à la SNr (voie directe) ou via des projections au GPe, puis du GPe au STN et finalement du STN aux GPi et SNr (voie indirecte) (Parent *et al.*, 2000).

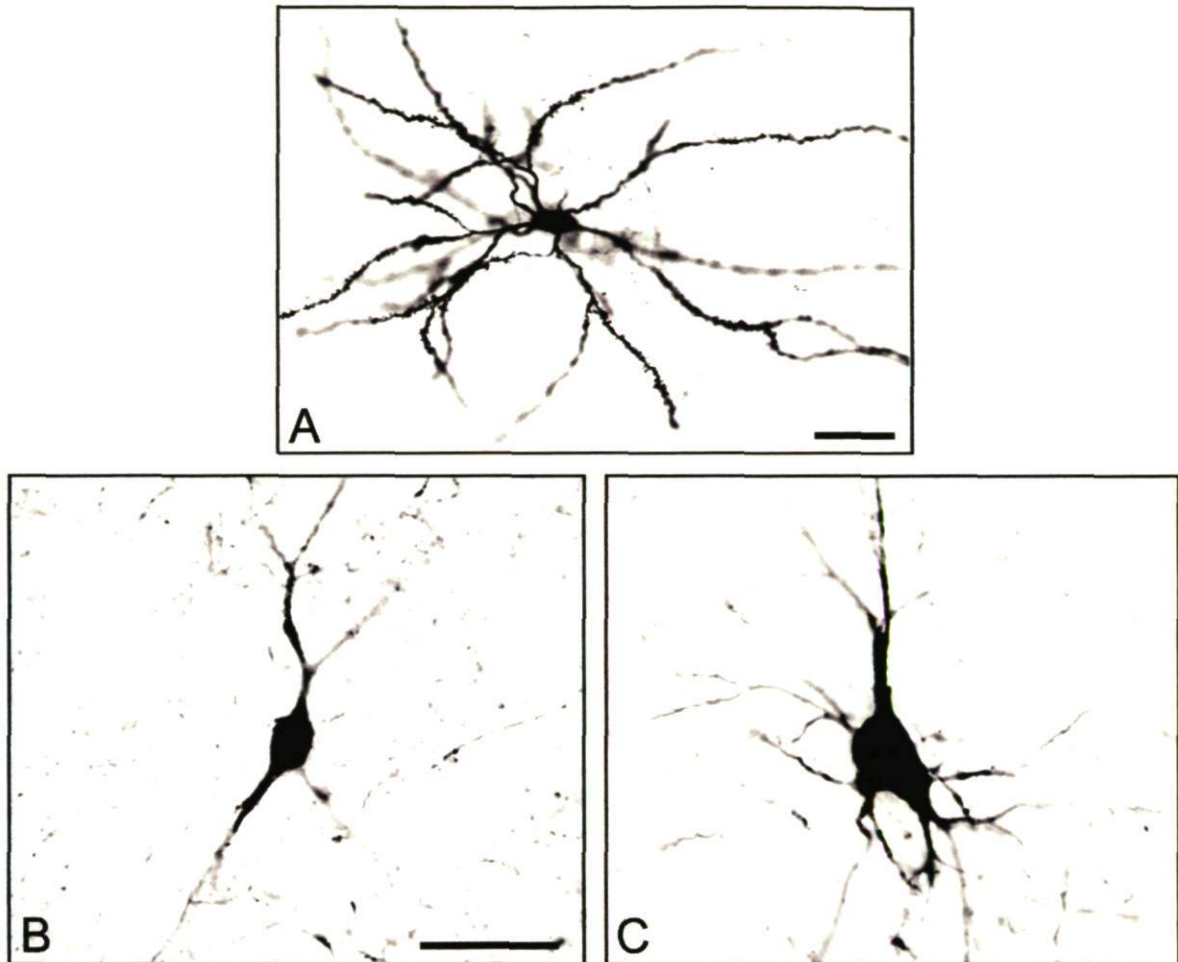
### 1.2.2. SON ORGANISATION ANATOMIQUE ET CYTOLOGIQUE

Les principales structures composant le striatum sont le CD et le PUT séparés par les fibres de la capsule interne, ainsi que le NA retrouvé seulement au niveau antérieur. En plus de ces divisions structurelles, le striatum est également organisé en deux compartiments neurochimiques distinctifs : les striosomes et la matrice extrastriosomale (Graybiel et Ragsdale, 1978; Prensa *et al.*, 1999). Cette découverte est attribuée à Graybiel et Ragsdale (1978) qui, suite à un marquage pour l'acétylcholinestérase (AChE), remarquèrent des zones pauvre en AChE (striosomes) à l'intérieur d'un tissu riche en AChE (matrice) à même le striatum. Les striosomes sont identifiés entre autres par leur haute teneur en récepteurs opiacés, en SP et en neurotensine. La matrice extrastriosomale, quant à elle, est caractérisée par sa richesse en AChE, en calbindine (CB), en somatostatine, en récepteurs neurotensine et en tyrosine hydroxylase (TH) (Graybiel, 1990). De plus, la matrice reçoit des afférences principalement reliées au processus sensorimoteur tandis que les striosomes reçoivent plutôt des connexions du système limbique, ajoutant donc une distinction fonctionnelle entre ces deux compartiments (Donoghue et Herkenham, 1986; Graybiel, 1990; Levesque *et al.*, 1996; Levesque et Parent, 1998).



Contrairement à la plupart des autres structures du cerveau, le striatum est composé davantage de neurones de projection que d'interneurones. Les neurones de projections striataux ont un corps cellulaire de taille moyenne (12-20  $\mu\text{m}$ ) et leurs dendrites sont pourvues d'épines, d'où leur appellation : MSN (Figure 1.8) (Wilson et Groves, 1980). Les MSN utilisent tous principalement l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) comme neurotransmetteur inhibiteur et ont une morphologie plutôt similaire (Ribak *et al.*, 1979; Oertel et Mugnaini, 1984). Néanmoins, il est possible de regrouper les MSN en deux sous-populations neuronales selon leur contenu en neuropeptides et leur site de projection (Graybiel, 1990; Guzman *et al.*, 1993). Cette classification est également à l'origine des voies directe et indirecte du circuit des GB. Environ la moitié des neurones de projection contiennent le neuropeptide ENK et projettent spécifiquement au GPe, formant ainsi la voie indirecte. L'autre partie des neurones contiennent les neuropeptides SP et dynorphine (DYN) et constituent la voie directe en projetant au GPi et à la SNr (Smith *et al.*, 1998). Les MSN peuvent être caractérisés par leur contenu en CB, une protéine liant le calcium (Cicchetti *et al.*, 2000). Les MSN sont la principale cible des afférences extrinsèques du cortex cérébral, du thalamus et de la SNc via un contact à la portion distale de leur arborisation dendritique. Ces neurones sont aussi visés par les afférences striatales intrinsèques au niveau proximal de leur domaine somatodendritique (Parent et Hazrati, 1995).

Malgré leur nombre inférieur au sein de la population neuronale du striatum, les interneurones striataux existent dans une grande variété et partagent une caractéristique les différenciant des MSN : leurs dendrites sont dépourvues d'épines (Parent et Hazrati, 1995). Ces interneurones peuvent être classés en deux groupes généraux, selon la taille de leur corps cellulaire : les interneurones non épineux géants et les interneurones de taille moyenne (Figure 1.8). Les interneurones non épineux géants correspondent aux cellules non épineuses de type II décrites par DiFiglia et collègues (1976). Ils sont très volumineux et représentent moins de 2% de la population neuronale du striatum (Phelps et Vaughn, 1986). Leur corps cellulaire a une forme triangulaire ou globulaire d'un diamètre de 21 à 45  $\mu\text{m}$  (Cicchetti *et al.*, 2000). Il s'agit en fait de neurones cholinergiques pouvant exprimer la choline



**Figure 1.8. Exemples des neurones présents au sein du striatum**

**A.** Neurone épineux de taille moyenne du striatum de primate révélé par l'injection juxtacellulaire de biotin dextran amine. **B.** Interneurone non épineux de taille moyenne exprimant la calrétinine et provenant du striatum humain. **C.** Interneurone non épineux géant immunoréactif pour la calrétinine provenant du striatum humain. Barres d'échelle : 30  $\mu\text{m}$  (A), 100  $\mu\text{m}$  (B et C). Figure A provenant de Parent et collègues (2000), figures B et C provenant de Cicchetti et collègues (1998).



acétyltransférase (ChAT) et/ou la calrétinine (CR) (Kimura *et al.*, 1981; Bolam *et al.*, 1984; Phelps *et al.*, 1985). Ces interneurons se trouvent partout dans le striatum, mais ils démontrent une prépondérance dans le PUT comparativement au CD (Cicchetti *et al.*, 2000). Les interneurons de taille moyenne, quant à eux, correspondent aux cellules non épineuses de type I et III décrites par DiFiglia et collègues (1976). Tout comme les MSN, la plupart des interneurons de taille moyenne utilisent le GABA comme neurotransmetteur. Leur phénotype neurochimique différent permet de subdiviser les interneurons de taille moyenne en trois sous-catégories. La première catégorie contient l'enzyme de synthèse du GABA, soit la décarboxylase de l'acide glutamique (GAD), le GABA lui-même et la parvalbumine (PV). Le second groupe exprime la somatostatine, le neuropeptide Y et la NADPH-d (ou synthase de l'oxyde nitrique). La dernière catégorie comprend les interneurons qui contiennent la CR. La taille de ces interneurons non épineux varie légèrement d'une catégorie à l'autre et leur morphologie est propre au groupe auquel ils appartiennent (Cicchetti *et al.*, 2000).

### 1.2.3. UN SYSTÈME EN BOUCLE

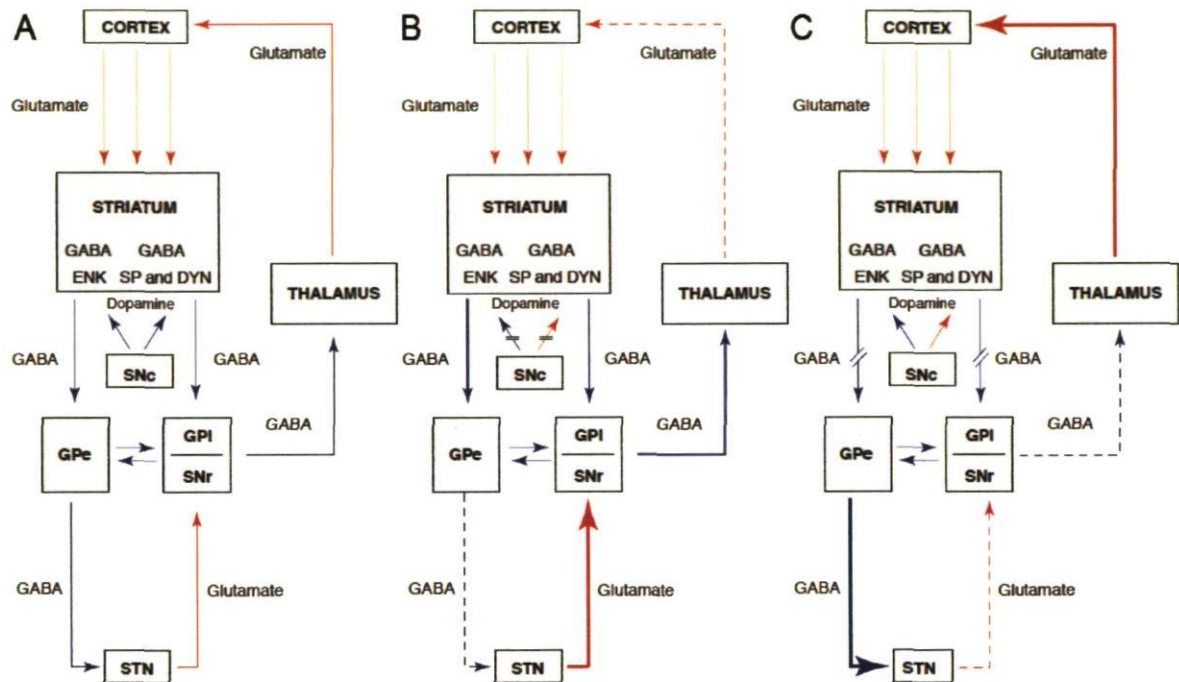
Il existe un modèle concernant l'organisation des GB basé sur la boucle cortico-GB-thalamo-corticale et élaboré à partir d'observations effectuées chez des modèles animaux de maladies neurodégénératives. Ce modèle classique vise principalement à expliquer les troubles moteurs hypokinétiques et hyperkinétiques présents chez les personnes atteintes de MP et de MH respectivement (Penney et Young, 1983; Alexander *et al.*, 1986; Albin *et al.*, 1989; DeLong, 1990). Le modèle de l'organisation des GB a été sujet à de nombreuses critiques quant à l'existence de deux voies pharmacologiquement et anatomiquement distinctes, à la négligence des différentes sources d'afférences au striatum et de connexions entre certaines structures et aux manifestations cliniques expliquées qu'en partie (Parent et Cicchetti, 1998; Parent *et al.*, 2001). Néanmoins, ce modèle est le plus utilisé et il fournit les bases nécessaires à



la compréhension des conséquences que peuvent engendrer des lésions au sein de l'organisation des GB, que ce soit dans la MP ou dans la MH.

### 1.2.3.1. Dans un état sain

À l'état sain (Figure 1.9), le striatum reçoit diverses projections afférentes dont la plupart consistent en des entrées glutamatergiques excitatrices en provenance du cortex cérébral. La SNc module la réponse des neurones striataux à ces influx via le relâchement de DA à l'intérieur du striatum. La DA peut exercer un effet excitateur ou inhibiteur sur les neurones GABAergiques du striatum selon les récepteurs dopaminergiques qu'ils expriment. En effet, la DA semble faciliter la transmission par la voie directe via les récepteurs D<sub>1</sub> exprimés par les MSN contenant la SP et la DYN. Les efférences GABAergiques de ces neurones rejoignent ensuite le GPi et la SNr qui exercent une hyperpolarisation tonique sur les neurones du thalamus. Ces deux relais inhibiteurs en série engendrent un mécanisme de désinhibition (Chevalier et Deniau, 1990). Plus précisément, les neurones striataux de la voie directe inhibent les neurones du GPi et de la SNr qui cesseront alors d'inhiber les neurones thalamocorticaux. Une fois l'activité thalamique désinhibée, les neurones du thalamus sont libres de répondre à des entrées excitatrices en générant des influx glutamatergiques excitateurs au cortex. À l'opposé, la DA inhibe la transmission par la voie indirecte lorsqu'elle se lie aux récepteurs D<sub>2</sub> exprimés par les MSN qui contiennent l'ENK. Les efférences GABAergiques des neurones striataux de la voie indirecte se terminent dans le GPe et inhibent son activité. Cela provoque une désinhibition du STN. Les neurones glutamatergiques du STN peuvent ainsi augmenter leur activité excitatrice sur le GPi et la SNr qui inhiberont davantage le thalamus. Au final, le cortex sera privé d'une grande partie de l'activité excitatrice en provenance du thalamus. Le bon fonctionnement des GB repose donc sur un équilibre entre les deux systèmes de projections du striatum (Parent *et al.*, 2000).



**Figure 1.9. Modèle de l'organisation des ganglions de la base**

Les diagrammes schématisent l'organisation fonctionnelle des ganglions de la base dans des conditions normales **(A)**, dans la maladie de Parkinson **(B)** et dans la maladie d'Huntington **(C)**. Les lignes pointillées et plus épaisses représentent respectivement des voies hypoactive et hyperactive dans les conditions pathologiques. Le bleu et le rouge correspondent à des projections inhibitrices et excitatrices, respectivement. Abréviations : DYN, dynorphine; ENK, enképhaline; GABA, acide gamma-aminobutyrique; GPe, globus pallidus externe; GPI, globus pallidus interne; SNc, substance noire compacte; SNr, substance noire réticulée; SP, substance P; STN, noyau sous-thalamique. Figure provenant de Parent et collègues (2000).



### 1.2.3.2. Dans des états pathologiques

#### 1.2.3.2.1. Maladie de Parkinson

Dans la MP (Figure 1.9), la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la SNc entraîne un déficit en DA au niveau du striatum (Parent *et al.*, 2000). N'étant plus inhibée, la voie indirecte prédomine sur la voie directe qui a perdu sa source excitatrice. Les neurones striataux à l'origine de la voie indirecte sont donc libres d'inhiber à leur guise les neurones du GPe. Le STN se trouve complètement désinhibé et il devient hyperactif. Cette hyperactivité cause une forte excitation des neurones GABAergiques du GPi et de la SNr. Les structures de sortie des GB sont ensuite poussées à inhiber davantage les neurones du thalamus. Sous cette contrainte inhibitrice, les neurones thalamiques prémoteurs sont dans l'impossibilité d'exercer leur action excitatrice sur les neurones corticaux impliqués dans l'initiation et l'exécution des mouvements. Suite à cette cascade d'évènements, il est possible d'observer la bradykinésie ou l'akinésie typique de la MP (Parent *et al.*, 2000).

#### 1.2.3.2.2. Maladie d'Huntington

Dans la MH (Figure 1.9), les neurones striataux de projection dégèrent, ce qui a pour conséquence finale de soustraire le GPe, le GPi et la SNr de l'action inhibitrice des MSN GABAergiques (Parent *et al.*, 2000). Cependant, les MSN striataux contenant de l'ENK sont affectés plus tôt et sont plus vulnérables à la dégénérescence que l'autre sous-population de neurones striataux. Lors des premiers stades de la MH, il est donc possible d'observer une augmentation de l'inhibition générée par le GPe, rendant le STN hypoactif. Le manque d'excitation des structures de sorties (GPi et SNr) entraîne une diminution de l'inhibition des neurones du thalamus. Sans contrainte inhibitrice, le thalamus répond à toutes sortes d'entrées excitatrices et excite lui-même davantage le cortex. Le patient atteint de la MH souffre donc d'une activité motrice excessive et incohérente à l'origine de l'hyperkinésie. La

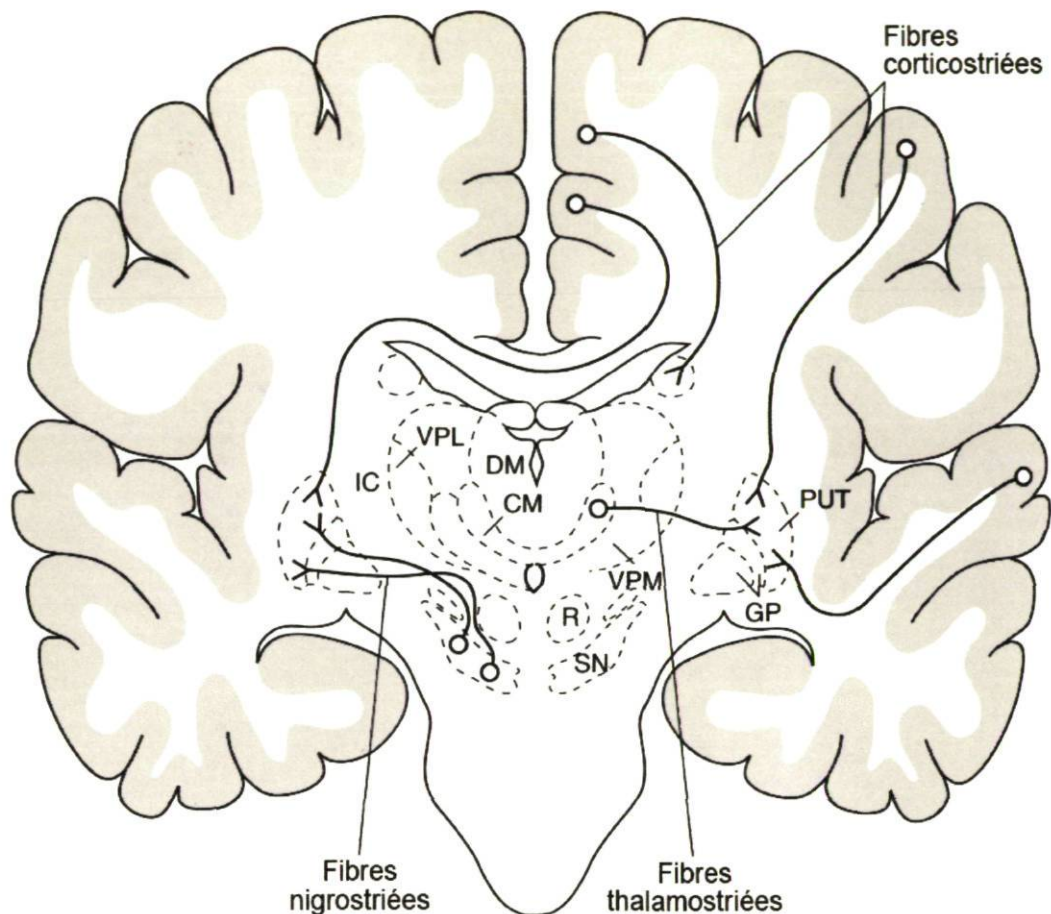
dégénérescence plus tardive des MSN striataux contenant de la SP et de la DYN serait responsable des troubles akinétiques et rigides similaires à la MP qui surviennent dans les stades plus avancés de la MH (Parent *et al.*, 2000).



## 1.3. L'IMPLICATION DE DIFFÉRENTS SYSTÈMES DE NEUROTRANSMETTEURS

### 1.3.1. LES CONNEXIONS AFFÉRENTES AU STRIATUM

Les projections de diverses structures cérébrales impliquées à différents degrés dans le contrôle du comportement moteur convergent en un point stratégique; le striatum (Figure 1.10). La provenance et la nature distinctives de ces afférences rendent le striatum accessible à une variété de systèmes chimiospécifiques pouvant l'influencer. Les afférences glutamatergiques du cortex cérébral prédominent; toutes les aires du cortex cérébral projettent au striatum. Tel que mentionné précédemment, les projections corticostriatales imposent au striatum une subdivision en territoires fonctionnels. Les projections glutamatergiques du thalamus constituent la deuxième source d'afférences striatales la plus importante (Parent, 1996). Tous les noyaux intralaminaires du thalamus émettent des projections au striatum, le complexe CM/Pf étant la principale source (Cowan et Powell, 1956; Jones et Leavitt, 1974; Parent *et al.*, 1983). Le noyau centromédian projette principalement au territoire striatal sensorimoteur alors que les afférences du noyau parafasciculaire se terminent dans le territoire associatif (Parent *et al.*, 1983; Sadikot *et al.*, 1990; Sadikot *et al.*, 1992). Le noyau intralaminaire antérieur innerve le NA (Cowan et Powell, 1956). Les projections dopaminergiques de la SNc, de l'ATV et de l'aire rétro-rubrale représentent une autre source d'afférences striatales. Les neurones de la SNc et de l'aire rétro-rubrale sont responsables de l'innervation de la majeure partie du striatum, c'est-à-dire le CD et le PUT. Pour sa part, l'ATV à l'origine de la voie mésolimbique envoie des projections au NA (Carpenter et Peter, 1972). Les afférences sérotoninergiques en provenance des noyaux du raphé contribuent également à l'innervation du striatum (Lavoie et Parent, 1990). Plus précisément, le CD et le PUT sont innervés par le DR alors que le NA reçoit des projections du DR et du MnR (Azmitia et Segal, 1978; Jacobs et Azmitia, 1992; Van Bockstaele *et al.*, 1993). De plus, les neurones situés dans la portion basolatérale de l'amygdale projettent aussi au striatum, principalement dans le striatum ventral et en parti dans la tête du



**Figure 1.10. Principaux systèmes d'afférences striatales**

Schéma d'une section frontale (transversale) du cerveau humain illustrant les principales connexions afférentes au striatum. Les projections corticostriatales proviennent de toutes les aires corticales. L'innervation thalamostriatale émerge principalement du complexe centromédian/parafasciculaire du thalamus. Les neurones de la substance noire compacte donnent naissance à la voie nigrostriée. Abréviations : CM, noyau centromédian du thalamus; DM, noyau dorsomédian du thalamus; GP, globus pallidus; IC, capsule interne; PUT, putamen; R, noyau rouge; SN, substance noire; VPL et VPM, noyaux ventraux postérolatéral et postéromédian du thalamus. Figure provenant de Parent (1996).



CD et la portion rostrale du PUT (Russchen *et al.*, 1985). Finalement, il a été démontré que des neurones du PPN contactent ceux du striatum (Lee *et al.*, 1988).

### 1.3.2. DES INTERACTIONS ENTRE LES SYSTÈMES DOPAMINERGIQUE ET SÉROTONINERGIQUE

Parmi les différents systèmes neuronaux chimiospécifiques innervant le striatum, deux d'entre eux suscitent un intérêt particulier; le système dopaminergique et le système sérotoninergique. Le système dopaminergique nigrostrié a fait l'objet de nombreuses études étant donné son implication dans la MP. Pour sa part, l'innervation sérotoninergique du striatum a été plutôt négligée; son rôle dans le contrôle de la motricité demeure incompris à ce jour. L'intérêt porté à l'étude de ces deux systèmes provient de travaux ayant soulevé la question d'un lien fonctionnel entre les systèmes dopaminergique et sérotoninergique (voir revue Di Giovanni *et al.*, 2008). Certains groupes suggèrent que les deux systèmes agissent de concert (Benloucif et Galloway, 1991; Benloucif *et al.*, 1993; Scholtissen *et al.*, 2006) alors que d'autres proposent plutôt une relation antagoniste (Di Giovanni *et al.*, 1999; Sershen *et al.*, 2000; De Deurwaerdere *et al.*, 2004). En effet, Benloucif et Galloway ont démontré dans une première étude que l'administration d'agonistes du récepteur sérotonine (5-HT) 1 facilitait la relâche de DA dans le striatum antérieur chez le rat (Benloucif et Galloway, 1991). Puis, lors d'une seconde étude, ils ont approfondi leur recherche en déterminant l'ordre de sélectivité des récepteurs 5-HT pour la relâche de DA :  $5\text{-HT}_{1b} > 5\text{-HT}_4 \gg 5\text{-HT}_2 = 5\text{-HT}_{1a}$  (Benloucif *et al.*, 1993). Dans un même ordre d'idées, un autre groupe a remarqué une relation agoniste entre les systèmes dopaminergique et sérotoninergique puisque l'administration d'agonistes 5-HT provoquait une réponse motrice similaire à celle d'agonistes DA chez des rats contrôles et 6-hydroxydopamine (6-OHDA), un modèle animal de la MP (Scholtissen *et al.*, 2006). À l'opposé, les résultats électrophysiologiques et de microdialyse de Di Giovanni et collègues (1999) suggèrent que le système sérotoninergique exerce un contrôle inhibiteur tonique sur les voies dopaminergiques mésolimbique et

nigrostriée via les récepteurs 5-HT<sub>2C/2B</sub>. D'autres résultats démontrent que la relâche de DA dans le striatum est modulée par différents récepteurs 5-HT, le récepteur 5-HT<sub>2</sub> ayant un effet inhibiteur (Sershen *et al.*, 2000). Les observations effectuées par ces deux groupes sont appuyées par les résultats de De Deurwaerdere et collègues (2004) apportant des indications que l'activité constitutive du récepteur 5-HT<sub>2C</sub> inhibe de façon tonique les neurones dopaminergiques du mésencéphale. Ces résultats contradictoires soulignent le flou qui existe actuellement en ce qui a trait à la nature de l'interaction des deux systèmes. Une meilleure connaissance du lien qui existe entre le système dopaminergique et le système sérotoninergique nous permettrait de mieux comprendre l'implication de cette interaction fonctionnelle dans le contrôle du comportement moteur et par le fait même, dans les physiopathologies des GB.

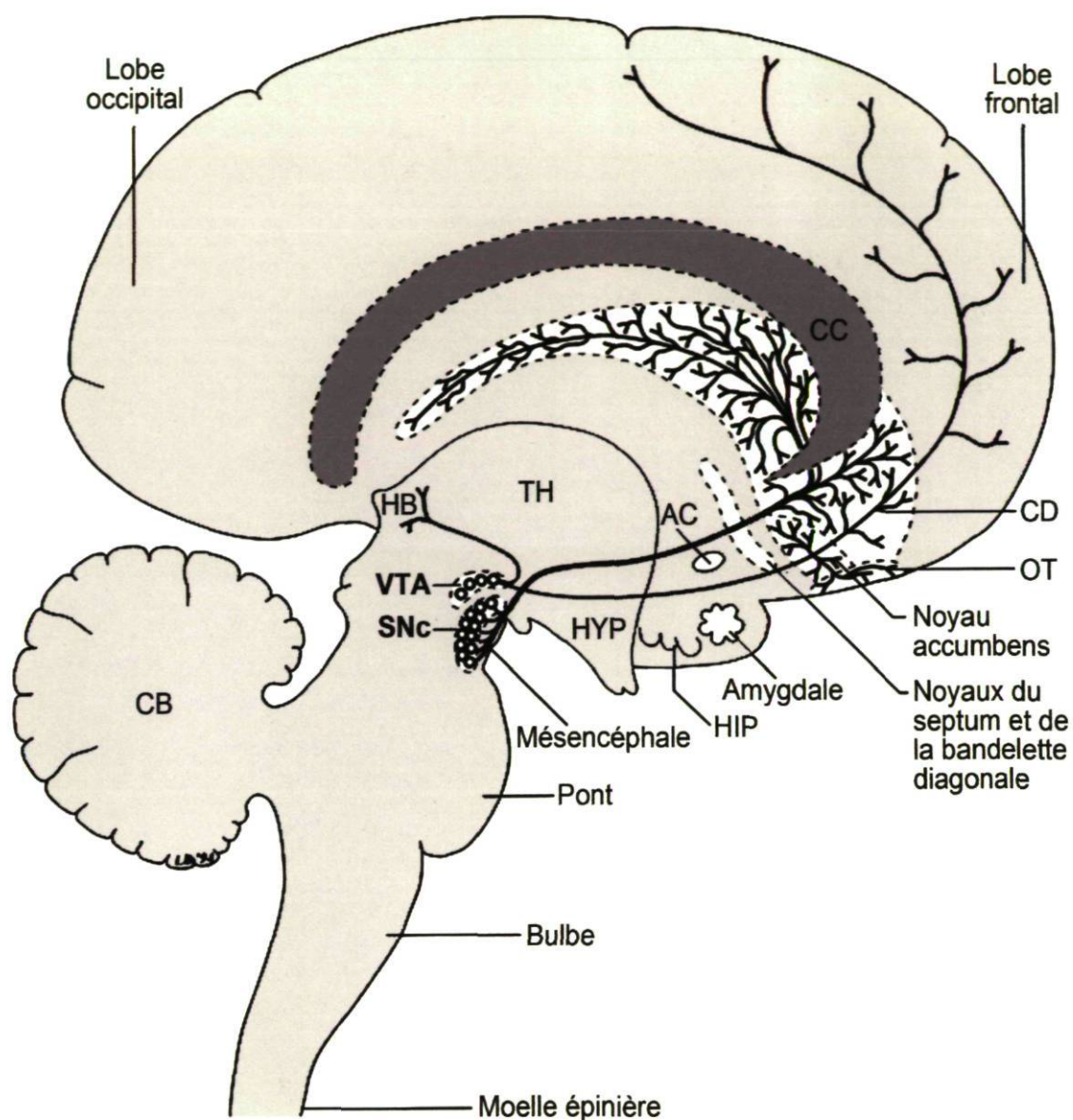
### 1.3.3. LE SYSTÈME DOPAMINERGIQUE

La DA a longtemps été considérée comme un simple précurseur de la noradrénaline et de l'adrénaline. En 1957, le Suédois Arvid Carlsson a découvert que la DA agissait plutôt à titre de neurotransmetteur à part entière et qu'elle avait un rôle central dans la régulation de nombreuses fonctions du cerveau (Carlsson *et al.*, 1957; Carlsson *et al.*, 1958), une découverte qui lui valut le prix Nobel de médecine et physiologie en 2000. Des études ont démontré que la majorité de la DA cérébrale est confinée aux GB. À partir de cette observation, des groupes de recherche ont émis l'hypothèse que la DA pouvait être impliquée dans le contrôle de la motricité et qu'un manque de DA serait la cause des symptômes extrapyramidaux de la MP (Cooper *et al.*, 2003). La découverte de Carlsson a donc mené aux premiers essais cliniques d'une thérapie pharmacologique de remplacement faisant usage de L-dopa comme précurseur de la DA pour les patients souffrant de MP (Birkmayer et Hornykiewicz, 1961). La DA est également impliquée dans une multitude de fonctions cérébrales allant de l'apprentissage et la mémoire à la motivation et aux comportements émotionnels (Goto *et al.*, 2007).



La synthèse de la DA se fait à partir de l'acide aminé tyrosine (Purves *et al.*, 2003). La TH, l'enzyme limitant la vitesse de la synthèse, transforme la tyrosine en L-dopa et cette dernière est ensuite décarboxylée en DA par la dopa décarboxylase. Cette voie métabolique mène également à la synthèse de la noradrénaline et de l'adrénaline. La DA n'est plus disponible dans la fente synaptique lorsque le transporteur de la DA, DAT, procède à sa recapture. La monoamine oxydase et la catéchol O-méthyltransférase participent au catabolisme de la DA en produisant le métabolite final acide homovanilique (Purves *et al.*, 2003).

La DA est transmise par des neurones dopaminergiques se trouvant dans de nombreux noyaux et formant principalement trois voies; la voie tubéroinfundibulaire, la voie mésolimbocorticale et la voie nigrostriée (Parent, 1996). La voie tubéroinfundibulaire origine du noyau arqué de l'hypothalamus et se termine dans l'éminence médiane et dans la tige infundibulaire. La DA relâchée par les neurones de la voie tubéroinfundibulaire agit à titre d'inhibiteur de la relâche de prolactine par l'adénohypophyse. La voie mésolimbocorticale, quant à elle, est formée des neurones de l'ATV dont les fibres s'arborescent principalement dans le striatum ventral (incluant le NA), le tubercule olfactif, l'amygdale et le cortex préfrontal (Figure 1.11) (Parent, 1996). Cette voie est associée aux processus de cognition, de motivation, de renforcement, de récompense ainsi qu'aux comportements émotionnels (Cooper *et al.*, 2003). Les neurones de la SNc et de l'aire rétro-rubrale donnent naissance à la voie nigrostriée dont les fibres projettent pratiquement partout dans le CD et le PUT, excepté dans leur portion ventrale (Figure 1.11). Cette voie, tel que mentionné précédemment, participe activement au contrôle de la motricité. Les répercussions d'une altération dans la voie nigrostriée ont largement été démontrées dans la MP, mais il reste à savoir si cette voie subit un sort similaire dans la MH.



**Figure 1.11. Innervation dopaminergique**

Schéma d'une section parasagittale du cerveau humain comparant les projections dopaminergiques de la voie mésolimbocorticale et de la voie nigrostriée. Les neurones de l'aire tegmentale ventrale (VTA) projettent au striatum ventral, au tubercule olfactif (OT), ainsi qu'à l'amygdale et au cortex préfrontal tandis que les neurones de la substance noire compacte (SNC) envoient des afférences essentiellement au striatum. Abréviations : AC, commissure antérieure; CB, cervelet; CC, corpus callosum; CD, noyau caudé; HIP, formation hippocampale; HYP, hypothalamus; HB, habénula; TH, thalamus. Figure provenant de Parent (1996).



### 1.3.3.1. Implication dans la maladie de Parkinson

La dégénérescence de la voie dopaminergique nigrostriée constitue un signe pathologique de la MP. Il va sans dire qu'une diminution prononcée des niveaux dopaminergiques striataux a été documentée dans une multitude d'études biochimiques effectuées sur du matériel post-mortem. Ces études ont également démontré que le contenu dopaminergique du PUT est sujet à une déplétion plus sévère que celui du CD, alors que les niveaux en DA du NA demeurent inchangés jusque dans les stades plus avancés de la maladie (Bernheimer *et al.*, 1973; Price *et al.*, 1978; Hornykiewicz et Kish, 1987; Kish *et al.*, 1988; Wilson *et al.*, 1996). La déplétion en DA s'avère toujours plus sévère que la perte neuronale observée dans la SN (Agid, 1991). Dans les cas plus avancés de MP, la déplétion en DA striatale peut être presque totale (Bernheimer *et al.*, 1973). Les autres marqueurs biochimiques des neurones dopaminergiques présynaptiques sont également réduits; c'est le cas de la TH et de la dopa décarboxylase (Lloyd et Hornykiewicz, 1970; Lloyd *et al.*, 1975; Nagatsu *et al.*, 1977), des métabolites dopaminergiques acide homovanilique, acide dihydroxyphénylacétique et 3-méthoxytyramine (Bernheimer *et al.*, 1973; Rinne *et al.*, 1974; Price *et al.*, 1978; Scatton *et al.*, 1983; Kish *et al.*, 1986) ainsi que du DAT (Pimoule *et al.*, 1983). De plus, une altération du système dopaminergique mésolimbique a été rapportée chez des patients souffrant de MP (Javoy-Agid et Agid, 1980; Uhl *et al.*, 1985).

### 1.3.3.2. Implication dans la maladie d'Huntington

Le sort du système dopaminergique dans la MH n'est pas clair; des résultats contradictoires sont rapportés à ce sujet. Premièrement, des analyses quantitatives de la SN ont révélé une diminution dans la population neuronale chez les patients MH (Oyanagi *et al.*, 1989; Richardson, 1990), tandis qu'une étude similaire n'a observé aucun changement significatif (Bernheimer *et al.*, 1973). Différentes études biochimiques effectuées en post-mortem ont rapporté des résultats inconsistants; les

niveaux en DA striatale s'avéraient soit diminués (Kish *et al.*, 1987), augmentés (Spokes, 1980) ou inchangés (Bird et Iversen, 1974) chez les patients MH comparativement à des individus contrôles. Néanmoins, un certain nombre d'études sont en accord pour suggérer une atrophie de la SN (Oyanagi *et al.*, 1989; Gibb, 1991; Vonsattel *et al.*, 2008) et d'autres proposent qu'une altération du système dopaminergique nigrostrié se produit dans le cerveau de patients MH (Ferrante et Kowall, 1987; Ginovart *et al.*, 1997; Bohnen *et al.*, 2000; Suzuki *et al.*, 2001; Yohrling *et al.*, 2003).

#### 1.3.4. LE SYSTÈME SÉROTONINERGIQUE

À l'origine, la 5-HT a été identifiée comme un facteur vasoconstricteur présent dans le sérum, d'où l'allusion au mot « tonus » dans son appellation (Purves *et al.*, 2003). Sa présence dans le système nerveux central des mammifères a été découverte par la suite, dans les années 1950. La distribution ubiquitaire de la 5-HT fait de cette monoamine un neurotransmetteur impliqué dans la régulation d'une variété de fonctions comportementales et physiologiques, notamment le cycle veille-sommeil, la douleur, l'appétit, l'anxiété, la dépression, l'agressivité et la dépendance aux drogues (Hornung, 2003).

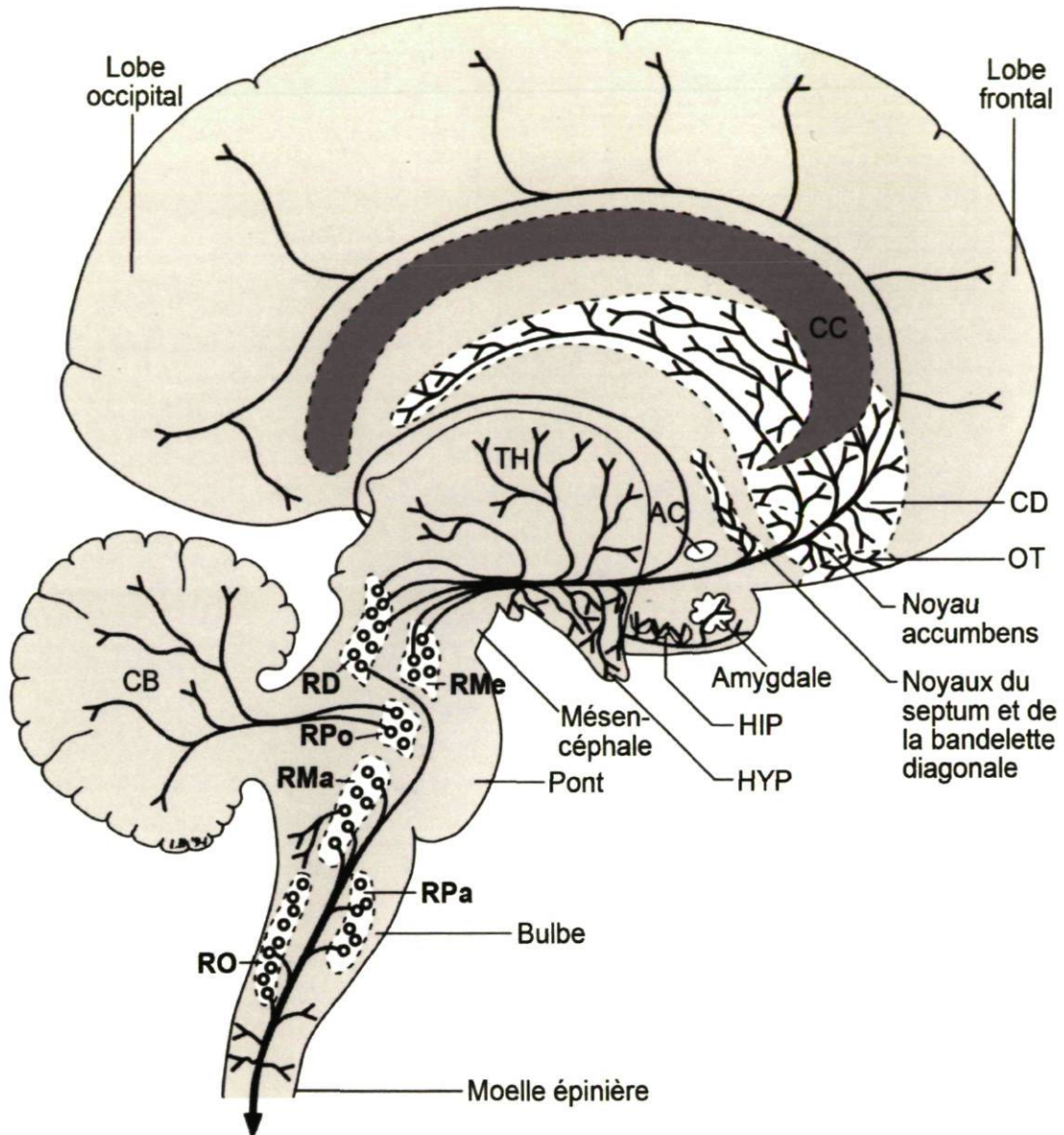
La 5-HT est synthétisée à partir du tryptophane, un acide aminé essentiel provenant de l'alimentation (Purves *et al.*, 2003). Le tryptophane pénètre à l'intérieur du neurone grâce à l'action d'un transporteur situé dans la membrane plasmique pour y être hydroxylé par l'enzyme tryptophane hydroxylase. Le produit de cette réaction est ensuite décarboxylé par la décarboxylase des acides aminés aromatiques pour obtenir la 5-HT. Suite à son relâchement dans la fente synaptique, un transporteur spécifique, SERT, recapture la 5-HT, mettant ainsi fin à son activité synaptique. Le catabolisme de la 5-HT par la monoamine oxydase produit le métabolite acide 5-hydroxyindolacétique (5-HIAA) (Purves *et al.*, 2003).



Un petit groupe de neurones est à l'origine de la production de la sérotonine; il s'agit des neurones des noyaux du raphé situés dans le tronc cérébral (Figure 1.12). Ces noyaux peuvent être divisés en deux grands groupes, puis sous-divisés en six petits groupes : a) le groupe rostral comprenant le DR, le MnR et le noyau raphé pontis, et b) le groupe caudal englobant les noyaux raphé magnus, raphé pallidus et raphé obscurus (Felten et Sladek, 1982). Le groupe caudal contient 15% de la population totale des neurones sérotoninergiques et envoie des projections descendantes vers la partie inférieure du tronc cérébral et vers la moelle épinière. Le groupe rostral compte 85% de la population des neurones sérotoninergiques et émet des projections ascendantes qui s'arborescent principalement dans le cerveau antérieur (Hornung, 2003). Malgré la vaste étendue de l'innervation sérotoninergique en provenance des noyaux du raphé, les régions du système nerveux central impliquées dans la motricité, dont les GB, semblent davantage ciblées (Steinbusch, 1981). Le DR et, dans une moindre mesure, le MnR innervent toutes les principales composantes du circuit des GB; le striatum, le GP, la SN, le NST, le PPN, le NA, le thalamus et les cortex moteurs. Ces données indiquent que le système sérotoninergique joue un rôle important dans le contrôle de la motricité, de sorte qu'une altération de ce système pourrait être impliquée dans la genèse ou l'évolution de pathologies des GB, dont la MP et la MH (Di Matteo *et al.*, 2008).

#### *1.3.4.1. Implication dans la maladie de Parkinson*

En plus des troubles moteurs caractéristiques de la MP, les patients présentant cette pathologie souffrent notamment de dépression et d'atteinte cognitive nuisant considérablement à leur qualité de vie (Brown et MacCarthy, 1990; Aarsland *et al.*, 1999; Poewe et Luginger, 1999). Cependant, l'occurrence de ces troubles secondaires ne semble pas être due à la dégénérescence dopaminergique, mais elle serait davantage la conséquence d'un déficit sérotoninergique (Kish, 2003). Différentes études neuropathologiques et biochimiques supportent cette hypothèse d'une altération du système sérotoninergique chez les patients atteints de MP.



**Figure 1.12. Innervation sérotoninergique**

Schéma d'une section parasagittale du cerveau humain illustrant l'arborisation ascendante et descendante des axones sérotoninergiques des noyaux du raphé. Les noyaux raphé du groupe caudal projettent majoritairement à la partie inférieure du bulbe rachidien et à la moelle épinière, tandis que ceux du groupe dorsal donnent naissance à des projections ascendantes qui s'arborescent abondamment dans le thalamus, l'hypothalamus et les hémisphères cérébraux. Abréviations : AC, commissure antérieure; CB, cervelet; CC, corpus callosum; CD, noyau caudé; HIP, formation hippocampale; HYP, hypothalamus; OT, tubercule olfactif; RD, noyau raphé dorsal; RMa, noyau raphé magnus; RMe, noyau raphé médian; RO, noyau raphé obscurus; RPa, noyau raphé pallidus; RPo, noyau raphé pontis; TH, thalamus. Figure provenant de Parent (1996).



Premièrement, des études morphologiques de cerveaux autopsiés ont démontré une perte neuronale de l'ordre de 40% dans le DR (Jellinger, 1987) de patients à des stades avancés de MP et de 56% dans le MnR (Halliday *et al.*, 1990). En accord avec cette perte cellulaire, une déplétion des différents marqueurs de 5-HT a été observée dans le striatum de patients MP (Bernheimer *et al.*, 1961; Scatton *et al.*, 1983; Birkmayer et Birkmayer, 1987; Wilson *et al.*, 1996; Calon *et al.*, 2003; Kish *et al.*, 2008). Une diminution dans les sites de liaisons de SERT au niveau du striatum a aussi été notée suite à des études autoradiographiques en post-mortem (Cash *et al.*, 1985; Raisman *et al.*, 1986; Chinaglia *et al.*, 1993) ainsi que dans des investigations par neuroimagerie chez des patients MP (Kerenyi *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2003; Guttman *et al.*, 2007). Cependant, différentes études effectuées chez des modèles animaux adultes de MP ont remarqué une hyperinnervation sérotoninergique dans le striatum suite à une lésion du système dopaminergique nigrostrié (Gaspar *et al.*, 1993; Guerra *et al.*, 1997; Rozas *et al.*, 1998; Balcioglu *et al.*, 2003; Maeda *et al.*, 2005).

#### *1.3.4.2. Implication dans la maladie d'Huntington*

En comparaison à la MP, l'implication du système sérotoninergique dans la MH n'a reçu qu'une faible attention. Il semble que seulement deux études biochimiques datant de la fin des années 1980 traitent de cette question. Les travaux de Kish et ses collègues (1987) à l'Université de Toronto ont démontré une augmentation de la concentration de 5-HT striatale suite à une analyse post-mortem de cerveaux MH. Un autre groupe a observé une augmentation de la 5-HT et de son métabolite 5-HIAA dans le PUT de cerveaux MH post-mortem (Reynolds et Pearson, 1987). Les deux groupes ont cependant conclu que l'augmentation observée était une conséquence de l'atrophie striatale se produisant dans la MH, ayant pour effet d'augmenter la densité relative des terminaisons neuronales. Les résultats de ces deux groupes suggèrent donc que le système sérotoninergique serait préservé dans la MH.

## 1.4. OBJECTIFS DE RECHERCHE

Le peu d'information ainsi que les résultats conflictuels que renferme la littérature scientifique au sujet de l'état des systèmes dopaminergique et sérotoninergique dans la MP et la MH nous ont conduits à entreprendre une étude quantitative comparée de l'innervation dopaminergique et sérotoninergique du striatum chez des patients ayant souffert de ces maladies neurodégénératives qui affectent le comportement moteur de façon tout à fait opposée.

À cette fin, les densités et les patrons de l'innervation dopaminergique et sérotoninergique ont été évalués dans le striatum de patients MP et MH en les comparant à celui d'individus sains appariés pour l'âge. Une méthode immunohistochimique a été appliquée à du tissu post-mortem humain afin de révéler la TH ou le SERT, respectivement utilisés comme marqueurs des profils axonaux dopaminergiques et sérotoninergiques. Dans un premier temps, des mesures de densité optique ont été prises dans les sections immunomarquées du striatum à des niveaux précommissural, commissural et postcommissural. Cette approche semi-quantitative a ensuite été validée par une évaluation quantitative du nombre de varicosités axonales marquées dans un échantillon des cerveaux employés dans cette étude.



## CHAPITRE 2. ALTERATION OF DOPAMINE AND SEROTONIN STRIATAL AFFERENTS IN PARKINSON'S AND HUNTINGTON'S DISEASES

Catherine Bédard<sup>1</sup>, Marie-Josée Wallman<sup>1</sup>, Emmanuelle Pourcher<sup>1,2</sup>,  
André Parent<sup>1</sup>, Martin Parent<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centre de recherche Université Laval Robert-Giffard and  
<sup>2</sup>Quebec Memory & Skills Disorders Research Center, Clinique Sainte-Anne  
Québec, QC, Canada

**Running title :** Dopamine and serotonin in human striatum

**\*Correspondence to :** Martin Parent, Ph.D.  
Centre de recherche Université Laval Robert-Giffard  
2601, de la Canardière, Local F-6500  
Quebec, QC, Canada  
G1J 2G3  
Tel: (418) 663-5747; Fax: (418) 663-8756  
E-mail : Martin.Parent@crulrg.ulaval.ca

*Brain* (soumis le 2 février 2010)

## 2.1. RÉSUMÉ

Contrairement à la dopamine (DA), le rôle de la sérotonine (5-HT) dans les maladies neurodégénératives affectant les ganglions de la base est mal connu. L'objectif de cette étude était donc de caractériser l'état de l'innervation DA et 5-HT du striatum chez des patients ayant souffert de la maladie de Parkinson (MP) ou de la maladie d'Huntington (MH) en comparaison avec des individus contrôles appariés pour l'âge. Des anticorps contre la tyrosine hydroxylase (TH) et le transporteur de la sérotonine (SERT) ont été utilisés comme marqueurs des profils axonaux DA et 5-HT, respectivement. La densité et les patrons de l'innervation DA et 5-HT ont été déterminés en examinant des sections coronales du striatum afin de détecter des variations dans la densité optique. Cette approche semi-quantitative a été validée par des estimations stéréologiques de la densité des varicosités axonales marquées. Une diminution significative de l'intensité du marquage TH accompagnée d'une baisse dans la densité des varicosités axonales TH+ a été notée à travers tout le striatum des patients atteints de MP et de MH. À l'opposé, l'intensité du marquage SERT et la densité des varicosités axonales SERT+ étaient augmentés dans le striatum des patients souffrant de MP et de MH. Ces résultats indiquent que la voie dopaminergique nigrostriée est significativement altérée dans la MH, comme dans la MP. Cependant, l'altération présente dans la MH pourrait être secondaire à la perte massive des neurones épineux de taille moyenne, lesquels sont les cibles principales des axones DA. L'augmentation de l'innervation 5-HT striatale observée dans la MP pourrait être due à un mécanisme neuronal compensant pour la dénervation DA. Dans la MH, l'atrophie striatale prononcée pourrait expliquer l'augmentation de la densité de l'innervation 5-HT striatale remarquée dans cette maladie. Les résultats de notre étude suggèrent l'existence d'une interaction complexe entre les systèmes DA et 5-HT au niveau striatal pour assurer un contrôle fiable et adéquat du comportement moteur.



## 2.2. ABSTRACT

In contrast to our vast knowledge of the dopamine (DA) system, much less is known about the involvement of serotonin (5-HT) in neurodegenerative diseases affecting the basal ganglia. Therefore, we designed a study that aimed at characterizing the status of the DA and 5-HT systems that innervate the striatum in patients deceased with Parkinson's (PD) or Huntington's disease (HD), compared to age-matched controls. Antibodies against tyrosine hydroxylase (TH) and 5-HT transporter (SERT) were used as markers of DA and 5-HT axonal profiles, respectively. The density and pattern of TH and SERT immunoreactive axons were determined by scanning coronal sections of the striatum at pre-commissural, commissural and post-commissural levels to detect optical density variations. This semi-quantitative approach was validated and complemented by direct stereological estimates of the density of labeled axon varicosities. A significant diminution of TH immunoreactivity accompanied by a decrease in the density of TH+ terminals occurred throughout the entire extent of the striatum in both PD and HD patients. In contrast, the intensity of SERT immunostaining and the density of SERT+ axon varicosities were increased in the striatum of PD and HD patients compared to controls. These findings indicate that the nigrostriatal DA system is significantly altered in both PD and HD. However, in contrast to PD, where DA depletion is thought to be the primary cause of the disease, the DA system alteration observed in HD might be secondary to the massive loss of medium-sized spiny projection neurons, which are the major targets of DA axons. The increase in striatal 5-HT innervation observed in PD might be part of a neuronal mechanism designed to compensate for the DA denervation. In HD, the marked atrophy of the striatum might explain, at least in part, the increase in the density of the 5-HT innervation. Altogether, these findings suggest a complex relationship between DA and 5-HT systems at striatal level to ensure a reliable motor control.

## 2.3. INTRODUCTION

Parkinson's (PD) and Huntington's diseases (HD) are two neurodegenerative disorders that affect distinct regions of the basal ganglia and are characterized by opposite motor anomalies. In PD, the progressive loss of dopaminergic neurons of the substantia nigra (SN) produces a depletion of striatal dopamine (DA) (Ehringer and Hornykiewicz, 1960), the major clinical manifestation of which is poverty of movement (hypokinesia) (Obeso *et al.*, 2002; Olanow *et al.*, 2009). In HD, the massive death of medium-sized spiny projection neurons (MSPN) of the striatum causes a marked atrophy of this major recipient structure of the basal ganglia (Vonsattel *et al.*, 1985; Vonsattel *et al.*, 2008), a lesion that translates itself clinically by an excess of involuntary movement (hyperkinesia) (Purdon *et al.*, 1994; Adam and Jankovic, 2008).

The physiopathology of the nigrostriatal DA system has received a wide attention, but the other chemospecific neurotransmitter systems also known to be involved in PD have been relatively neglected (Scatton *et al.*, 1983; Agid, 1991; Miyawaki *et al.*, 1997). This is particularly the case of the massive striatal serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) input, which originates from midbrain raphe nuclei but whose role in motor control is still poorly understood. Previous studies have drawn attention on the possibility of a close functional link between the DA and the 5-HT midbrain-striatal systems (for review, see Di Giovanni *et al.*, 2008). Whether these two systems act in concert (Benloucif and Galloway, 1991; Benloucif *et al.*, 1993; Scholtissen *et al.*, 2006) or in an antagonist manner (Di Giovanni *et al.*, 1999; Sershen *et al.*, 2000; De Deurwaerdere *et al.*, 2004) remains unclear. In any event, the interplay between these two monoaminergic systems appears to be an important feature of the physiopathology of basal ganglia (for review, see Di Matteo *et al.*, 2008).

The marked decrease of striatal DA concentration in PD has been documented by multitudinous post-mortem biochemical assays, which revealed that the putamen is more severely affected than the caudate nucleus, while the DA content in the



nucleus accumbens remains relatively well preserved until late in the disease (see Agid, 1991; Hornykiewicz, 2001; Schulz and Falkenburger, 2004). Post-mortem biochemical studies yielded much more inconsistent results in HD cases, where DA striatal levels were found to be either decreased (Kish *et al.*, 1987), increased (Spokes, 1980) or unchanged (Bird and Iversen, 1974). The number of SN neurons were either reduced (Oyanagi *et al.*, 1989; Richardson, 1990) or unchanged (Bernheimer *et al.*, 1973) in HD. Evidence for SN atrophy (Oyanagi *et al.*, 1989; Gibb, 1991; Vonsattel *et al.*, 2008) and nigrostriatal DA system impairment (Ferrante and Kowall, 1987; Ginovart *et al.*, 1997; Bohnen *et al.*, 2000; Suzuki *et al.*, 2001; Yohrling *et al.*, 2003) have also been gathered in HD brains.

Reports of neuronal losses in dorsal (Jellinger, 1987) and median (Halliday *et al.*, 1990) midbrain raphe nuclei in post-mortem PD brains have called attention upon the possible involvement of the 5-HT system in this neurodegenerative disease. Congruent with such cell losses is the depletion of various biochemical 5-HT markers in the striatum of PD patients (Bernheimer *et al.*, 1961; Scatton *et al.*, 1983; Birkmayer and Birkmayer, 1987; Wilson *et al.*, 1996; Kish *et al.*, 2008). Furthermore, autoradiographic post-mortem studies reported a decrease in 5-HT transporter (SERT) binding sites PD striatum (Cash *et al.*, 1985; Raisman *et al.*, 1986; Chinaglia *et al.*, 1993), a finding confirmed in living PD patients by neuroimaging procedures (Kerenyi *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2003; Guttman *et al.*, 2007). Although all these findings point to a significant impairment of the 5-HT striatal innervation in human idiopathic PD, a certain degree of hyperinnervation of the striatum by 5-HT axons has been reported following lesion of the nigrostriatal DA system in various adult animal models of PD (Gaspar *et al.*, 1993; Guerra *et al.*, 1997; Rozas *et al.*, 1998; Balcioglu *et al.*, 2003; Maeda *et al.*, 2005). By comparison to the situation in PD, little is known of the involvement of the 5-HT midbrain-striatal system in HD, except for two biochemical studies that reported an increase in striatal 5-HT levels in HD patients (Kish *et al.*, 1987; Reynolds and Pearson, 1987).

In the light of the paucity and conflicting nature of these results, it was thought of interest to acquire quantitative data on the status of the striatal DA and 5-HT innervation in PD and HD patients compared to age-matched controls. Distribution and density of DA and 5-HT striatal innervation in each group were evaluated by means of optical density measurements of tyrosine hydroxylase (TH) and SERT immunoreactivity. This approach was complemented and validated by stereological counts of the number of immunoreactive axon varicosities.



## 2.4. MATERIAL AND METHODS

### 2.4.1. TISSUE COLLECTION

The post-mortem material used in this study was gathered from the brains of 24 individuals: 5 patients who had PD together with 10 age-matched controls, and 4 patients who suffered from HD together with 5 age-matched controls (Tables 2.1 and 2.2). Fifteen supplementary controls were used to determine the correlation coefficient (data not included in Table 2.1). In the present study, all PD and HD patients satisfied clinical and neuropathological criteria well established for idiopathic PD or HD. The PD patients were at stage 4 or 5 on the Hoehn and Yahr scale (Hoehn and Yahr, 1967), and two of them displayed L-dopa-induced dyskinesia, while two other had a medical history of depression. All HD patients had a positive family history and they were characterized as either grade 3 or 4 according to the Vonsattel's scale (Vonsattel et al., 1985). The striatal atrophy was documented by magnetic resonance imaging at least 10 years before the death of the HD patients, who all displayed choreic movements and severe cognition impairment at the time of death. The post-mortem neuropathological examination of the brains confirmed the marked atrophy of the striatum and histological analyses revealed an important neuronal loss combined with a compensatory gliosis at striatal level, without other major neuropathological signs. The major clinicopathological features of PD and HD patients used in the present study are summarized in Table 2.2. Individuals used as controls had no clinical or pathological signs of neurological or psychiatric diseases. Tissue samples were obtained from the brain bank of the Centre de Recherche Université Laval Robert-Giffard, which required informed consent before donation of tissues. The Ethics Committee at Université Laval approved the brain collecting procedures, as well as the storage and handling of post-mortem human brain tissues. The brains were sliced in half along the midline; one half was used for neuropathological examination, while the other served for immunohistochemical investigation as described previously (Huot et al., 2007). Our analysis was performed on sections

Brain	Sex	Age (years)	Post-mortem delay (h)	Cause of death
<b>Controls for Parkinson's disease</b>				
C <sub>1</sub>	M	82	18	Trauma
C <sub>2</sub>	M	85	24	Internal hemorrhage
C <sub>3</sub>	F	81	18	Asphyxia
C <sub>4</sub>	M	75	18	Asphyxia
C <sub>5</sub>	F	80	18	Trauma
C <sub>6</sub>	F	80	12	Pulmonary edema
C <sub>7</sub>	M	73	20	Trauma
C <sub>8</sub>	M	71	20	Myocardial infarction
C <sub>9</sub>	M	70	20	Myocardial infarction
C <sub>10</sub>	M	67	20	Trauma
<b>Controls for Huntington's disease</b>				
C <sub>11</sub>	M	43	8	Aortic rupture
C <sub>12</sub>	M	49	16	Trauma
C <sub>13</sub>	M	55	18	Pulmonary edema
C <sub>14</sub>	F	51	6	Abdominal aortic aneurysm
C <sub>15</sub>	F	52	9	Coronary athérosclerosis

**Table 2.1. Clinical data on the control brains used in this study**



Brain	Sex	Age (years)	Post-mortem delay (h)	Cause of death	Duration of the disease (years)	L-Dopa dose (mg/d)*	Dyskinesia	Lewy bodies	
								SN	LC
Parkinson's disease									
PD <sub>1</sub>	M	78	10	Pelvic fracture	6	375	No	Yes	Yes
PD <sub>2</sub>	M	82	3	Multiple fractures	16	225	Yes	Yes	Yes
PD <sub>3</sub>	M	78	2.5	Congestive heart & renal failures	9	350	?	Yes	No
PD <sub>4</sub>	F	68	14	Bronchoaspiration	19	500	No	Yes	Yes
PD <sub>5</sub>	M	68	17	Septic shock	11	825	Yes	Yes	No
Huntington's disease (Vonsattel grade)									
HD <sub>1</sub> (3/4)	F	43	3	Pneumonia	15				
HD <sub>2</sub> (4/4)	M	51	12	Bronchoaspiration	17				
HD <sub>3</sub> (4/4)	M	56	20	Pneumonia	21				
HD <sub>4</sub> (4/4)	F	52	10	Bronchoaspiration	20				

**Table 2.2. Clinical data on the pathological brains used in this study**

Abbreviations: LC, locus coeruleus; SN, substantia nigra. \*at time of death.

taken at three distinct anteroposterior levels of the striatum that can best be described by using the anterior commissure as a mid-landmark. These levels correspond to Figure 63 (pre-commissural), Figure 61 (commissural) and Figure 59 (post-commissural) of the human brain atlas of DeArmond et al. (1976).

## 2.4.2. IMMUNOHISTOCHEMISTRY

At each of the three anteroposterior levels, two sections were processed with standard immunostaining technique to reveal either TH or SERT. Sections were first placed in a solution of hydrogen peroxide and ethanol for 30 min at room temperature to eliminate endogenous peroxidase activity. They were then washed in PBS and blocked for 30 min at room temperature in a PBS solution containing 0.1% Triton X-100 and the appropriate serum (TH: 2% normal horse serum, SERT: 2% normal rabbit serum). The sections were then incubated overnight at room temperature with either the primary antibody directed against TH (1:500, mouse monoclonal antibody; ImmunoStar, Hudson, WI) or against SERT (1:100, goat polyclonal antibody; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA). The sections were rinsed in PBS and then incubated for 1 h at room temperature in a solution containing 0.44% of either biotinylated anti-mouse horse-made IgG or biotinylated anti-goat rabbit-made IgG (Vector Laboratories, Burlingame, CA). After extensive washing in PBS, the sections were re-incubated for 1 h at room temperature in 0.8% peroxidase-labeled avidin-biotin complex (ABC Standard kit, Vector). The bound peroxidase was revealed by incubating the sections for 3 min, at room temperature, in a 0.05% solution of 3,3'-diaminobenzidine (DAB; Sigma, St. Louis, MO) to which 0.005% hydrogen peroxide was added. Sections incubated without the primary antibody (TH or SERT) remained virtually free of immunostaining and served as controls. All sections were dehydrated and mounted onto dry gelatine-coated slides with Permount.



### 2.4.3. QUANTITATIVE ASSESSMENTS OF TH AND SERT INNERVATION

Because the human striatum receives a very dense DA and 5-HT innervation, it would have been too fastidious to evaluate systematically variations of these two types of innervation by counting individual TH and SERT-immunopositive (+) axon varicosities in sections of all specimens. This problem was circumvented by using a semi-quantitative method based on measurements of optical density of immunostained sections. Hence, several photomicrographs were taken within various sectors of the caudate nucleus, putamen and nucleus accumbens in each immunolabeled section, using a 10X/0.30 objective on a Leica Leitz DM RB light microscope (Leica, ON, Canada). In the case of TH labeling, the photomicrographs were taken within the TH-rich matrix compartment of the striatum. The smaller TH-poor striosomal compartment was not sampled because it yielded weak and highly variable optical density values. In the case of SERT labeling, the sampling was done without paying attention to the matrix and striosomal compartments since the striatal 5-HT innervation was rather uniform and did not obey the matrix/striosomal compartmentalization. The StereoInvestigator software (v. 7.00.2, MicroBrightField, Colchester, VT) was used to collect luminance information from the photomicrographs. To account for differences in background staining intensity, luminance measurements that served as references were taken in three regions lacking immunostained fibers. The optical density value was obtained by subtracting the mean value of these three reference points from the luminance measurement of the region of interest. Optical density measurements were validated by the optical fractionator approach on four sections taken from anterior and posterior levels of the striatum in two PD and two HD cases with their respective controls. This approach yield estimations of the number of TH+ and SERT+ axon varicosities in the same striatal sectors than those that were probed by optical density measurements. The sections were examined using a 100X/1.30 oil objective on a Leica DM 6000B light microscope equipped with a digital camera (Optronics microfire), a motorized stage (X and Y axes) and a Z-axis indicator (Leica Z axis Control) connected to a computer running StereoInvestigator software. The contours of the striatum were traced at low

magnification using a 2.5X/0.07 objective. Sampling sites were randomly positioned at the intersection of a grid formed by 350 X 250  $\mu\text{m}$  squares. The volume of the optical disector was 15 X 15 X 10  $\mu\text{m}$ . The immunostained varicosities appeared as round or ovoid axon dilations, greater than 0.25  $\mu\text{m}$  in transverse diameter. Varicosities that fell within the counting frame and that did not contact the exclusion lines were counted whenever they came into focus within the 10  $\mu\text{m}$ -thick optical disector centered in the section. The density of TH and SERT innervation was expressed in ten millions of immunolabeled axon varicosities per cubic millimeter of tissue. The total number of varicosities was estimated by the optical fractionator, while the volume of the striatal sector was calculated with Cavalieri's method.

#### 2.4.4. STATISTICAL ANALYSIS

The optical density of TH and SERT innervation was calculated in each of the three regions (putamen, caudate nucleus and nucleus accumbens) and each of the three anteroposterior levels of the striatum (anterior, middle and posterior) for every individuals (PD controls, PD, HD controls, HD). The median number and the semi-interquartile interval (Q) were preferred over the mean and the standard deviation as central tendency and dispersion measure, respectively, because our data yielded a variation coefficient  $> 0.15$  (Dayhaw, 1969). We looked for a possible relation between the different anteroposterior striatal levels by calculating the coefficient of correlation (Pearson) for all pathological and non-pathological brains (n=39). Statistical differences between groups were assessed with the Wilcoxon signed-rank test (n=9). In an effort to reach a larger sample size and because all pathological cases showed similar alterations of SERT and TH immunoreactivity, PD and HD individuals were grouped together to compare pathological cases to healthy controls. Differences were considered statistically significant at  $P < 0.05$ . Statistical analyses were done using SAS/STAT (v. 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC) and GraphPad Prism for Windows (v. 5.01, GraphPad Software, San Diego, CA).



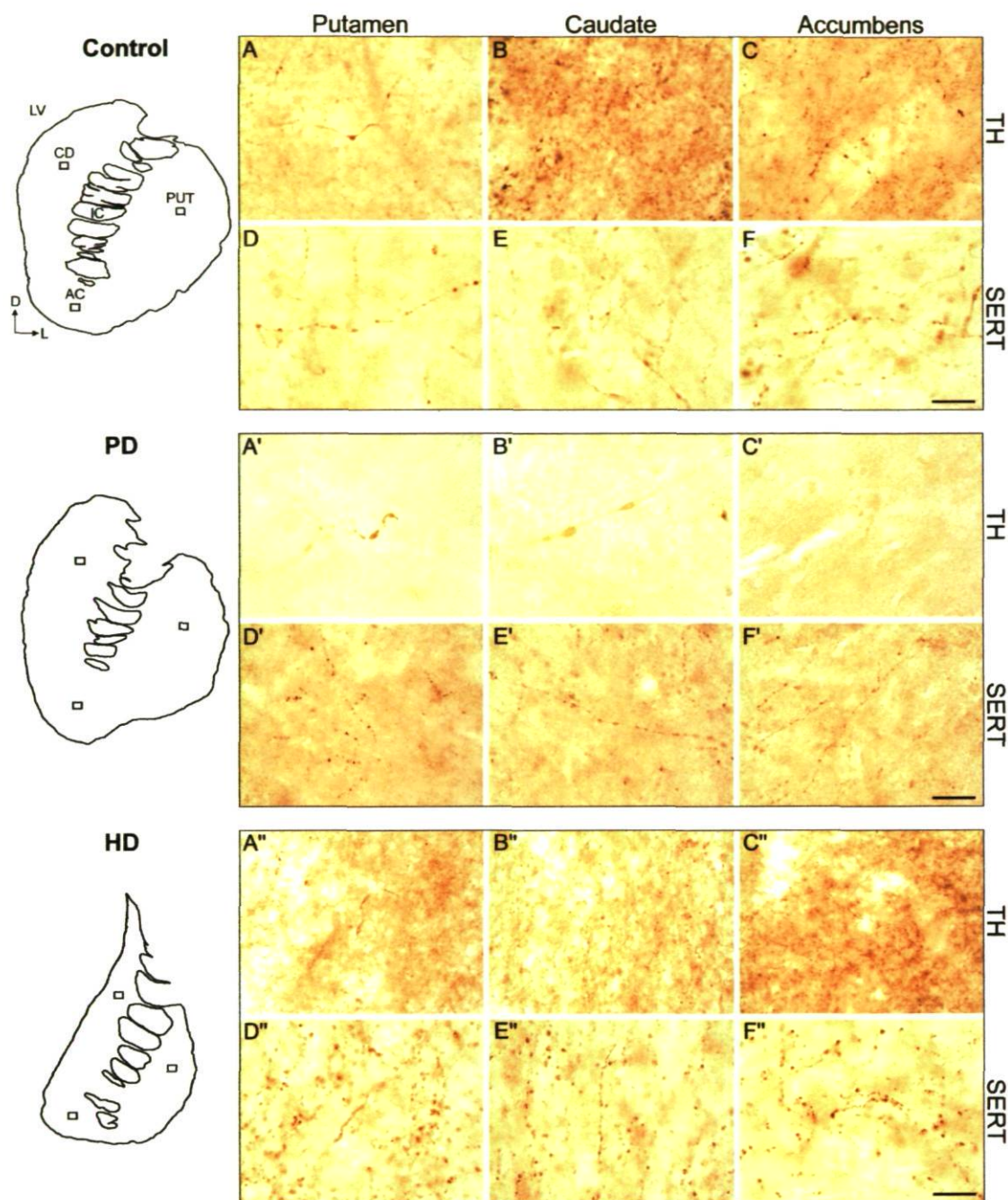
## 2.5. RESULTS

### 2.5.1. GENERAL TH AND SERT STRIATAL IMMUNOLABELING FEATURES

The human striatum receives a massive DA innervation arising from neurons of the SN pars compacta, as well as a dense 5-HT input originating principally from neurons located in the dorsal raphe nucleus. The general aspects of the TH and SERT striatal innervation can be appreciated by examining sections of control individuals. The putamen, caudate nucleus and nucleus accumbens of these sections harbor numerous thin, varicose axons as well as multitudinous isolated axon varicosities displaying either TH (Figure 2.1A-C) or SERT (Figure 2.1D-F) immunoreactivity. A comparison of these two types of innervation reveals that, throughout the entire striatum, the 5-HT innervation is much more homogeneous than its DA counterpart. The latter displays a typical patchy appearance consisting of numerous, small, TH-poor zones embedded within a larger TH-rich matrix. Our previous analyses of the human striatum with various chemical markers, including calbindin and enkephalin, have revealed that the TH-poor patches and the TH-rich matrix correspond respectively to the striosomal and the extrastriosomal matrix compartments of the striatum (Prensa *et al.*, 1999). Although easily distinguishable in TH-immunostained sections, these two striatal compartments do not appear to have readily visible counterparts in sections immunostained for SERT.

### 2.5.2. MORPHOLOGICAL ASPECT OF STRIATAL TH AND SERT IMMUNOREACTIVE AXON VARICOSITIES

Examination of immunostained sections from PD and HD cases reveals that immunoreactive axon varicosities are larger and more elongated in pathological specimens than in control brains (Figure 2.1A', B'). The fibers bearing such abnormally large and swollen varicosities are probably undergoing degeneration



**Figure 2.1. High magnification of TH- and SERT-immunostained sections taken at the anterior (pre-commissural) level of the human striatum in controls, PD and HD**

Examples of immunolabeled fibers and axon varicosities are provided for the three groups in putamen, caudate nucleus and nucleus accumbens. The square symbols in the drawings of coronal sections indicate the exact location where the photomicrographs were taken. In PD, all striatal regions display obvious loss of TH innervation. In HD, increase in SERT innervation appears more pronounced in putamen and in caudate nucleus. Also of interest is the enlargement of immunostained axon varicosities and the twisted shape of immunolabeled fibers in pathological cases. Abbreviations: AC, nucleus accumbens; CD, caudate nucleus; D, dorsal; IC, internal capsule; L, lateral; LV, lateral ventricle; PUT, putamen. Scale bars: 20  $\mu$ m.



(Huot and Parent, 2007). In some cases, the size of these varicosities increases to such an extent that it can be confused with the small bipolar DA neurons that have been recently reported in the human striatum (Huot and Parent, 2007). The marked striatal atrophy that occurs in HD also impacts upon the morphology of both TH+ and SERT+ axons, many of which display a convolute or twisted shape in a compacted tissue (Figure 2.1A''-F'').

### 2.5.3. VARIATION OF TH AND SERT IMMUNOLABELED STRIATAL INNERVATION

Besides alterations of the morphology of striatal TH+ and SERT+ fibers, their density also varies in PD and HD cases. The innervation of the human striatum by TH+ axons is significantly altered in PD cases by comparison to controls. The striatum of PD patients displays a marked loss of TH+ varicose axons and isolated axon varicosities, which is obvious in the three components of this structure: the putamen, the caudate nucleus and the nucleus accumbens (Figure 2.1A'-C'). In contrast, direct microscopic observations of striatal sections immunostained for SERT did not reveal obvious changes in the pattern of 5-HT innervation of the striatum between PD and controls (Figure 2.1D'-F'). The DA striatal innervation was found to be less affected in HD than PD. Nevertheless, a close examination indicates that the TH+ fibers and axon varicosities are less numerous in HD striata compared to controls (Figure 2.1A''-C''). The number of SERT+ fibers and axon varicosities appears to be higher in HD patients compared to PD patients and controls (Figure 2.1D''-F'').

### 2.5.4. REGIONAL DISTRIBUTION OF STRIATAL TH AND SERT IMMUNOREACTIVITY

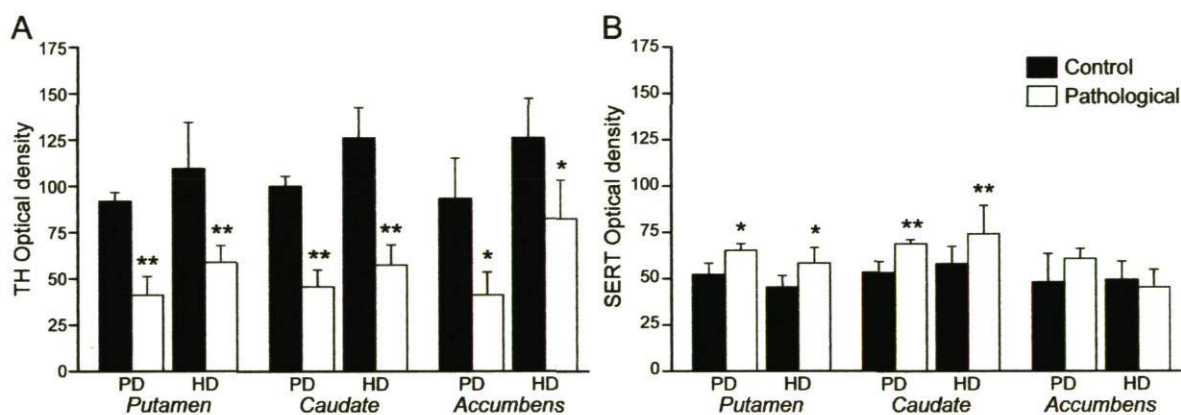
Optical density measurements in the striatum of pathological brains (PD and HD) revealed a severe and significant decrease of TH immunoreactivity in the three

striatal regions examined compared to controls (putamen and caudate:  $P < 0.01$ , accumbens:  $P < 0.05$ , Figure 2.2A). In PD cases, there was a decrease of 55%, 54% and 56% for putamen, caudate nucleus and nucleus accumbens, respectively, while in HD cases the TH immunostaining was slightly less severely affected, with 46%, 54% and 34% decreases for putamen, caudate nucleus and nucleus accumbens, respectively. In contrast, optical density measurements of SERT immunoreactivity reveal a slight increase in the putamen, caudate nucleus and nucleus accumbens in pathological brains compared to controls, except for the accumbens of HD patients (Figure 2.2B). The differences were statistically significant for the putamen ( $P < 0.05$ ) and caudate nucleus ( $P < 0.01$ ), but not for the nucleus accumbens. The increase in SERT immunoreactivity in PD cases was of 25%, 29% and 27% for putamen, caudate nucleus and nucleus accumbens respectively. The immunostaining for SERT in HD cases was increased only for the putamen (29%) and caudate nucleus (28%); it was reduced by 8% in the nucleus accumbens of HD patients compared to controls.

### 2.5.5. ANTEROPOSTERIOR DISTRIBUTION OF STRIATAL TH AND SERT IMMUNOREACTIVITY

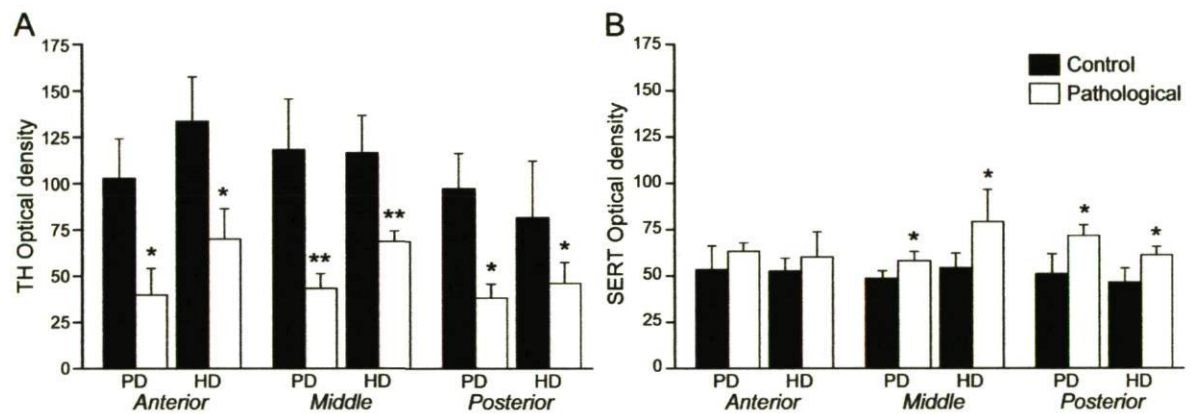
In the three anteroposterior levels analyzed, the optical density values for striatal TH immunoreactivity were lower in PD, but also in HD when compared to controls. The difference was statistically significant for the anterior and posterior levels ( $P < 0.05$ ) and even more so for the middle level ( $P < 0.01$ ) (Figure 2.3A). A loss of 61%, 63% and 61% of TH immunostaining was measured in the anterior, middle and posterior levels of the striatum of PD patients compared to controls. The reduction in TH immunostaining was less marked in HD cases, with a decrease of 48%, 41% and 44% for the anterior, middle and posterior levels, respectively. As for SERT immunostaining, the optical density values indicate an increase in the intensity of SERT immunoreactivity that was statistically significant at middle and posterior levels ( $P < 0.05$ , Figure 2.3B) for pathological brains compared to controls. Anterior, middle and posterior levels display increases in SERT immunostaining that vary from





**Figure 2.2. Regional distribution of TH (A) and SERT (B) immunostaining in the striatum of pathological (PD and HD) cases compared to controls**

Optical density values (median  $\pm$  Q) for the putamen, caudate nucleus and nucleus accumbens were obtained by pooling data from the three anteroposterior levels. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  between pathological cases and controls, by Wilcoxon signed-rank test ( $n=9$ ).



**Figure 2.3. Anteroposterior distribution of TH (A) and SERT (B) immunostaining in the striatum of pathological (PD and HD) cases compared to controls**

Optical density values (median  $\pm$  Q) for the anterior (pre-commissural), middle (commissural) and posterior (post-commissural) striatal levels were obtained by pooling data from three striatal regions (putamen, caudate nucleus and nucleus accumbens). \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  between pathological cases and controls, by Wilcoxon signed-rank test ( $n=9$ ).

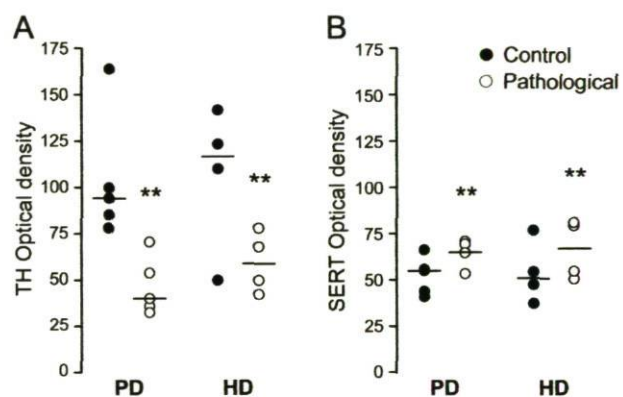


19%, 20% and 40% in PD cases and 15%, 46% and 32% in HD cases. There was no statistically significant difference between the three levels, within the three groups (controls, PD, HD). This lack of significant variation is further supported by a very high correlation ( $P < 0.001$ ) between the three different levels for TH immunostaining and a medium to very high correlation ( $P < 0.01$  and  $P < 0.001$ ) for SERT labeling in all pathological and non-pathological cases, as determined by calculating the coefficient of correlation (Pearson).

Since there was a high correlation between levels, optical density measurements taken at the three different levels were pooled to reveal individual values in each group. This showed that TH immunoreactivity is reduced in the striatum of pathological cases compared to controls ( $P < 0.01$ , Figure 2.4A); the reduction was in the order of 57% for PD and 49% for HD cases. In regards to SERT labeling, an increase was noted in the striatum of pathological cases compared to controls ( $P < 0.01$ , Figure 2.4B). The increase was greater in HD (32%) than PD (18%) striatum.

#### 2.5.6. DENSITY OF STRIATAL TH AND SERT IMMUNOREACTIVE AXON VARICOSITIES

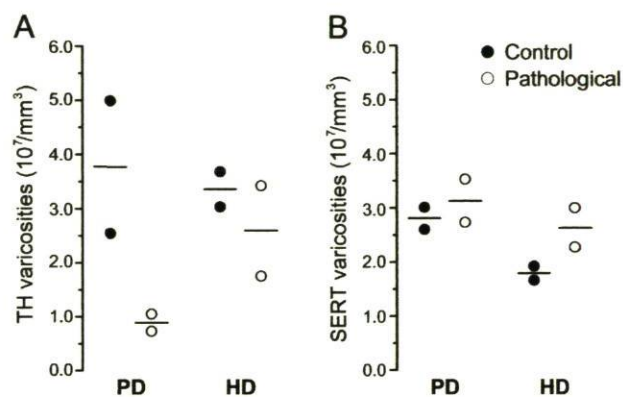
The optical density approach was complemented and validated by direct quantitative estimates of the number of TH+ and SERT+ axon varicosities in a sample of 4 pathological cases (2 PD and 2 HD) and their respective controls at anterior and posterior levels. As expressed in number of immunolabeled axon varicosities per  $\text{mm}^3$  of tissue, densities of TH and SERT innervation of the striatum were in perfect register with the data obtained by means of the optical density method (compare Figure 2.5 with Figure 2.4). The density of TH+ axon varicosities was markedly reduced in the striatum of pathological brains in comparison with controls (Figure 2.5A), the reduction being more severe in the striatum of PD (76%) than in that of HD (23%) cases. In contrast, the density of SERT+ axon varicosities in diseased striatum was



**Figure 2.4. Scatter plots showing individual data of TH (A) and SERT (B) immunostaining for pathological cases and controls**

Optical density values are expressed as a mean of the three anteroposterior levels. The horizontal bars represent the median value of each group. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  between pathological cases and controls, by Wilcoxon signed-rank test ( $n=9$ ).





**Figure 2.5. Density of TH (A) and SERT (B) striatal immunoreactive axon varicosities in 2 PD and 2 HD patients, and their respective controls**

Individual data represents mean value of density found in the anterior and posterior striatal levels. The horizontal bars indicate the median value of each group. These quantitative estimates are in perfect register with optical density measurements shown in figure 2.4.

increased by comparison with controls (Figure 2.5B), the increase being higher in the striatum of HD patients (47%) than in that of PD cases (12%).

Increases in density of SERT+ axon varicosities reported above for pathological brains, might reflect, at least for HD, the atrophy of the striatum that occurs in these specimens. Indeed, volume measurements of the striatum at anterior level with the Cavalieri's method yield mean values for control, PD and HD of 5.12, 3.54 and 1.90 mm<sup>3</sup>, respectively. These findings reveal that a decrease in striatal volume occurs in both PD and HD, but the atrophy is much more severe in HD (63%) than in PD (31%).



## 2.6. DISCUSSION

This study provides the first detailed comparison of the density and regional distribution of DA and 5-HT striatal innervation between PD and HD. Our quantitative data confirm the marked losses of DA innervation in different striatal areas in PD, but reveal that striatal DA innervation is also significantly decreased in HD. Our results further show that striatal 5-HT innervation is increased in PD and unaltered in HD, when considering the marked atrophy of the striatum that occurs in that pathology.

### 2.6.1. METHODOLOGICAL CONSIDERATIONS

The use of autopsied brains represents the only way to directly assess the state of different neurochemically identified systems in human and to correlate these observations with pathological conditions. In counterpart, post-mortem delays preclude the direct visualization of neurotransmitters like DA and 5-HT, which are metabolized rapidly after death. This problem can be circumvented by using protein markers such as TH and SERT, whose integrity is much less affected by post-mortem delays and fixation procedures. The TH antibody used in the present study has allowed optimal immunohistochemical detection of DA axon varicosities in the human striatum (Prensa *et al.*, 1999; Huot *et al.*, 2007). The SERT antibody we employed has been shown to be a better indicator of 5-HT axon varicosities than antibodies raised against 5-HT itself (Nielsen *et al.*, 2006). The complete penetration of these immunoreagents was assessed by a z depth histogram of the immunolabeled axon varicosities counted in StereoInvestigator, indicating that they were evenly distributed throughout the depth of the section.

Depression occurs in about 40% of PD patients (Boileau *et al.*, 2008) and is a psychiatric manifestation of HD (Walker, 2007). Since major depression is associated with disturbances of the 5-HT system, this disorder could represent a confounding factor in the present study. Two of the PD patients included in our analysis had a

medical history of depression. Their results in terms of SERT immunoreactivity and density of SERT+ axon varicosities in the striatum did not significantly differ from other PD patients. This observation is in keeping with the results of a positron emission tomography (PET) study that reported no difference in SERT binding in the striatum of PD depressed patients compared to control individuals (Boileau *et al.*, 2008). The latter findings are not that surprising since the involvement of 5-HT in depression relates more to a functional deficit rather than a genuine structural alteration (Nestler *et al.*, 2002).

## 2.6.2. DECREASED STRIATAL DA INNERVATION IN PD AND HD

Our findings indicate a marked reduction of DA striatal afferents in PD but also in HD. In both pathological conditions, the decrease in the overall TH immunoreactivity was obvious in the three striatal regions, as well as at each anteroposterior level sampled. These observations were confirmed by stereological counts of TH+ axon varicosities. In PD, our data indicate a 57% decrease in TH immunoreactivity, together with a 76% decrease in density of TH+ axon varicosities. This massive reduction of the DA striatal innervation is in accordance with the progressive degeneration of DA neurons in the SN known to occur in PD and the consequent loss of their axon terminals in the striatum, which causes a depletion of striatal DA concentration that is roughly proportional to the severity of the disease (Bernheimer *et al.*, 1973; Hornykiewicz and Kish, 1987; Zigmond *et al.*, 1990; Agid, 1991; Bezard and Gross, 1998).

Our findings in HD patients indicate that the DA nigrostriatal pathway is also altered in this neurodegenerative disease. Our detailed quantitative study revealed a 49% decrease of the TH immunoreactivity accompanied by a 23% decrease of the density of TH+ axon varicosities in the striatum of HD patients. These findings are in keeping with a preliminary observation suggesting that a TH+ afferent loss occurs in HD striatum (Ferrante and Kowall, 1987). The impairment of the nigrostriatal DA



system in HD is further supported by two PET studies in which various DA markers were imaged in the brains of living HD patients. One of these studies reported a significant decrease in the binding of the DA transporter (DAT) at striatal level, a finding that was interpreted as an indication of a loss of DA axon varicosities (Ginovart *et al.*, 1997). The other study provided evidence for a reduction in the striatal binding of the vesicular monoamine transporter 2 (VMAT2), the decrease being particularly severe in patients suffering from the rigid-akinetic variant of HD (Bohnen *et al.*, 2000). More direct proofs of striatal losses of DAT and VMAT2 were obtained by means of autoradiographic binding studies in autopsied HD brains (Suzuki *et al.*, 2001).

The data regarding the neuronal integrity of the SN and the biochemical determinations of striatal DA concentration in HD are somewhat more contradictory. In a pioneering neuropathological study, Bernheimer and colleagues reported no significant cell loss in the SN of HD patients (Bernheimer *et al.*, 1973). However, by using more appropriate stereological procedure and taking into account the SN atrophy that occurs in this neurodegenerative disease (Oyanagi *et al.*, 1989; Gibb, 1991; Vonsattel *et al.*, 2008), other investigators reported a significant decrease in the number of SN neurons in HD brains (Oyanagi *et al.*, 1989; Richardson, 1990). Likewise, the first biochemical attempts to determine the level of DA markers in autopsied HD brains led to the conclusion that it was unchanged (Bernheimer *et al.*, 1973; Bird and Iversen, 1974; McGeer and McGeer, 1976) or increased (Spokes, 1980) in the striatum. However, a more recent investigation with controls appropriately matched for age and post-mortem delay and stereological corrections for striatal atrophy, reported a significant decrease of striatal DA concentration in HD cases (Kish *et al.*, 1987). This carefully executed neuropathological study, together with the present quantitative immunohistochemical investigation, agree upon a significant decrease of the DA striatal innervation in HD, although not as severely as in PD. Whether this DA impairment is an integral part of the neurodegenerative mechanisms at play in HD or an indirect effect of the neuronal loss that occurs in the striatum remains unclear.

The major pathological lesion in HD is the atrophy of the striatum due to a massive loss of its MSPN (Vonsattel *et al.*, 1985; Vonsattel *et al.*, 2008). Besides being the major target of the nigrostriatal DA pathway, MSPN also receive massive and direct glutamatergic projections from various thalamic nuclei, as well as from virtually the entire cerebral cortex (Parent and Hazrati, 1995). If the alteration of the nigrostriatal DA system noted in the present study is a dying back phenomenon resulting from the loss of striatal MSPN, the thalamic and cortical striatal afferent systems should also be affected in HD. Indeed, signs of thalamic dysfunctions correlated with the duration of the disease has been reported in HD patients following examination with proton magnetic resonance spectroscopy (Ruocco *et al.*, 2007) but, to our knowledge, direct evidence of neuronal loss in striatopetal thalamic nuclei has not yet been gathered. The involvement of the cerebral cortex in HD is more firmly attested. Cortical neuronal losses have been documented in autopsied HD brains (Vonsattel and DiFiglia, 1998), but studies involving genetic animal models of HD suggested that cortical neuron dysfunctions may precede striatal damage and even induce the death of striatal MSPN through glutamate-mediated excitotoxic mechanisms (see Cepeda *et al.*, 2007).

There are still unresolved questions regarding the selective vulnerability of neuronal types within the striatum and the sequence of events that lead to progressive motor dysfunctions in HD. The enkephalin-rich GABAergic neurons at the origin of the indirect striatofugal pathway appears to be affected earlier and more severely than substance P-positive GABAergic neurons of the direct striatofugal pathway (see Sapp *et al.*, 1995). This sequential hit might explain that HD patients display hyperkinetic (choreic) symptoms in the early stages (grades 0-2) of the disease and progressively become rigid and akinetic in the later stages (grades 3-4) (Sapp *et al.*, 1995). The striatal DA innervation decrease reported here might significantly contribute to the rigidity and akinesia displayed by advanced HD patients, a motor impairment that strikingly resembles PD condition.



### 2.6.3. INCREASED STRIATAL 5-HT INNERVATION IN PD AND HD

The status of striatal 5-HT innervation in PD and HD has received much less attention than that of the DA nigrostriatal system. A moderate decrease in the concentration of 5-HT and its metabolites (Bernheimer *et al.*, 1961; Scatton *et al.*, 1983; Birkmayer and Birkmayer, 1987; Wilson *et al.*, 1996; Kish *et al.*, 2008) and a diminution in the number of SERT binding sites (Cash *et al.*, 1985; Raisman *et al.*, 1986; Chinaglia *et al.*, 1993) have been noted in various regions, including the striatum, in autopsied PD brains. These findings have received some support from neuroimaging studies with SERT radioligands in living PD patients (Kerenyi *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2003; Guttman *et al.*, 2007). Furthermore, a partial neuronal loss in the dorsal and median raphe nuclei has been detected in advanced cases of PD brains (Jellinger, 1987; Halliday *et al.*, 1990). All these data have been interpreted as evidence of a modest but widespread loss of 5-HT innervation, possibly related to the depressive state that often occurs in PD patients (Paulus and Jellinger, 1991).

The present study has provided the first quantitative immunohistochemical evaluation of the 5-HT striatal innervation in PD patients and age-matched controls. Our results indicate a 18% increase in SERT immunoreactivity in the striatum of PD patients, concomitant with a 12% increase in the density of SERT+ axon varicosities. This increase occurred at all anteroposterior levels and in all striatal regions examined and therefore is at odds with the human brain findings reported above but agrees with some findings obtained in animal models of PD. A striatal hyperinnervation by 5-HT axons has been observed in both neonatal (Stachowiak *et al.*, 1984; Snyder *et al.*, 1986; Descarries *et al.*, 1992; Yamazoe *et al.*, 2001) and adult DA-denervated animal models of PD (Gaspar *et al.*, 1993; Guerra *et al.*, 1997; Rozas *et al.*, 1998; Balcioglu *et al.*, 2003; Maeda *et al.*, 2005). This 5-HT hyperinnervation has been viewed as a compensatory mechanism that might allow a partial restoration of striatal DA level in PD patients under L-dopa therapy. The presence of aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC) and VMAT2 within 5-HT axon varicosities enable these terminals to store and release DA (Ng *et al.*, 1971; Hollister *et al.*, 1979; Arai *et*

*al.*, 1996; Tanaka *et al.*, 1999). Furthermore, the conversion of L-dopa into DA in 5-HT terminals is believed to cause a local displacement of endogenous 5-HT (Rozas *et al.*, 1998), a phenomenon that might explain, at least in part, the decrease in 5-HT concentrations noted in the biochemical studies of autopsied PD brains quoted above.

Although DA release from 5-HT axon terminals in L-dopa-treated patients can help restoring striatal DA level, this phenomenon might also lead to serious deleterious effects, such as L-dopa-induced dyskinesia (for reviews, see Cenci and Lindgren, 2007; Carta *et al.*, 2008). Detailed pharmacological studies in animal models of PD suggest that DA released from striatal 5-HT axon varicosities acts as a false neurotransmitter and is the main pre-synaptic determinant of L-dopa-induced dyskinesia (Cenci and Lindgren, 2007; Carta *et al.*, 2008). Being devoid of DAT, the 5-HT axon terminals would release DA in a non-physiological manner, leading to excessive swings in extracellular DA after L-dopa treatment, which translates itself clinically in the appearance of abnormal involuntary movements (Carta *et al.*, 2007). These findings make the 5-HT system a target for anti-dyskinetic therapies (Carta *et al.*, 2007; Eskow *et al.*, 2007; Munoz *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2008; Marin *et al.*, 2009). In the present study, two PD patients had a known history of L-dopa-induced dyskinesia, but there was no significant difference in striatal SERT immunoreactivity between these cases and non-dyskinetic patients. Examinations of larger cohorts of individuals are obviously needed to establish a possible link between variations in striatal 5-HT innervation and L-dopa-induced dyskinesia in PD patients.

The increase in striatal 5-HT innervation noted in HD brains is most likely a reflection of the marked atrophy (63%) of the striatum that characterizes this neurodegenerative disease. Such striatal atrophy would inevitably result in an increase in the number of 5-HT axon varicosities per unit of volume, unless a significant loss of such terminals occurs in HD. Striatal atrophy could also explain the above-normal level of striatal 5-HT noted in post-mortem biochemical studies of HD (Kish *et al.*, 1987; Reynolds and Pearson, 1987). An elevated level of striatal 5-HT has also been reported in an animal model of HD, where kainic acid was used to induce striatal excitotoxic atrophy (Sperk *et al.*, 1981). In that model, lesion of the 5-HT



system prior to kainic acid injection was shown to reduce the excitotoxic effect on striatal neurons (Berger *et al.*, 1982), suggesting that abnormally high striatal 5-HT innervation might contribute to striatal atrophy in HD (Kish *et al.*, 1987; Reynolds and Pearson, 1987).

In the advanced PD cases examined, changes in 5-HT innervation were of similar magnitude in the three striatal regions (putamen, caudate nucleus and nucleus accumbens), whereas the 5-HT innervation in HD was increased in the dorsal striatum (putamen and caudate nucleus) but relatively unaltered in the ventral striatum (nucleus accumbens). This difference in regional innervation most likely reflects the fact that striatal atrophy is severe in putamen and caudate nucleus (80-95% neuronal loss), while nucleus accumbens is relatively well preserved in advanced HD cases (Vonsattel *et al.*, 2008). Cell losses in nucleus accumbens are reportedly minimal by comparison to the marked neuronal degeneration that affected the dorsal striatum, but ultrastructural alterations, such as the indentation of the nuclear envelope, were nevertheless noted in a small proportion of nucleus accumbens neurons (Bots and Bruyn, 1981). Whether the affected accumbens neurons are MSPN, as in the dorsal striatum, is unknown and there is no clear explanation for the relative sparing of nucleus accumbens compared to caudate nucleus and putamen.

## 2.7. CONCLUDING REMARKS

The present post-mortem immunohistochemical study has provided the first detailed account of the DA and 5-HT striatal innervation in PD and HD patients compared to age-matched controls. The results suggest that degeneration of the DA nigrostriatal system is an integral part of the pathogenic mechanisms at play in the two neurodegenerative diseases. The striatal 5-HT innervation was more profuse in PD compared to controls, but unaltered in HD, when considering the marked striatal atrophy that occurs in that pathological condition. Increases in the density of striatal 5-HT innervation in PD might represent a compensatory mechanism that occurs following DA denervation. Because of their capacity to transform L-dopa into DA, the 5-HT axon varicosities could significantly contribute to the therapeutic value of L-dopa therapy. Their numerical increase, however, could have a detrimental effect leading to L-dopa-induced dyskinesia. These findings underline the importance of striatal DA and 5-HT interaction in motor control and call for a more careful attention to the 5-HT system in the development of novel therapeutic strategies to alleviate motor anomalies encountered in both PD and HD.

## 2.8. ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by grant MOP-5781 of the Canadian Institute for Health Research to A. Parent. The authors express their sincere gratitude to Dr Peter V. Gould for providing neuropathological expertise, to Mrs. Doris Côté for helpful technical support and to Chantal Mérette and Claudia Émond for statistical expertise.



## CHAPITRE 3. CONCLUSIONS

La présente étude immunohistochimique effectuée en post-mortem a jeté un éclairage nouveau sur l'état des systèmes dopaminergique et sérotoninergique s'arborisant dans le striatum de patients atteints de MP et de MH en comparaison à des individus sains appariés pour l'âge. Mes résultats révèlent que le système dopaminergique nigrostrié est tout aussi altéré dans la MH que dans la MP et ce, malgré les troubles moteurs opposés qui découlent de ces deux maladies. Par contre, une augmentation du nombre de terminaisons axonales de type 5-HT a été remarquée dans le striatum des patients MP alors que ce nombre demeurerait inchangé dans la MH. La densité des varicosités axonales 5-HT était augmentée dans la MH, mais cette observation n'était qu'apparente et résultait en fait de l'atrophie striatale. Le système sérotoninergique serait donc préservé dans la MH. Concernant l'altération du système nigrostrié dans la MH, elle semble être consécutive à la perte massive des MSN, les principales cibles des fibres dopaminergiques. L'augmentation dans l'innervation 5-HT striatale chez les patients MP suggère la présence d'un mécanisme compensatoire en réponse à la perte dopaminergique sévère se produisant dans le striatum de ces individus. Cette observation pourrait correspondre au processus d'hyperinnervation 5-HT qui a lieu dans le striatum de modèles animaux de la MP, suivant une lésion du système dopaminergique nigrostrié. Les terminaisons 5-HT contiennent les enzymes nécessaires à la conversion de la L-dopa en DA. La présence d'un mécanisme compensatoire dans le striatum de patients MP pourrait donc avoir des effets bénéfiques en augmentant la quantité de DA disponible dans le striatum, ou néfastes en occasionnant les dyskinésies induites par la L-dopa.

Somme toute, les résultats de cette étude nous aident à mieux comprendre la relation fonctionnelle étroite qui existe entre les systèmes dopaminergique et sérotoninergique au sein des GB. De plus, ces données nouvelles améliorent notre connaissance du contrôle qu'exercent les GB sur le comportement moteur, et ce, autant dans des conditions normales que pathologiques. Une étude attentive de la

corrélation possible entre les variations observées ici en ce qui a trait à l'innervation dopaminergique et sérotoninergique du striatum et le nombre de neurones présents dans la SN et les noyaux du raphé dans des conditions normales et pathologiques complèterait avantageusement le travail rapporté dans le présent mémoire. Il serait également intéressant d'élargir l'analyse quantitative effectuée ici pour le striatum aux autres composantes des GB, notamment le NST et le GPi, deux structures qui ont une grande importance fonctionnelle dans la MP. Comme le NST et le GPi sont les cibles préférentielles des traitements de la MP par stimulation cérébrale profonde, une meilleure connaissance de l'innervation dopaminergique et sérotoninergique de ces structures pourrait nous aider à mieux comprendre les mécanismes d'action de cette électrostimulation et de suggérer des améliorations possibles aux traitements actuels visant à soulager les patients atteints de MP ou de MH.



## BIBLIOGRAPHIE

- Aarsland D, Larsen JP, Lim NG, Janvin C, Karlsen K, Tandberg E, et al. Range of neuropsychiatric disturbances in patients with Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 67: 492-6.
- Adam OR, Jankovic J. Symptomatic treatment of Huntington disease. *Neurotherapeutics* 2008; 5: 181-97.
- Agid Y. Parkinson's disease: pathophysiology. *Lancet* 1991; 337: 1321-4.
- Albin RL, Young AB, Penney JB. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci* 1989; 12: 366-75.
- Alexander GE, DeLong MR, Strick PL. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci* 1986; 9: 357-81.
- Alheid GF, Heimer L. New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: the striatopallidal, amygdaloid, and corticopetal components of substantia innominata. *Neuroscience* 1988; 27: 1-39.
- Arai R, Karasawa N, Nagatsu I. Aromatic L-amino acid decarboxylase is present in serotonergic fibers of the striatum of the rat. A double-labeling immunofluorescence study. *Brain Res* 1996; 706: 177-9.
- Azmitia EC, Segal M. An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 1978; 179: 641-67.
- Balcioglu A, Zhang K, Tarazi FI. Dopamine depletion abolishes apomorphine- and amphetamine-induced increases in extracellular serotonin levels in the striatum of conscious rats: a microdialysis study. *Neuroscience* 2003; 119: 1045-53.
- Baliko L, Csala B, Czopf J. Suicide in Hungarian Huntington's disease patients. *Neuroepidemiology* 2004; 23: 258-60.
- Beal MF, Mazurek MF, Ellison DW, Swartz KJ, McGarvey U, Bird ED, et al. Somatostatin and neuropeptide Y concentrations in pathologically graded cases of Huntington's disease. *Ann Neurol* 1988a; 23: 562-9.
- Beal MF, Ellison DW, Mazurek MF, Swartz KJ, Malloy JR, Bird ED, et al. A detailed examination of substance P in pathologically graded cases of Huntington's disease. *J Neurol Sci* 1988b; 84: 51-61.
- Benloucif S, Galloway MP. Facilitation of dopamine release in vivo by serotonin agonists: studies with microdialysis. *Eur J Pharmacol* 1991; 200: 1-8.

- Benloucif S, Keegan MJ, Galloway MP. Serotonin-facilitated dopamine release in vivo: pharmacological characterization. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 265: 373-7.
- Bennett EJ, Bence NF, Jayakumar R, Kopito RR. Global impairment of the ubiquitin-proteasome system by nuclear or cytoplasmic protein aggregates precedes inclusion body formation. *Mol Cell* 2005; 17: 351-65.
- Berger M, Sperk G, Hornykiewicz O. Serotonergic denervation partially protects rat striatum from kainic acid toxicity. *Nature* 1982; 299: 254-6.
- Bernheimer H, Birkmayer W, Hornykiewicz O. [Distribution of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in the human brain and its behavior in patients with Parkinson's syndrome.]. *Klin Wochenschr* 1961; 39: 1056-9.
- Bernheimer H, Birkmayer W, Hornykiewicz O, Jellinger K, Seitelberger F. Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations. *J Neurol Sci* 1973; 20: 415-55.
- Bezard E, Gross CE. Compensatory mechanisms in experimental and human parkinsonism: towards a dynamic approach. *Prog Neurobiol* 1998; 55: 93-116.
- Bird ED, Iversen LL. Huntington's chorea. Post-mortem measurement of glutamic acid decarboxylase, choline acetyltransferase and dopamine in basal ganglia. *Brain* 1974; 97: 457-72.
- Birkmayer W, Hornykiewicz O. [The L-3,4-dioxyphenylalanine (DOPA)-effect in Parkinson-akinesia.]. *Wien Klin Wochenschr* 1961; 73: 787-8.
- Birkmayer W, Birkmayer JD. Dopamine action and disorders of neurotransmitter balance. *Gerontology* 1987; 33: 168-71.
- Bohnen NI, Koeppe RA, Meyer P, Ficaró E, Wernette K, Kilbourn MR, et al. Decreased striatal monoaminergic terminals in Huntington disease. *Neurology* 2000; 54: 1753-9.
- Boileau I, Warsh JJ, Guttman M, Saint-Cyr JA, McCluskey T, Rusjan P, et al. Elevated serotonin transporter binding in depressed patients with Parkinson's disease: a preliminary PET study with [<sup>11</sup>C]DASB. *Mov Disord* 2008; 23: 1776-80.
- Bolam JP, Ingham CA, Smith AD. The section-Golgi-impregnation procedure--3. Combination of Golgi-impregnation with enzyme histochemistry and electron microscopy to characterize acetylcholinesterase-containing neurons in the rat neostriatum. *Neuroscience* 1984; 12: 687-709.
- Bots GT, Bruyn GW. Neuropathological changes of the nucleus accumbens in Huntington's chorea. *Acta Neuropathol* 1981; 55: 21-2.



- Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, Rocca WA. Incidence and distribution of parkinsonism in Olmsted County, Minnesota, 1976-1990. *Neurology* 1999; 52: 1214-20.
- Brown RG, MacCarthy B. Psychiatric morbidity in patients with Parkinson's disease. *Psychol Med* 1990; 20: 77-87.
- Calon F, Morissette M, Rajput AH, Hornykiewicz O, Bedard PJ, Di Paolo T. Changes of GABA receptors and dopamine turnover in the postmortem brains of parkinsonians with levodopa-induced motor complications. *Mov Disord* 2003; 18: 241-53.
- Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T. 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature* 1957; 180: 1200.
- Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T, Waldeck B. On the presence of 3-hydroxytyramine in brain. *Science* 1958; 127: 471.
- Carpenter MB, Peter P. Nigrostriatal and nigrothalamic fibers in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 1972; 144: 93-115.
- Carta M, Carlsson T, Kirik D, Björklund A. Dopamine released from 5-HT terminals is the cause of L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian rats. *Brain* 2007; 130: 1819-33.
- Carta M, Carlsson T, Munoz A, Kirik D, Björklund A. Serotonin-dopamine interaction in the induction and maintenance of L-DOPA-induced dyskinesias. *Prog Brain Res* 2008; 172: 465-78.
- Cash R, Raisman R, Ploska A, Agid Y. High and low affinity [<sup>3</sup>H]imipramine binding sites in control and parkinsonian brains. *Eur J Pharmacol* 1985; 117: 71-80.
- Cenci MA, Lindgren HS. Advances in understanding L-DOPA-induced dyskinesia. *Curr Opin Neurobiol* 2007; 17: 665-71.
- Cepeda C, Wu N, Andre VM, Cummings DM, Levine MS. The corticostriatal pathway in Huntington's disease. *Prog Neurobiol* 2007; 81: 253-71.
- Charcot JM. De la paralysie agitante (leçon 5). *Oeuvres complètes. Vol 1. Paris: Progrès Médical, 1869: 161-88.*
- Chattopadhyay B, Ghosh S, Gangopadhyay PK, Das SK, Roy T, Sinha KK, et al. Modulation of age at onset in Huntington's disease and spinocerebellar ataxia type 2 patients originated from eastern India. *Neurosci Lett* 2003; 345: 93-6.
- Chevalier G, Deniau JM. Disinhibition as a basic process in the expression of striatal functions. *Trends Neurosci* 1990; 13: 277-80.

- Chinaglia G, Landwehrmeyer B, Probst A, Palacios JM. Serotonergic terminal transporters are differentially affected in Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy: an autoradiographic study with [<sup>3</sup>H]citalopram. *Neuroscience* 1993; 54: 691-9.
- Cicchetti F, Beach TG, Parent A. Chemical phenotype of calretinin interneurons in the human striatum. *Synapse* 1998; 30: 284-97.
- Cicchetti F, Prensa L, Wu Y, Parent A. Chemical anatomy of striatal interneurons in normal individuals and in patients with Huntington's disease. *Brain Res Brain Res Rev* 2000; 34: 80-101.
- Ciechanover A, Brundin P. The ubiquitin proteasome system in neurodegenerative diseases: sometimes the chicken, sometimes the egg. *Neuron* 2003; 40: 427-46.
- Comella CL, Nardine TM, Diederich NJ, Stebbins GT. Sleep-related violence, injury, and REM sleep behavior disorder in Parkinson's disease. *Neurology* 1998; 51: 526-9.
- Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. Dopamine. *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*, 8<sup>th</sup> Edition. New York: Oxford University Press, 2003: 225-70.
- Cowan WM, Powell TP. A study of thalamo-striate relations in the monkey. *Brain* 1956; 79: 364-90.
- Dawbarn D, De Quidt ME, Emson PC. Survival of basal ganglia neuropeptide Y-somatostatin neurones in Huntington's disease. *Brain Res* 1985; 340: 251-60.
- Dayhaw LT. *Manuel de Statistique*, 4<sup>e</sup> Édition. Ottawa: Éditions de l'Université d'Ottawa, 1969.
- De Deurwaerdere P, Navailles S, Berg KA, Clarke WP, Spampinato U. Constitutive activity of the serotonin<sub>2C</sub> receptor inhibits in vivo dopamine release in the rat striatum and nucleus accumbens. *J Neurosci* 2004; 24: 3235-41.
- DeArmond SJ, Fusco MM, Dewey MM. *Structure of the Human Brain*. New York: Oxford University Press, 1976.
- DeLong MR. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci* 1990; 13: 281-5.
- Descarries L, Soghomonian JJ, Garcia S, Doucet G, Bruno JP. Ultrastructural analysis of the serotonin hyperinnervation in adult rat neostriatum following neonatal dopamine denervation with 6-hydroxydopamine. *Brain Res* 1992; 569: 1-13.
- Dewhurst K, Oliver JE, McKnight AL. Socio-psychiatric consequences of Huntington's disease. *Br J Psychiatry* 1970; 116: 255-8.



- Di Giovanni G, Di Matteo V, Pierucci M, Esposito E. Serotonin-dopamine interaction: electrophysiological evidence. *Prog Brain Res* 2008; 172: 45-71.
- Di Giovanni G, De Deurwaerdere P, Di Mascio M, Di Matteo V, Esposito E, Spampinato U. Selective blockade of serotonin-2C/2B receptors enhances mesolimbic and mesostriatal dopaminergic function: a combined in vivo electrophysiological and microdialysis study. *Neuroscience* 1999; 91: 587-97.
- Di Maio L, Squitieri F, Napolitano G, Campanella G, Trofatter JA, Conneally PM. Suicide risk in Huntington's disease. *J Med Genet* 1993; 30: 293-5.
- Di Matteo V, Pierucci M, Esposito E, Crescimanno G, Benigno A, Di Giovanni G. Serotonin modulation of the basal ganglia circuitry: therapeutic implication for Parkinson's disease and other motor disorders. *Prog Brain Res* 2008; 172: 423-63.
- DiFiglia M, Pasik P, Pasik T. A Golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkeys. *Brain Res* 1976; 114: 245-56.
- DiFiglia M, Sapp E, Chase KO, Davies SW, Bates GP, Vonsattel JP, et al. Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science* 1997; 277: 1990-3.
- Djousse L, Knowlton B, Hayden MR, Almqvist EW, Brinkman RR, Ross CA, et al. Evidence for a modifier of onset age in Huntington disease linked to the HD gene in 4p16. *Neurogenetics* 2004; 5: 109-14.
- Donoghue JP, Herkenham M. Neostriatal projections from individual cortical fields conform to histochemically distinct striatal compartments in the rat. *Brain Res* 1986; 365: 397-403.
- Dragatsis I, Levine MS, Zeitlin S. Inactivation of Hdh in the brain and testis results in progressive neurodegeneration and sterility in mice. *Nat Genet* 2000; 26: 300-6.
- Duyao MP, Auerbach AB, Ryan A, Persichetti F, Barnes GT, McNeil SM, et al. Inactivation of the mouse Huntington's disease gene homolog Hdh. *Science* 1995; 269: 407-10.
- Ehringer H, Hornykiewicz O. [Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system.]. *Klin Wochenschr* 1960; 38: 1236-9.
- Elbaz A, Tranchant C. Epidemiologic studies of environmental exposures in Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2007; 262: 37-44.
- Eskow KL, Gupta V, Alam S, Park JY, Bishop C. The partial 5-HT(1A) agonist buspirone reduces the expression and development of l-DOPA-induced dyskinesia in rats and improves l-DOPA efficacy. *Pharmacol Biochem Behav* 2007; 87: 306-14.

- Fahn S. Description of Parkinson's disease as a clinical syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 991: 1-14.
- Fahn S, Sulzer D. Neurodegeneration and neuroprotection in Parkinson disease. *NeuroRx* 2004; 1: 139-54.
- Felten DL, Sladek JR, Jr. Monoamine distribution in primate brain. V. Monoaminergic nuclei: anatomy, pathways, and local organization. *Brain Res Bull* 1982; 9: 253-4.
- Ferrante RJ, Kowall NW. Tyrosine hydroxylase-like immunoreactivity is distributed in the matrix compartment of normal human and Huntington's disease striatum. *Brain Res* 1987; 416: 141-6.
- Ferrante RJ, Beal MF, Kowall NW, Richardson EP, Jr., Martin JB. Spraying of acetylcholinesterase-containing striatal neurons in Huntington's disease. *Brain Res* 1987a; 411: 162-6.
- Ferrante RJ, Kowall NW, Beal MF, Richardson EP, Jr., Bird ED, Martin JB. Selective sparing of a class of striatal neurons in Huntington's disease. *Science* 1985; 230: 561-3.
- Ferrante RJ, Kowall NW, Beal MF, Martin JB, Bird ED, Richardson EP, Jr. Morphologic and histochemical characteristics of a spared subset of striatal neurons in Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1987b; 46: 12-27.
- Folstein S, Abbott MH, Chase GA, Jensen BA, Folstein MF. The association of affective disorder with Huntington's disease in a case series and in families. *Psychol Med* 1983; 13: 537-42.
- Gagnon JF, Bedard MA, Fantini ML, Petit D, Panisset M, Rompre S, et al. REM sleep behavior disorder and REM sleep without atonia in Parkinson's disease. *Neurology* 2002; 59: 585-9.
- Gaspar P, Febvret A, Colombo J. Serotonergic sprouting in primate MTP-induced hemiparkinsonism. *Exp Brain Res* 1993; 96: 100-6.
- Gibb WR. Neuropathology of the substantia nigra. *Eur Neurol* 1991; 31 Suppl 1: 48-59.
- Gibb WR, Lees AJ. The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988; 51: 745-52.
- Gibb WR, Lees AJ. Anatomy, pigmentation, ventral and dorsal subpopulations of the substantia nigra, and differential cell death in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991; 54: 388-96.
- Gil JM, Rego AC. Mechanisms of neurodegeneration in Huntington's disease. *Eur J Neurosci* 2008; 27: 2803-20.



- Ginovart N, Lundin A, Farde L, Halldin C, Backman L, Swahn CG, et al. PET study of the pre- and post-synaptic dopaminergic markers for the neurodegenerative process in Huntington's disease. *Brain* 1997; 120 ( Pt 3): 503-14.
- Goldberg AL. Protein degradation and protection against misfolded or damaged proteins. *Nature* 2003; 426: 895-9.
- Goto Y, Otani S, Grace AA. The Yin and Yang of dopamine release: a new perspective. *Neuropharmacology* 2007; 53: 583-7.
- Graybiel AM. Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *Trends Neurosci* 1990; 13: 244-54.
- Graybiel AM, Ragsdale CW, Jr. Histochemically distinct compartments in the striatum of human, monkeys, and cat demonstrated by acetylthiocholinesterase staining. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1978; 75: 5723-6.
- Guerra MJ, Liste I, Labandeira-Garcia JL. Effects of lesions of the nigrostriatal pathway and of nigral grafts on striatal serotonergic innervation in adult rats. *Neuroreport* 1997; 8: 3485-8.
- Gusella JF. Huntington Disease. *Encyclopedia of Life Sciences: John Wiley & Sons*, 2001.
- Guttman M, Boileau I, Warsh J, Saint-Cyr JA, Ginovart N, McCluskey T, et al. Brain serotonin transporter binding in non-depressed patients with Parkinson's disease. *Eur J Neurol* 2007; 14: 523-8.
- Guzman RG, Kendrick KM, Emson PC. Effect of substance P on acetylcholine and dopamine release in the rat striatum: a microdialysis study. *Brain Res* 1993; 622: 147-54.
- Haber SN, Lynd E, Klein C, Groenewegen HJ. Topographic organization of the ventral striatal efferent projections in the rhesus monkey: an anterograde tracing study. *J Comp Neurol* 1990; 293: 282-98.
- Halliday GM, Blumbergs PC, Cotton RG, Blessing WW, Geffen LB. Loss of brainstem serotonin- and substance P-containing neurons in Parkinson's disease. *Brain Res* 1990; 510: 104-7.
- Hirsch E, Graybiel AM, Agid YA. Melanized dopaminergic neurons are differentially susceptible to degeneration in Parkinson's disease. *Nature* 1988; 334: 345-8.
- Hoehn MM, Yahr MD. Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology* 1967; 17: 427-42.

- Hollister AS, Breese GR, Mueller RA. Role of monoamine neural systems in L-dihydroxyphenylalanine-stimulated activity. *J Pharmacol Exp Ther* 1979; 208: 37-43.
- Hornung JP. The human raphe nuclei and the serotonergic system. *J Chem Neuroanat* 2003; 26: 331-43.
- Hornykiewicz O. Chemical neuroanatomy of the basal ganglia--normal and in Parkinson's disease. *J Chem Neuroanat* 2001; 22: 3-12.
- Hornykiewicz O, Kish SJ. Biochemical pathophysiology of Parkinson's disease. *Adv Neurol* 1987; 45: 19-34.
- Huntington's Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 1993; 72: 971-83.
- Huntington G. On chorea (1872). George Huntington, M.D. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2003; 15: 109-12.
- Huot P, Parent A. Dopaminergic neurons intrinsic to the striatum. *J Neurochem* 2007; 101: 1441-7.
- Huot P, Levesque M, Parent A. The fate of striatal dopaminergic neurons in Parkinson's disease and Huntington's chorea. *Brain* 2007; 130: 222-32.
- Jacobs BL, Azmitia EC. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev* 1992; 72: 165-229.
- Javoy-Agid F, Agid Y. Is the mesocortical dopaminergic system involved in Parkinson disease? *Neurology* 1980; 30: 1326-30.
- Jellinger K. Overview of morphological changes in Parkinson's disease. *Adv Neurol* 1987; 45: 1-18.
- Jensen P, Sorensen SA, Fenger K, Bolwig TG. A study of psychiatric morbidity in patients with Huntington's disease, their relatives, and controls. Admissions to psychiatric hospitals in Denmark from 1969 to 1991. *Br J Psychiatry* 1993; 163: 790-7.
- Jones EG, Leavitt RY. Retrograde axonal transport and the demonstration of non-specific projections to the cerebral cortex and striatum from thalamic intralaminar nuclei in the rat, cat and monkey. *J Comp Neurol* 1974; 154: 349-77.
- Katzenschlager R, Lees AJ. Olfaction and Parkinson's syndromes: its role in differential diagnosis. *Curr Opin Neurol* 2004; 17: 417-23.



- Kegel KB, Meloni AR, Yi Y, Kim YJ, Doyle E, Cuiffo BG, et al. Huntingtin is present in the nucleus, interacts with the transcriptional corepressor C-terminal binding protein, and represses transcription. *J Biol Chem* 2002; 277: 7466-76.
- Kerenyi L, Ricaurte GA, Schretlen DJ, McCann U, Varga J, Mathews WB, et al. Positron emission tomography of striatal serotonin transporters in Parkinson disease. *Arch Neurol* 2003; 60: 1223-9.
- Kim SE, Choi JY, Choe YS, Choi Y, Lee WY. Serotonin transporters in the midbrain of Parkinson's disease patients: a study with <sup>123</sup>I-beta-CIT SPECT. *J Nucl Med* 2003; 44: 870-6.
- Kimura H, McGeer PL, Peng JH, McGeer EG. The central cholinergic system studied by choline acetyltransferase immunohistochemistry in the cat. *J Comp Neurol* 1981; 200: 151-201.
- Kish SJ. Biochemistry of Parkinson's disease: is a brain serotonergic deficiency a characteristic of idiopathic Parkinson's disease? *Adv Neurol* 2003; 91: 39-49.
- Kish SJ, Shannak K, Hornykiewicz O. Elevated serotonin and reduced dopamine in subregionally divided Huntington's disease striatum. *Ann Neurol* 1987; 22: 386-9.
- Kish SJ, Shannak K, Hornykiewicz O. Uneven pattern of dopamine loss in the striatum of patients with idiopathic Parkinson's disease. Pathophysiologic and clinical implications. *N Engl J Med* 1988; 318: 876-80.
- Kish SJ, Rajput A, Gilbert J, Rozdilsky B, Chang LJ, Shannak K, et al. Elevated gamma-aminobutyric acid level in striatal but not extrastriatal brain regions in Parkinson's disease: correlation with striatal dopamine loss. *Ann Neurol* 1986; 20: 26-31.
- Kish SJ, Tong J, Hornykiewicz O, Rajput A, Chang LJ, Guttman M, et al. Preferential loss of serotonin markers in caudate versus putamen in Parkinson's disease. *Brain* 2008; 131: 120-31.
- Kopito RR. Aggresomes, inclusion bodies and protein aggregation. *Trends Cell Biol* 2000; 10: 524-30.
- Kremer B, Almqvist E, Theilmann J, Spence N, Telenius H, Goldberg YP, et al. Sex-dependent mechanisms for expansions and contractions of the CAG repeat on affected Huntington disease chromosomes. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 343-50.
- Kuemmerle S, Gutekunst CA, Klein AM, Li XJ, Li SH, Beal MF, et al. Huntington aggregates may not predict neuronal death in Huntington's disease. *Ann Neurol* 1999; 46: 842-9.

- Kunzle H. Bilateral projections from precentral motor cortex to the putamen and other parts of the basal ganglia. An autoradiographic study in *Macaca fascicularis*. *Brain Res* 1975; 88: 195-209.
- Laccone F, Engel U, Holinski-Feder E, Weigell-Weber M, Marczynek K, Nolte D, et al. DNA analysis of Huntington's disease: five years of experience in Germany, Austria, and Switzerland. *Neurology* 1999; 53: 801-6.
- Landwehrmeyer GB, McNeil SM, Dure LS, Ge P, Aizawa H, Huang Q, et al. Huntington's disease gene: regional and cellular expression in brain of normal and affected individuals. *Ann Neurol* 1995; 37: 218-30.
- Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. First of two parts. *N Engl J Med* 1998; 339: 1044-53.
- Lavoie B, Parent A. Immunohistochemical study of the serotonergic innervation of the basal ganglia in the squirrel monkey. *J Comp Neurol* 1990; 299: 1-16.
- Lee HJ, Rye DB, Hallanger AE, Levey AI, Wainer BH. Cholinergic vs. noncholinergic efferents from the mesopontine tegmentum to the extrapyramidal motor system nuclei. *J Comp Neurol* 1988; 275: 469-92.
- Lees AJ, Hardy J, Revesz T. Parkinson's disease. *Lancet* 2009; 373: 2055-66.
- Levesque M, Parent A. Axonal arborization of corticostriatal and corticothalamic fibers arising from prelimbic cortex in the rat. *Cereb Cortex* 1998; 8: 602-13.
- Levesque M, Gagnon S, Parent A, Deschenes. Axonal arborizations of corticostriatal and corticothalamic fibers arising from the second somatosensory area in the rat. *Cereb Cortex* 1996; 6: 759-70.
- Lloyd K, Hornykiewicz O. Parkinson's disease: activity of L-dopa decarboxylase in discrete brain regions. *Science* 1970; 170: 1212-3.
- Lloyd KG, Davidson L, Hornykiewicz O. The neurochemistry of Parkinson's disease: effect of L-dopa therapy. *J Pharmacol Exp Ther* 1975; 195: 453-64.
- Maat-Schieman ML, Dorsman JC, Smoor MA, Siesling S, Van Duinen SG, Verschuuren JJ, et al. Distribution of inclusions in neuronal nuclei and dystrophic neurites in Huntington disease brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999; 58: 129-37.
- MacDonald ME, Vonsattel JP, Shrinidhi J, Couropmitree NN, Cupples LA, Bird ED, et al. Evidence for the GluR6 gene associated with younger onset age of Huntington's disease. *Neurology* 1999; 53: 1330-2.
- Maeda T, Nagata K, Yoshida Y, Kannari K. Serotonergic hyperinnervation into the dopaminergic denervated striatum compensates for dopamine conversion from exogenously administered l-DOPA. *Brain Res* 2005; 1046: 230-3.



- Mann DM, Yates PO. Possible role of neuromelanin in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Mech Ageing Dev* 1983; 21: 193-203.
- Marin C, Aguilar E, Rodriguez-Oroz MC, Bartoszyk GD, Obeso JA. Local administration of sarizotan into the subthalamic nucleus attenuates levodopa-induced dyskinesias in 6-OHDA-lesioned rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2009; 204: 241-50.
- Marsden CD. The mysterious motor function of the basal ganglia: the Robert Wartenberg Lecture. *Neurology* 1982; 32: 514-39.
- Marsden CD. Function of the basal ganglia as revealed by cognitive and motor disorders in Parkinson's disease. *Can J Neurol Sci* 1984; 11: 129-35.
- Martin JB. Huntington's disease: new approaches to an old problem. The Robert Wartenberg lecture. *Neurology* 1984; 34: 1059-72.
- McGeer PL, McGeer EG. Enzymes associated with the metabolism of catecholamines, acetylcholine and GABA in human controls and patients with Parkinson's disease and Huntington's chorea. *J Neurochem* 1976; 26: 65-76.
- McNaught KS, Olanow CW. Protein aggregation in the pathogenesis of familial and sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2006; 27: 530-45.
- McNeil SM, Novelletto A, Srinidhi J, Barnes G, Kornbluth I, Altherr MR, et al. Reduced penetrance of the Huntington's disease mutation. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 775-9.
- Miyawaki E, Meah Y, Koller WC. Serotonin, dopamine, and motor effects in Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol* 1997; 20: 300-10.
- Munoz A, Li Q, Gardoni F, Marcello E, Qin C, Carlsson T, et al. Combined 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonists for the treatment of L-DOPA-induced dyskinesia. *Brain* 2008; 131: 3380-94.
- Muslimovic D, Post B, Speelman JD, Schmand B. Cognitive profile of patients with newly diagnosed Parkinson disease. *Neurology* 2005; 65: 1239-45.
- Nagatsu T, Kato T, Numata Y, Ikuta K, Sano M. Phenylethanolamine N-methyltransferase and other enzymes of catecholamine metabolism in human brain. *Clin Chim Acta* 1977; 75: 221-32.
- Nance MA, Myers RH. Juvenile onset Huntington's disease--clinical and research perspectives. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2001; 7: 153-7.
- Nasir J, Floresco SB, O'Kusky JR, Diewert VM, Richman JM, Zeisler J, et al. Targeted disruption of the Huntington's disease gene results in embryonic lethality and behavioral and morphological changes in heterozygotes. *Cell* 1995; 81: 811-23.

- Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron* 2002; 34: 13-25.
- Ng KY, Colburn RW, Kopin IJ. Effects of L-dopa on efflux of cerebral monoamines from synaptosomes. *Nature* 1971; 230: 331-2.
- Nielsen K, Brask D, Knudsen GM, Aznar S. Immunodetection of the serotonin transporter protein is a more valid marker for serotonergic fibers than serotonin. *Synapse* 2006; 59: 270-6.
- Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Rodriguez M, Arbizu J, Gimenez-Amaya JM. The basal ganglia and disorders of movement: pathophysiological mechanisms. *News Physiol Sci* 2002; 17: 51-5.
- Oertel WH, Mugnaini E. Immunocytochemical studies of GABAergic neurons in rat basal ganglia and their relations to other neuronal systems. *Neurosci Lett* 1984; 47: 233-8.
- Olanow CW, McNaught KS. Ubiquitin-proteasome system and Parkinson's disease. *Mov Disord* 2006; 21: 1806-23.
- Olanow CW, Stern MB, Sethi K. The scientific and clinical basis for the treatment of Parkinson disease (2009). *Neurology* 2009; 72: S1-136.
- Oyanagi K, Takeda S, Takahashi H, Ohama E, Ikuta F. A quantitative investigation of the substantia nigra in Huntington's disease. *Ann Neurol* 1989; 26: 13-9.
- Parent A. Extrinsic connections of the basal ganglia. *Trends Neurosci* 1990; 13: 254-8.
- Parent A. *Carpenter's Human Neuroanatomy*, 9<sup>th</sup> Edition. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996.
- Parent A, Hazrati LN. Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res Brain Res Rev* 1995; 20: 91-127.
- Parent A, Cicchetti F. The current model of basal ganglia organization under scrutiny. *Mov Disord* 1998; 13: 199-202.
- Parent A, Mackey A, De Bellefeuille L. The subcortical afferents to caudate nucleus and putamen in primate: a fluorescence retrograde double labeling study. *Neuroscience* 1983; 10: 1137-50.
- Parent A, Levesque M, Parent M. A re-evaluation of the current model of the basal ganglia. *Parkinsonism Relat Disord* 2001; 7: 193-198.
- Parent A, Sato F, Wu Y, Gauthier J, Levesque M, Parent M. Organization of the basal ganglia: the importance of axonal collateralization. *Trends Neurosci* 2000; 23: S20-7.



- Parkinson J. An essay on the shaking palsy. 1817. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2002; 14: 223-36; discussion 222.
- Paulus W, Jellinger K. The neuropathologic basis of different clinical subgroups of Parkinson's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1991; 50: 743-55.
- Penney JB, Jr., Young AB. Speculations on the functional anatomy of basal ganglia disorders. *Annu Rev Neurosci* 1983; 6: 73-94.
- Phelps PE, Vaughn JE. Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase in rat ventral striatum: a light and electron microscopic study. *J Neurocytol* 1986; 15: 595-617.
- Phelps PE, Houser CR, Vaughn JE. Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase within the rat neostriatum: a correlated light and electron microscopic study of cholinergic neurons and synapses. *J Comp Neurol* 1985; 238: 286-307.
- Phillipson OT, Griffiths AC. The topographic order of inputs to nucleus accumbens in the rat. *Neuroscience* 1985; 16: 275-96.
- Pimoule C, Schoemaker H, Javoy-Agid F, Scatton B, Agid Y, Langer SZ. Decrease in [3H]cocaine binding to the dopamine transporter in Parkinson's disease. *Eur J Pharmacol* 1983; 95: 145-6.
- Poewe W, Luginger E. Depression in Parkinson's disease: impediments to recognition and treatment options. *Neurology* 1999; 52: S2-6.
- Prensa L, Gimenez-Amaya JM, Parent A. Chemical heterogeneity of the striosomal compartment in the human striatum. *J Comp Neurol* 1999; 413: 603-18.
- Price KS, Farley IJ, Hornykiewicz O. Neurochemistry of Parkinson's disease: relation between striatal and limbic dopamine. *Adv Biochem Psychopharmacol* 1978; 19: 293-300.
- Purdon SE, Mohr E, Ilivitsky V, Jones BD. Huntington's disease: pathogenesis, diagnosis and treatment. *J Psychiatry Neurosci* 1994; 19: 359-67.
- Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz L, LaMantia AS, McNamara JO, et al. *Neurosciences*, 2<sup>e</sup> Édition française. Italie: De Boeck, 2003.
- Ragsdale CW, Jr., Graybiel AM. The fronto-striatal projection in the cat and monkey and its relationship to inhomogeneities established by acetylcholinesterase histochemistry. *Brain Res* 1981; 208: 259-66.
- Raisman R, Cash R, Agid Y. Parkinson's disease: decreased density of <sup>3</sup>H-imipramine and <sup>3</sup>H-paroxetine binding sites in putamen. *Neurology* 1986; 36: 556-60.

- Reiner A, Albin RL, Anderson KD, D'Amato CJ, Penney JB, Young AB. Differential loss of striatal projection neurons in Huntington disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85: 5733-7.
- Reynolds GP, Pearson SJ. Decreased glutamic acid and increased 5-hydroxytryptamine in Huntington's disease brain. *Neurosci Lett* 1987; 78: 233-8.
- Ribak CE, Vaughn JE, Roberts E. The GABA neurons and their axon terminals in rat corpus striatum as demonstrated by GAD immunocytochemistry. *J Comp Neurol* 1979; 187: 261-83.
- Richardson EP, Jr. Third Dorothy S. Russell memorial lecture. Huntington's disease: some recent neuropathological studies. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1990; 16: 451-60.
- Richfield EK, Maguire-Zeiss KA, Cox C, Gilmore J, Voorn P. Reduced expression of preproenkephalin in striatal neurons from Huntington's disease patients. *Ann Neurol* 1995; 37: 335-43.
- Rinne UK, Sonninen V, Riekkinen P, Laaksonen H. Dopaminergic nervous transmission in Parkinson's disease. *Med Biol* 1974; 52: 208-17.
- Rozas G, Liste I, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL. Sprouting of the serotonergic afferents into striatum after selective lesion of the dopaminergic system by MPTP in adult mice. *Neurosci Lett* 1998; 245: 151-4.
- Rubinsztein DC, Leggo J, Coles R, Almqvist E, Biancalana V, Cassiman JJ, et al. Phenotypic characterization of individuals with 30-40 CAG repeats in the Huntington disease (HD) gene reveals HD cases with 36 repeats and apparently normal elderly individuals with 36-39 repeats. *Am J Hum Genet* 1996; 59: 16-22.
- Ruocco HH, Lopes-Cendes I, Li LM, Cendes F. Evidence of thalamic dysfunction in Huntington disease by proton magnetic resonance spectroscopy. *Mov Disord* 2007; 22: 2052-6.
- Russchen FT, Bakst I, Amaral DG, Price JL. The amygdalostriatal projections in the monkey. An anterograde tracing study. *Brain Res* 1985; 329: 241-57.
- Sadikot AF, Parent A, Francois C. The centre median and parafascicular thalamic nuclei project respectively to the sensorimotor and associative-limbic striatal territories in the squirrel monkey. *Brain Res* 1990; 510: 161-5.
- Sadikot AF, Parent A, Francois C. Efferent connections of the centromedian and parafascicular thalamic nuclei in the squirrel monkey: a PHA-L study of subcortical projections. *J Comp Neurol* 1992; 315: 137-59.



- Sapp E, Penney J, Young A, Aronin N, Vonsattel JP, DiFiglia M. Axonal transport of N-terminal huntingtin suggests early pathology of corticostriatal projections in Huntington disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999; 58: 165-73.
- Sapp E, Ge P, Aizawa H, Bird E, Penney J, Young AB, et al. Evidence for a preferential loss of enkephalin immunoreactivity in the external globus pallidus in low grade Huntington's disease using high resolution image analysis. *Neuroscience* 1995; 64: 397-404.
- Scatton B, Javoy-Agid F, Rouquier L, Dubois B, Agid Y. Reduction of cortical dopamine, noradrenaline, serotonin and their metabolites in Parkinson's disease. *Brain Res* 1983; 275: 321-8.
- Scholtissen B, Deumens R, Leentjens AF, Schmitz C, Blokland A, Steinbusch HW, et al. Functional investigations into the role of dopamine and serotonin in partial bilateral striatal 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 83: 175-85.
- Schulz JB, Falkenburger BH. Neuronal pathology in Parkinson's disease. *Cell Tissue Res* 2004; 318: 135-47.
- Sershen H, Hashim A, Lajtha A. Serotonin-mediated striatal dopamine release involves the dopamine uptake site and the serotonin receptor. *Brain Res Bull* 2000; 53: 353-7.
- Smith Y, Bevan MD, Shink E, Bolam JP. Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neuroscience* 1998; 86: 353-87.
- Snyder AM, Zigmond MJ, Lund RD. Sprouting of serotonergic afferents into striatum after dopamine-depleting lesions in infant rats: a retrograde transport and immunocytochemical study. *J Comp Neurol* 1986; 245: 274-81.
- Sperk G, Berger M, Hortnagl H, Hornykiewicz O. Kainic acid-induced changes of serotonin and dopamine metabolism in the striatum and substantia nigra of the rat. *Eur J Pharmacol* 1981; 74: 279-86.
- Spokes EG. Neurochemical alterations in Huntington's chorea: a study of post-mortem brain tissue. *Brain* 1980; 103: 179-210.
- Squitieri F, Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B, Spence N, Zeisler J, et al. DNA haplotype analysis of Huntington disease reveals clues to the origins and mechanisms of CAG expansion and reasons for geographic variations of prevalence. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 2103-14.
- Stachowiak MK, Bruno JP, Snyder AM, Stricker EM, Zigmond MJ. Apparent sprouting of striatal serotonergic terminals after dopamine-depleting brain lesions in neonatal rats. *Brain Res* 1984; 291: 164-7.

- Steece-Collier K, Maries E, Kordower JH. Etiology of Parkinson's disease: Genetics and environment revisited. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 13972-4.
- Steinbusch HW. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Neuroscience* 1981; 6: 557-618.
- Suzuki M, Desmond TJ, Albin RL, Frey KA. Vesicular neurotransmitter transporters in Huntington's disease: initial observations and comparison with traditional synaptic markers. *Synapse* 2001; 41: 329-36.
- Tanaka H, Kannari K, Maeda T, Tomiyama M, Suda T, Matsunaga M. Role of serotonergic neurons in L-DOPA-derived extracellular dopamine in the striatum of 6-OHDA-lesioned rats. *Neuroreport* 1999; 10: 631-4.
- Tanaka M, Kim YM, Lee G, Junn E, Iwatsubo T, Mouradian MM. Aggregates formed by alpha-synuclein and synphilin-1 are cytoprotective. *J Biol Chem* 2004; 279: 4625-31.
- Trottier Y, Biancalana V, Mandel JL. Instability of CAG repeats in Huntington's disease: relation to parental transmission and age of onset. *J Med Genet* 1994; 31: 377-82.
- Uhl GR, Hedreen JC, Price DL. Parkinson's disease: loss of neurons from the ventral tegmental area contralateral to therapeutic surgical lesions. *Neurology* 1985; 35: 1215-8.
- Van Bockstaele EJ, Biswas A, Pickel VM. Topography of serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus that send axon collaterals to the rat prefrontal cortex and nucleus accumbens. *Brain Res* 1993; 624: 188-98.
- Velier J, Kim M, Schwarz C, Kim TW, Sapp E, Chase K, et al. Wild-type and mutant huntingtins function in vesicle trafficking in the secretory and endocytic pathways. *Exp Neurol* 1998; 152: 34-40.
- Vonsattel JP, DiFiglia M. Huntington disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1998; 57: 369-84.
- Vonsattel JP, Keller C, Pilar Amaya MD. Neuropathology of Huntington's Disease. *Handb Clin Neurol* 2008; 89: 599-618.
- Vonsattel JP, Myers RH, Stevens TJ, Ferrante RJ, Bird ED, Richardson EP, Jr. Neuropathological classification of Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1985; 44: 559-77.
- Walker FO. Huntington's disease. *Lancet* 2007; 369: 218-28.
- Wichmann T, DeLong MR. Pathophysiology of parkinsonian motor abnormalities. *Adv Neurol* 1993; 60: 53-61.



- Wilson CJ, Groves PM. Fine structure and synaptic connections of the common spiny neuron of the rat neostriatum: a study employing intracellular inject of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 1980; 194: 599-615.
- Wilson JM, Levey AI, Rajput A, Ang L, Guttman M, Shannak K, et al. Differential changes in neurochemical markers of striatal dopamine nerve terminals in idiopathic Parkinson's disease. *Neurology* 1996; 47: 718-26.
- Yamazoe I, Takeuchi Y, Matsushita H, Kawano H, Sawada T. Serotonergic heterotypic sprouting in the unilaterally dopamine-depleted mouse neostriatum. *Dev Neurosci* 2001; 23: 78-83.
- Yohrling Gjt, Jiang GC, DeJohn MM, Miller DW, Young AB, Vrana KE, et al. Analysis of cellular, transgenic and human models of Huntington's disease reveals tyrosine hydroxylase alterations and substantia nigra neuropathology. *Brain Res Mol Brain Res* 2003; 119: 28-36.
- Zeitlin S, Liu JP, Chapman DL, Papaioannou VE, Efstratiadis A. Increased apoptosis and early embryonic lethality in mice nullizygous for the Huntington's disease gene homologue. *Nat Genet* 1995; 11: 155-63.
- Zhang X, Andren PE, Greengard P, Svenningsson P. Evidence for a role of the 5-HT1B receptor and its adaptor protein, p11, in L-DOPA treatment of an animal model of Parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 2163-8.
- Zigmond MJ, Abercrombie ED, Berger TW, Grace AA, Stricker EM. Compensations after lesions of central dopaminergic neurons: some clinical and basic implications. *Trends Neurosci* 1990; 13: 290-6.