

2M11.2663.6

Université de Montréal

Développement postnatal des propriétés électrophysiologiques des neurones  
du noyau accumbens chez le rat *in vitro*

Marc Belleau

Sciences Biomédicales

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
Maître ès sciences (M.Sc)

2 Novembre, 1998



2.11.2008

W  
4  
U58  
1998  
V.113

Université de Montréal

Les étudiants peuvent des réponses électroniques des questions

du moyen électronique chez le professeur

John Bellon

Sciences Informatiques

Faculté de Génie

Membre associé à l'École des études supérieures

et des technologies de l'information

Montréal, Québec H3T 2M4

1000 Avenue



Université de Montréal

Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

Développement postnatal des propriétés électrophysiologiques des neurones  
du noyau accumbens chez le rat *in vitro*

présenté par:

Marc Belleau

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Dr. Roger Godbout

Dr. Pierre-Paul Rompré

Mémoire accepté le: 10.11.1988

## SOMMAIRE

L'importance attribuée au noyau accumbens dans la modulation du comportement et le fait que le comportement soit façonné par l'environnement pendant le développement ont motivé la présente étude de l'évolution postnatale des canaux membranaires des neurones du noyau accumbens chez les rats. Les neurones furent enregistrés *in vitro* par la technique de "*whole cell patch-clamp*". A tout âge, la grande majorité des neurones enregistrés avaient les propriétés électrophysiologiques des neurones de projection de taille moyenne avec épines dendritiques (MS) et nous avons concentré notre étude sur ceux-ci. Nous avons observé que la résistance membranaire des neurones MS décroît substantiellement durant les 50 premiers jours postnataux (P1-50). Une rectification entrante sensible au césium et au tétra-éthyl ammonium (TEA) apparaît une semaine après la naissance et devient de plus en plus proéminente avec l'âge. La durée des potentiels d'action  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  décroît avec l'âge et elle est sensible au QX314 et au TEA à tout âge. Les hyperpolarisations qui suivent le potentiel d'action (AHPs) sont présentes dès la naissance et sont substantiellement réduites en présence de 4-amino-pyridine (4-AP) à tout âge. Les décharges calciques à bas seuil sont aussi évidentes dès la naissance. Le courant nécessaire pour provoquer des décharges augmente pendant le développement en raison de la diminution de la résistance membranaire. On note une adaptation assez évidente dans le train de décharges indépendamment de l'âge.

En conclusion, ces résultats démontrent que les propriétés électrophysiologiques



des neurones MS sont, tôt après la naissance, aptes à faciliter la stimulation de ces neurones MS par des afférences excitatrices. Elles pourraient donc faciliter la contribution de l'activité synaptique à la plasticité neuronale en bas âge.

## TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE	iii
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES ABBRÉVIATIONS	vii
1. INTRODUCTION	1
1.1 Motivation pour étudier le développement du nAcc	1
1.2 Structure du nAcc adulte	3
1.3 Interconnexions du nAcc	4
1.31 Le système dopaminergique	8
1.32 Le système glutamatergique	9
1.4 Implication du nAcc dans le comportement	9
1.5 Etudes du développement du système dopaminergique	12
1.6 Propriétés électrophysiologiques des neurones du nAcc adulte	13
1.7 Développement postnatal des propriétés électrophysiologiques dans d'autres structures du CNS	19
2. PUBLICATION	21
3. DISCUSSION	67
3.1 Critères de classification des neurones MS	68
3.2 Le Potentiel Membranaire au Repos	70

---

	vi
3.3 La Résistance Membranaire au Repos ( $R_m$ )	71
3.4 La Rectification Entrante	73
3.5 Potentiels d'action sodiques	74
3.6 Potentiels d'action calciques?	76
3.7 Train de décharge	78
3.8 Conclusions	81
4. BIBLIOGRAPHIE	84
5. REMERCIEMENTS	ix

## LISTE DES ABBRÉVIATIONS

4-AP	4-amino-pyridine
ADP	“ <i>After DePolarization</i> ” dépolarisation qui suit le potentiel d'action
AHP	“ <i>After HyperPolarization</i> ” hyperpolarisation qui suit le potentiel d'action
AMPA	alpha-amino-3-hydroxy-5-méthylisoxazole-4-propionic acid
ChAT	choline acétyl transférase
Cs	césium
DNQX	6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione
En	n-ième jour embryonnaire
FS	“ <i>Fast Spiking</i> ” neurones à décharge rapide de courte durée
GABA	acide gamma amino-butyrique
HTS	“ <i>High Threshold Spike</i> ” neurones avec décharges lentes à haut seuil
$I_{K(Af)}$	(“ <i>f: Fast</i> ”) courant potassique dans le striatum dorsal, activé par la dépolarisation et s'inactivant rapidement
$I_{K(As)}$	(“ <i>s: Slow</i> ”) courant potassique dans le striatum dorsal, activé par la dépolarisation et s'inactivant plus lentement que $I_{K(Af)}$
$I_{K(Ca)}$	courant potassique dépendant du voltage et du calcium
$I_{K(DR)}$	(“ <i>DR: Delayed Rectifier</i> ”) courant potassique de la rectification retardée
$I_{K(ir)}$	(“ <i>ir: Inward Rectifier</i> ”) courant potassique de la rectification entrante dans le nAcc et qui activé par l'hyperpolarisation
$I_{K(ni)}$	( <i>ni: “Non-Inactivating”</i> ) courant potassique dans le striatum dorsal, activé par la dépolarisation et s'inactivant très lentement
$I_Q$	courant potassique de la rectification entrante dans l'hippocampe aussi dénommé $I_H$ ou $I_F$ (H: activé par l'hyperpolarisation; F: “ <i>funny</i> ”; Q: “ <i>queer</i> ”)
LA	“ <i>Large Aspiny</i> ” neurones de grande taille sans épines dendritiques
LGN	“ <i>Lateral Geniculate Nucleus</i> ” corps genouillé latéral
LTS	“ <i>Low Threshold Spike</i> ” neurones avec décharge à bas seuil

LTP	“ <i>Long Term Potentiation</i> ” potentialisation à long terme
LTD	“ <i>Long Term Depression</i> ” dépression à long terme
MEA	“ <i>midbrain extrapyramidal area</i> ” aire extrapyramidale du mésencéphale
MS	“ <i>Medium Spiny</i> ” neurones de taille moyenne avec épines dendritiques
nAcc	noyau accumbens
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
PAG	“ <i>periaqueductal grey area</i> ” substance grise périaqueducule
PFC	“ <i>PreFrontal Cortex</i> ” cortex préfrontal
Pn	n-ième jour postnatal
PPSE	potentiels postsynaptiques excitateurs
PPSI	potentiels postsynaptiques inhibiteurs
QX-314	N-(2,6-Dimethyl-phenylcarbamoylmethyl)triethylammonium bromide
$R_{in}$	“ <i>INput Resistance</i> ” résistance membranaire
RMP	“ <i>Resting Membrane Potential</i> ” potentiel de repos
SNC	substance noire pars compacta
SNr	substance noire pars reticulata
TEA	tétra-éthyl ammonium $N(C_2H_5O)_4^+Cl^-$
$\tau_m$	constante de temps membranaire
TTX	tetrodotoxin
VTA	“ <i>Ventral Tegmentum Area</i> ” aire tegmentaire ventrale

## 1. INTRODUCTION

### 1.1 Motivation pour étudier le développement du noyau accumbens (nAcc)

Le but de cet ouvrage est d'étudier les propriétés électrophysiologiques intrinsèques des neurones du nAcc en configuration "*whole cell*" dans des tranches de cerveau à différentes étapes du développement. Ces propriétés contribuent à la plasticité neuronale. Nous allons essayer de déterminer si leur développement en bas âge influence les maladies du comportement qui apparaissent à l'âge adulte et nous allons faire une comparaison avec le développement des propriétés électrophysiologiques intrinsèques des neurones dans d'autres noyaux du cerveau.

La plasticité neuronale est définie comme étant une modification des interconnexions neuronales, du patron de décharge, de l'intégration postsynaptique dans les dendrites ou du langage présynaptique des neurotransmetteurs qui persiste au delà de l'activité synaptique. L'activité synaptique se développe en parallèle avec les propriétés électrophysiologiques intrinsèques des membranes cellulaires de façon interdépendante. Par exemple, on attribue aux canaux potassiques un rôle important dans le contrôle des décharges, l'intégration postsynaptique et le langage présynaptique des neurotransmetteurs. Il y a donc une relation indirecte entre les propriétés électrophysiologiques intrinsèques et la plasticité neuronale. En utilisant des gènes mutants codants pour des sous-unités de canaux potassiques, Engel et Wu (1998) ont découvert que ces canaux affectent un certain circuit d'habituation dans la mouche *Drosophila*. Les exemples les plus connus de plasticité neuronale comprennent la potentialisation à long terme (LTP: "*Long Term Potentiation*"), la dépression à long terme (LTD: "*Long Term Depression*") ainsi que l'habituation. On peut s'attendre à ce

que la plasticité soit plus importante durant le développement que durant l'âge adulte. Dans le cortex visuel, cette plasticité se trouve présente tant sur le plan anatomique que sur le plan moléculaire: chez les chats embryonnaires, le blocage des potentiels d'action par le TTX empêche l'arborisation normale des axones émanant du corps genouillé latéral (LGN: "*Lateral Geniculate Nucleus*") dans la couche 4 du cortex visuel (Herrmann et Shatz 1995). Durant la période critique où les colonnes de dominance oculaire se forment, le nombre de récepteurs NMDA dans la couche 4 du cortex visuel dépend de l'activité rétinale. À la fin de la dite période, ce nombre diminue (Catalano et al. 1997). L'activité synaptique dépend en grande partie de l'expérience sensorielle. L'expérience sensorielle affecte aussi la maturation d'autres circuits du cortex (Katz et Shatz 1996). À certaines périodes du développement, l'activité synaptique module non seulement l'arborisation mais aussi l'élagage des connexions. Par exemple, en dehors du cortex cérébral, cet élimination des collatérales superflues se rencontre dans les cellules de Purkinge du cervelet (Rabacchi et al. 1992).

Dans ce qui suit, nous décrivons un exemple de plasticité développementale qui concerne les noyaux associés à la cognition et aux émotions, comme les structures limbiques. De jeunes rats isolés dans des cages de laboratoire pendant 1 mois ont une densité d'épines dendritiques dans le striatum qui est 30% inférieure à celle de jeunes rats élevés dans un environnement normal pendant la même période (Comery et al. 1995). Un développement anormal de la plasticité neuronale pourrait contribuer fortement à engendrer des maladies de comportement comme la schizophrénie. Puisque les symptômes de la schizophrénie apparaissent le plus souvent après la puberté, il a été

suggéré qu'un développement anormal des structures limbiques (Weinberger 1987; Weinberger et Lipska 1995), causé par un déséquilibre entre la neurotransmission glutamatergique et dopaminergique (Grace 1992; Deutch 1993; Deutch 1992; Flores et al. 1996), pourrait produire certains symptômes observés chez le patient schizophrène. D'après des études neurochimiques et électrophysiologiques sur des animaux anesthésiés, le nAcc serait un centre d'intégration des structures limbiques ayant comme voies de sortie les systèmes moteurs (Mogenson et al. 1980). Le nAcc, localisé dans le striatum ventral, pourrait jouer un rôle critique dans le contrôle du comportement. Nous élaborerons sur ce point plus tard. Si nous pouvions comprendre comment le développement affecte le comportement cela nous permettrait peut-être de guérir les maladies du comportement, ce qui suscite évidemment un grand intérêt tant sur le plan éthique que pratique.

## 1.2 Structure du nAcc adulte

Le nAcc est subdivisé en deux régions: l'une interne (*core*) et l'autre externe (*shell*) (Zahm et Heimer 1988). Le *core* est une extension ventrale du striatum tandis que le *shell* semble être une portion rostrale d'une extension de l'amygdale (Zaborszky et al. 1985). On distingue le *core* par une plus grande densité de récepteurs D<sub>2</sub> (Jongen-Relo et al., 1991). La protéine calbindin est très concentrée dans le *core* et absente dans le *shell* (Zahm et Heimer 1993). Par contre, le *core* exhibe une moins grande immunoréactivité pour la choline acétyl-transférase (ChAT), (Meredith et al. 1989) la neurotensine, (Zahm et Heimer 1988) et la cholécystokinine (Zaborszky et al. 1985).

Au moins 95% des neurones (Graveland et DiFiglia 1985) du nAcc sont de taille



moyenne (avec un soma de 10-20µm de diamètre) et leurs dendrites non primaires sont dotées de nombreuses épines (MS: "*medium spiny*"). Dans les neurones MS, des neuropeptides tels la substance P et la neurotensine sont colocalisés avec le neurotransmetteur GABA (Penny et al. 1986). Les neurones sans épines dendritiques seraient des interneurones. Certains sont cholinergiques, tandis que d'autres sont GABAergiques ou peptidergiques (Pickel et Chan 1990; Pickel et al. 1988; Walaas et Fonnum 1979).

Les neurones MS sont des neurones de projection qui forment localement un réseau dense d'axones collatéraux. Pennartz et Kitai (1991) et O'Donnell et Grace (1993b) ont enregistré des potentiels postsynaptiques inhibiteurs (PPSI) sur les neurones MS. On implique le neurotransmetteur GABA dans cette inhibition: certains axones collatéraux d'un neurone MS peuvent agir sur ce même neurone MS par l'intermédiaire des récepteurs GABA<sub>A</sub> (inhibition récurrente autaptique)(Shi et Rayport 1994). De plus, des interneurones GABAergiques dans le nAcc inhiberaient les neurones MS. Le trajet monosynaptique dans le cas de l'inhibition récurrente autaptique et le trajet disynaptique des interneurones expliqueraient donc la courte latence de l'inhibition GABAergique rapportées par O'Donnell et Grace (1993b).

### 1.3 Interconnexions du nAcc

Les afférences glutamatergiques innervant le *core* proviennent surtout du cortex préfrontal (PFC: "*PreFrontal Cortex*") (Sesack et al. 1989; McDonald 1991) et de l'hippocampe (DeFrance et al. 1985) tandis que celles qui innervent le *shell* proviennent du cortex entorhinal, de l'amygdale ainsi que de l'hippocampe (Sesack et Pickel 1990).

En particulier, les afférences hippocampiques ont leur origine principalement dans le subiculum ventral (Groenewegen et al. 1987). Il faut remarquer cependant que le nAcc est innervé par d'autres afférences glutamatergiques: par exemple, il en reçoit provenant des noyaux thalamiques intralaminaires et de la ligne médiane (Jayaraman 1985).

Les afférences glutamatergiques ne s'associent pas de la même façon dans le *shell* et le *core*: dans le *shell*, les afférences du PFC et de l'amygdale se superposent dans des régions de forte densité neuronale. Celles du thalamus et du subiculum ventral aboutissent toutes deux dans des régions de faible densité neuronale et donc il est possible qu'elles se superposent. Dans le *core*, les afférences du PFC, de l'amygdale et du thalamus se superposent dans des régions qui contiennent peu de calbindin (Groenewegen et al. 1996).

Les afférences glutamatergiques projettent de façon topographique: par exemple, celles que le *shell* reçoit provenant de l'hippocampe et de l'amygdale (Groenewegen et al. 1996). De plus, les afférences sont distribuées en fonction des compartiments immunohistochimiques: par exemple, dans le *core*, des afférences provenant de l'amygdale aboutissent dans des régions ayant différentes concentrations de calbindin, dépendamment de leur lieu d'origine dans l'amygdale (Brog et al. 1993).

Les afférences glutamatergiques sont excitatrices. Pennartz et Kitai (1991) et O'Donnell et Grace (1993b) ont enregistré des potentiels postsynaptiques excitateurs (PPSE) sur des neurones MS et comme on pourrait s'y attendre, presque toutes leurs terminaisons aboutissent sur les synapses assymétriques des épines dendritiques, qu'elles proviennent du PFC (Sesack et Pickel 1992) ou de l'hippocampe (Sesack et Pickel 1990).

Le nAcc reçoit aussi des afférences inhibitrices provenant du pallidum ventral, des afférences sérotonergiques du noyau raphe dorsalis et médianus, des afférences noradrénergiques du locus coeruleus et des afférences dopaminergiques de la substance noire médiane et de l'aire tegmentaire ventrale (VTA: "*Ventral Tegmentum Area*") (Groenewegen et al. 1996). Cette innervation provenant du VTA est importante notamment (Bjorklund et Lindvall 1984). On a démontré la présence de terminaisons immunopositives pour la tyrosine hydroxylase, une enzyme impliquée dans la synthèse de la dopamine. Presque toutes les terminaisons des afférences dopaminergiques aboutissent sur les synapses symétriques des dendrites ou sur les synapses symétriques du cou ou de la tête des épines dendritiques; la même épine ou dendrite a souvent des sites synaptiques avec des afférences excitatrices provenant du PFC et de l'hippocampe (Sesack et Pickel 1992; Sesack et Pickel 1990). Cette convergence des inputs glutamatergiques et dopaminergiques suggère que l'inhibition provoquée par les afférences dopaminergiques a un effet modulateur sur l'excitation provoquée par les afférences glutamatergiques et vice-versa. La cible principale des afférences glutamatergiques et dopaminergiques est donc probablement les neurones MS puisque le type MS est doté d'épines dendritiques.

Les afférences du nAcc sont GABAergiques et proviennent des neurones MS. Le *core* se projette vers la partie dorsolatérale du pallidum ventral dans une région immunoréactive pour l'enképhaline, et vers la substance noire pars compacta (SNc) (Groenewegen et al. 1996; Zahm et Heimer 1993; Zahm et Heimer 1990; Heimer et al. 1991; Groenewegen et al. 1994). L'immunoréactivité pour l'enképhaline dans le pallidum

ventral suggère que les neurones MS de projection libèrent ce neurotransmetteur (voir Penny et al. 1986). Le *shell* se projette à la partie ventromédiale du pallidum ventral, l'amygdale, l'hypothalamus latéral et le tegmentum mésencéphalique (Zahm et Heimer 1990; Groenewegen et Russchen 1984), au noyau rétro-rubral, à l'aire extrapyramidale du mésencéphale (MEA) et à la partie ventro-latérale de la substance grise périaqueducule (PAG) (Berendse et al. 1992). Le nAcc se projette aussi au septum et aux cellules dopaminergiques du VTA (Heimer et al. 1991).

Toutes ces projections suivent un ordre topographique. Cette relation topographique s'applique aussi aux compartiments du nAcc: le *shell* caudo-médian projettent vers la partie médiane du VTA tandis que le *shell* latéral et médian projettent vers le VTA latéral et la partie médiane du SNc (Berendse et al. 1992).

On note souvent une relation entre les afférences du nAcc et l'immunohistochimie: par exemple, les neurones du *core* contenant peu de calbindin projettent vers les cellules dopaminergiques du SNc tandis que les neurones du *core* qui en sont riches projettent vers la partie la plus médiane de la substance noire pars reticulata (SNr) (Berendse et al. 1992). Cependant, la relation entre les compartiments immunohistochimiques du nAcc et ses projections vers le pallidum ventral et l'hypothalamus latéral reste à être déterminé plus précisément.

Il reste aussi à détailler les voies des fibres nerveuses entre le système limbique et le système moteur. Par exemple, dans le *shell*, on a découvert une région à grande densité neuronale, recevant des afférences de l'amygdale et qui projette vers le MEA et le PAG. Une autre région à faible densité neuronale reçoit des afférences provenant du subiculum

ventral et projette elle aussi vers le MEA et le PAG (Groenewegen et al. 1996).

### 1.31 Le système dopaminergique

L'application de dopamine, par iontophorèse, ou l'activation du VTA, atténue la transmission glutamatergique dans le nAcc (White 1987; DeFrance et al. 1985; Yang et Mogenson 1984; Hara et al. 1989; Yim et Mogenson 1988). Comme les récepteurs glutamatergiques du type NMDA jouent un rôle essentiel dans la plasticité (Feasey-Truger et ten Bruggencate 1994; Bear et al. 1990), on peut apprécier combien la modulation par la dopamine est importante durant le développement de cette plasticité. Nicola et al. (1996) rapportent que cette atténuation de l'amplitude des PPSE par la dopamine se fait par l'entremise des hétérorécepteurs  $D_1$  présynaptiques. L'activation de hétérorécepteurs  $D_2$  qui sont apparemment présynaptiques a aussi un effet inhibiteur sur les PPSE puisque leur blocage produit une augmentation de l'amplitude des PPSE (O'Donnell et Grace 1994). La dopamine n'a pas seulement un effet présynaptique puisque qu'on trouve aussi des récepteurs  $D_1$  et  $D_2$  colocalisés postsynaptiquement dans 38% des neurones du nAcc (Shetreat et al. 1996).

Maintenant, dans le *shell*, la dopamine diminue non seulement les PPSE mais aussi les PPSI en fonction de la concentration, en agissant possiblement sur les récepteurs  $D_1$  présynaptiques, (Pennartz et al. 1992b). La dopamine module donc non seulement l'action des afférences excitatrices mais aussi celle des terminaisons GABAergiques intrinsèques du nAcc.

Il y a des différences dans l'action de la dopamine entre le *core* et *shell*: par exemple, la dopamine atténue les réponses synaptiques excitatrices et inhibitrices dans le

*shell* et non dans le *core* (Pennartz et al. 1992a); de plus, la stimulation des récepteurs dopaminergiques D1 inhibe les décharges dues aux "gap junctions" dans le *core*; par contre, elle les augmente dans le *shell* (O'Donnell et Grace 1993a). On a suggéré que les différences dans l'action de la dopamine entre le *core* et *shell* seraient dues au fait que ces deux régions ne reçoivent pas des afférences dopaminergiques provenant de la même région et qu'en plus, ces afférences n'aboutissent pas sur les mêmes sites de terminaisons synaptiques (Sesack et Pickel 1992; Sesack et Pickel 1990).

### 1.32 Le système glutamatergique:

L'activation des récepteurs glutamatergiques métabotropiques (mGluR) dans le nAcc produit une augmentation persistante de la relâche de dopamine dans le nAcc chez le rat (Ohno et Watanabe 1995; Taber et Fibiger 1995). De plus, l'activation des récepteurs alpha-amino-3-hydroxy-5-méthylisoxazole-4-propionique acid (AMPA) dans le nAcc facilite les fonctions présynaptiques de la dopamine produisant entre autres une réduction de l'inhibition des impulsions pairées (PPI) dans le *core* (Wan et al. 1995; Wan et Swerdlow 1996). L'activation des récepteurs AMPA et N-méthyl-D-aspartate (NMDA) dans le VTA produit une hausse de la relâche de dopamine dans le *shell* (Karreman et al. 1996). Nous avons donc une interaction complexe entre les systèmes dopaminergiques et glutamatergiques.

### 1.4 Le nAcc et le comportement

Nous avons déjà mentionné plus haut que le nAcc lie l'hippocampe au pallidum ventral. L'hippocampe est une structure impliquée dans la mémoire (Gaffan 1974) et l'attention (Kemp et Kaada 1975) et le pallidum ventral est une structure impliquée dans

l'activation des mouvements volontaires (Swerdlow et Koob 1987). Il ne serait donc pas surprenant que le nAcc soit impliqué dans plusieurs aspects des comportements liés aux émotions, à la cognition et à la locomotion.

Dans ce qui suit, nous rapportons des observations sur la réponse motrice uniquement. Des rats qui explorent leur milieu naturel deviennent hyperactifs et perdent du poids suite à une lésion dans le *core* (Maldonado-Irizarry et Kelley 1995a). Si les terminaisons dopaminergiques dans le nAcc provenant du VTA sont détruites, l'activité locomotrice n'augmente plus lorsque les afférences provenant du subiculum ventrale sont stimulées (Wu et Brudzynski 1995). On peut conclure que dans le nAcc, la dopamine permet aux afférences de l'hippocampe d'exercer leur contrôle sur la locomotion. L'activation des récepteurs D<sub>1</sub> et D<sub>2</sub> dans le *shell* mais non dans le *core* augmente le mouvement des mâchoires (Cools et al. 1995) et incite l'animal à tourner dans la direction contro-latérale lorsque l'injection est faite unilatéralement (Koshikawa et al. 1996). Ici, on peut suggérer que la dopamine permet le contrôle de l'activité locomotrice générale exercé par des terminaisons excitatrices mais seulement dans le *shell*.

Selon le but que nous voulons atteindre, nous posons certains gestes et actions. Par exemple, nous allons en quête de nourriture si on est en appétit, ou d'eau si on a soif. Nous avons donc des comportements qui dépendent de l'origine de notre motivation. Le *shell* serait impliqué dans ces comportements où une récompense est attendue: en bloquant les récepteurs glutamatergiques du type alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) dans le *shell* mais non dans le *core*, on induit la prise de nourriture. Cependant, cette action est diminuée par l'administration

simultanée d'antagonistes des récepteurs  $D_1$  et  $D_2$ , (Maldonado-Irizarry et al. 1995).

Nous faisons plusieurs types d'associations avec une récompense désirée: la senteur d'un pain frais ou la cloche du camion de crème glacé ou juste penser à un mets préféré peut amorcer un désir de manger. De même, on peut conditionner des animaux à associer divers stimuli avec une récompense désirée: l'activité des neurones du nAcc est altérée par la présentation d'un stimulus qui signale l'apparition d'une récompense (Schultz et al. 1992; Chang et al 1994); Joseph et Hodges (1990) ont rapporté que le niveau de dopamine dans le nAcc est amplifié quand les rats sont conditionnés à faire une prise de nourriture en appuyant sur un levier. De façon réciproque, lorsqu'on injecte de la dopamine dans le nAcc chez les rats, on accentue le désir d'étancher la soif après avoir reçu un stimulus conditionnant (Cador et al. 1991).

Chez les consommateurs de stupéfiants tels l'héroïne et la cocaïne, on note que la quantité requise pour provoquer le même effet de récompense augmente avec l'usage répété (une tolérance se développe). De plus, des effets secondaires (e.g. paranoïa, anxiété, hyperactivité) analogues à ceux qu'on retrouve chez les schizophrènes sont ressentis surtout au début des périodes de sevrage. Pour des revues complètes sur les mécanismes moléculaires des dépendances aux narcotiques, on peut consulter les articles par Nestler (1992), Koob et Bloom (1988), Koob et Le Moal (1997) et Bloom (1997). Une chose est claire: le niveau de dopamine dans le nAcc est augmenté par l'usage de ces drogues. On remarque aussi que le niveau de glutamate dans le nAcc est plus élevé chez les rats sensibilisés par la cocaïne (Pierce et al. 1996). Le nAcc est donc impliqué dans le renforcement de la motivation.



Il y a aussi des résultats intéressants sur le plan cognitif. Chez le rat, une infusion de 6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione (DNQX, un antagoniste aux récepteurs AMPA) dans le *core*, compromet l'apprentissage de l'orientation spatiale alors qu'une injection dans le *shell* n'a pas d'effet (Maldonadoirizarry et Kelley 1995b). Chez les macaques qui ont subi des lésions excitotoxiques dans le nAcc, l'apprentissage d'une tâche dépendante de l'orientation spatiale est temporairement affecté. Par contre, le temps d'acquisition pour faire l'apprentissage d'une séquence motrice ou d'une tâche dépendante d'un stimulus visuel conditionnant n'est pas affecté (Stern et Passingham 1995). Chez le rat, le temps d'acquisition pour faire l'apprentissage d'une tâche dépendante d'un stimulus visuel conditionnant et la vitesse de réponse motrice à ce stimulus ne sont pas affectés par une lésion excitotoxique dans le nAcc (Brown et Bowman 1995). Ces observations suggèrent que le nAcc serait plutôt impliqué dans l'apprentissage de l'orientation spatiale.

En résumé, nous savons au fond peu de chose sur le rôle exact joué par le nAcc dans les comportements et comment le réseau des neurones du nAcc fonctionne.

### 1.5 Etudes du développement du système dopaminergique

A notre connaissance, aucune étude n'a été publiée sur le développement des facteurs affectant la plasticité dans le nAcc. En fait, les études de développement (reliées ou non à la plasticité) qui pourraient avoir un rapport direct avec le nAcc comprennent le système dopaminergique en général. Ces études ont démontré que dans les ganglions de la base (Rao et al. 1991) incluant le striatum (Walters et Howard 1990), plusieurs paramètres neurochimiques et pharmacologiques associés au rôle de la dopamine changent radicalement durant les quatre premières semaines de vie postnatale. La réponse

motrice reliée aux agents dopaminergiques croît avec l'âge (Lin et Walters 1994). Les autorécepteurs  $D_2$  sont déjà opérants cinq jours après la naissance dans le néostriatum (Andersen et Gazzara 1994). Comme la perte de dopamine dû à des lésions des fibres dopaminergiques ascendantes chez l'adulte réduit la densité des épines dendritiques des neurones MS du nAcc (Meredith et al. 1995), il est possible qu'un déséquilibre dopaminergique influence le développement postnatal.

Nous allons commencer par simplifier le problème en isolant le nAcc des autres régions du cerveau . Ceci permettra d'étudier le développement postnatal des propriétés électrophysiologiques intrinsèques des neurones du nAcc sans la présence d'inputs synaptiques. On obtient une isolation quasi-totale en utilisant des tranches de cerveau. En premier, résumons ce qui est connu dans le nAcc adulte.

#### 1.6 Propriétés électrophysiologiques des neurones du nAcc adulte

Avant de nous lancer dans ces études, nous allons brièvement rappeler au lecteur les concepts de base en électrophysiologie. A l'équilibre (au repos), il n'y a pas de flux net d'ions à travers la membrane cellulaire. Cependant, la concentration d'un type particulier d'ion du côté extracellulaire n'est pas nécessairement égale à celle du côté intracellulaire. Cette différence est maintenue par des mécanismes de transport actif primaire qui requiert une source d'énergie (ex.. la pompe ATPase  $Na^+ - K^+$ ) et des mécanismes de transport actif secondaire (ex.l'échangeur  $Na^+ - Ca^{++}$ ) dont l'action dépend du gradient transmembranaire de certains types d'ions. En plus de ces transports actifs, la membrane cellulaire contient des canaux qui permettent la diffusion passive de certains types d'ions. Il est à noter qu'à cause de la présence de ces canaux ioniques et aussi à

cause du caractère électrogénique de certains transports actifs (ex. ceux mentionnés ci-haut), l'électroneutralité du milieu intracellulaire et extracellulaire n'est pas respectée pour une distance très proche de la membrane (charge de surface qui dépend de la capacitance de la bicouche lipidique). C'est cette charge qui détermine le potentiel membranaire au repos (RMP: "*Resting Membrane Potential*"). On mesure le potentiel intracellulaire relatif au côté extracellulaire. *In vivo*, ce potentiel est souvent négatif. L'explication réside dans le fait que la concentration des d'ions potassiques est beaucoup plus grande à l'intérieur de la cellule. La diffusion de ces ions vers l'extérieur, facilitée par le grand nombre de canaux potassiques, crée une électronégativité à l'intérieur de la membrane (il est vrai que la concentration d'ions sodiques est beaucoup plus grande à l'extérieur de la cellule et qu'en suivant l'argument précédent, il en résulterait une électropositivité à l'intérieur de la membrane. Cependant, un tel phénomène de compensation complète ne se produit pas, car les canaux potassiques ouverts sont beaucoup plus nombreux que les canaux sodiques).

Si le potentiel est hyperpolarisé (négatif par rapport au RMP) ou dépolarisé (positif par rapport au RMP), il en résulte un courant transmembranaire net. La résistance membranaire ( $R_m$ : "*INput Resistance*") est définie comme étant la pente du voltage en fonction du courant ( $dV/dI$ ) autour du RMP. Elle diminue en fonction du nombre de canaux ioniques ouverts. La constante de temps membranaire ( $\tau_m$ ) est définie comme étant le produit de  $R_m$  et de la capacitance de la bicouche lipidique. C'est le temps requis pour charger la membrane à la valeur du potentiel imposé divisée par la base du logarithme naturel.

S'il existe des canaux ioniques dont la probabilité d'ouverture dépend du potentiel, le voltage en fonction du courant varie de façon non-linéaire. Si la résistance membranaire,  $dV/dI$ , à des potentiels hyperpolarisés par rapport au RMP est plus petite (grande) que  $R_m$ , on dit qu'il y a une rectification entrante (sortante) pour ces dits potentiels. Si  $dV/dI$ , à des potentiels dépolarisés par rapport au RMP est plus petite (grande) que  $R_m$ , on dit qu'il y a une rectification sortante (entrante) pour ces dits potentiels. Souvent, ces courants ont en plus, une dépendance temporelle: par exemple en appliquant une impulsion de voltage hyperpolarisé de durée donnée on peut observer une rectification entrante tardive ("*depolarising sag*") (le courant s'active seulement vers la fin de l'impulsion).

L'entrée du sodium par des canaux dont la conformation dépend du voltage emmènent un phénomène de rétroactivité positive et la décharge atteint un pic de dépolarisation qui se repolarise plus tard lorsque les canaux se désactivent et que d'autres canaux, potassiques ceux-ci, dont la conformation dépend aussi du voltage, s'ouvrent pour laisser librement sortir le potassium de la cellule. On appelle ce phénomène, un potentiel d'action. Le potentiel du neurone tend à retourner au RMP mais il se peut qu'avant de se stabiliser au RMP, on observe suivant le potentiel d'action, une dépolarisation (ADP: "*After DePolarization*") et/ou une hyperpolarisation (AHP: "*After HyperPolarization*") d'amplitude moindre que celle du potentiel d'action. Le patron de ces décharges successives de potentiel d'action, chacun possiblement suivi d'ADPs ou d'AHPs est influencé par la présence dans la cellule d'une panoplie de canaux perméables à différents ions, chacun s'ouvrant avec une dépendance particulière sur le voltage et le

temps. On dit qu'il y a une adaptation (ou accommodation) dans ce train de décharges quand l'intervalle entre les deux premières décharges est plus court que l'intervalle entre les décharges subséquentes.

Comme la distribution des canaux dans la membrane n'est pas homogène et qu'un neurone se ramifie loin du soma vers les dendrites et l'axone, on applique les équations de la théorie des câbles de transmission électrique pour calculer comment ce train de décharge se propage à travers le neurone. Plus la constante d'espace est grande, moins cette onde s'atténue. Cette dernière égale  $\sqrt{d \cdot R_M / 4R_i}$  où  $d$  est le diamètre de l'axone,  $R_M$  est la résistance spécifique de  $1 \text{ cm}^2$  de membrane et  $R_i$  est la résistance spécifique de  $1 \text{ cm}^3$  de cytoplasme. Le lecteur intéressé à obtenir plus de détails pourra consulter le livre par Hammond et Tritsch (1990).

Dans les neurones MS, O'Donnell et Grace (1993b) ont mesuré un RMP moyen de  $-67.6 \text{ mV}$  et un  $R_m$  moyen de  $55 \text{ M}\Omega$ . Dans le *core*, la valeur moyenne de  $\tau_m$  est  $11.2 \text{ msec}$  alors que dans le *shell*, elle est  $6.8 \text{ msec}$ . Cette plus petite valeur dans le *shell* peut être expliquée par le fait que les neurones MS ont moins de dendrites primaires et l'arbre dendritique est plus allongé que dans le *core*.

Les neurones MS exhibent une rectification entrante lorsqu'ils sont hyperpolarisés dans le nAcc du rat (Uchimura et al. 1989). Elle serait due à un courant potassique entrant, appelé  $I_{K(ir)}$  et aurait un rôle dans l'inhibition des inputs synaptiques. Nous aurons l'occasion d'en reparler plus loin dans la discussion.

Certaines observations attribuées aux ions calciques sont rapportées dans O'Donnell et Grace (1993b): (1) La proportion des cellules où l'on note une

dépolarisation lente avant un premier potentiel d'action (appelée aussi rampe de dépolarisation) sont plus grandes dans le *core*. La rampe est de nature calcique puisqu'elle est bloquée par le cobalt, un bloqueur de canaux calciques. En les bloquant, une plus grande quantité de courant est nécessaire pour obtenir une décharge. La fonction de la rampe serait donc d'augmenter l'excitabilité de la cellule. (2) Dans le *core* seulement, 70% des neurones du nAcc adulte exhibent des rebonds dépolarisants dépendant du calcium après une impulsion de courant hyperpolarisant (LTS: "*Low Threshold Spike*"). Un canal calcique à bas seuil en serait responsable. Il jouerait un rôle dans la génération d'activité rythmique et augmenterait l'excitabilité des neurones hyperpolarisés. (3) Il y a aussi des décharges lentes à haut seuil (HTS: "*High Threshold Spike*"): elles sont somato-dendritiques car elles apparaissent seulement après application de 4-AP, un bloqueur de canaux potassiques et de TTX, un bloqueur de canaux sodiques. Elles sont de nature calcique car elles sont bloquées par le cobalt. Il est fort possible qu'un potentiel d'action sodique soit déclenché au segment initial quand la membrane est suffisamment dépolarisée par la sommation de ces potentiels d'action calciques propagés passivement le long des dendrites. (4) Des AHPs atténuées par le cobalt ont aussi été décrites; elles seraient dues à des conductances potassiques dépendantes du calcium.

On peut aussi soupçonner l'implication des canaux calciques dans la plasticité: il a été démontré que la LTP et la LTD dans le nAcc dépendent de l'augmentation de la concentration interne d'ions  $Ca^{++}$  et leur induction est bloquée par des antagonistes aux récepteurs NMDA (Kombian et Malenka 1994).

*In vivo*, les neurones MS présentent un état bistable du RMP (oscillations du

RMP), soit un RMP situé autour de -80mV et un RMP situé autour de -60mV (Uchimura et al. 1989). Une stimulation des voies provenant du PFC est capable de provoquer une décharge des neurones MS du nAcc mais seulement pendant que leur RMP est situé autour de -60mV ce qui est le cas quand les afférences provenant de l'hippocampe sont activées (O'Donnell et Grace 1995). La bistabilité serait en bonne partie contrôlée par des conductances potassiques dendritiques (Wilson et Kawaguchi 1996).

D'après les données électrophysiologiques sur le RMP,  $R_{in}$ , le  $\tau_m$  (Kita et al. 1985a; Kita et al. 1984; Kawaguchi et al. 1989), les neurones MS du striatum dorsal (un noyau adjacent au nAcc), sont semblables à ceux du nAcc. Ils exhibent une rectification entrante lorsqu'ils sont hyperpolarisés (Kita et al. 1984; Nisenbaum et Wilson 1995) et des rampes de dépolarisation (Nisenbaum et al. 1994; Chao et Alzheimer 1995; Kawaguchi et al. 1989). Ils sont aussi semblables en termes de leur morphologie et de leurs connexions (Bishop et al. 1982; O'Donnell et Grace 1993b). Ces derniers rapportent aussi qu'ils n'ont trouvé dans le nAcc qu'un seul neurone sans épines dendritiques, son diamètre étant de 25  $\mu\text{m}$ . Dans le striatum dorsal, les interneurones à large soma (diamètre variant entre 20 et 60  $\mu\text{m}$ ) et sans épines dendritiques, sont dénommés "*large aspiny*", (LA). On croit que ces cellules sont cholinergiques puisqu'elles sont immunoréactives à la ChAT (Kaneko et al. 1993; Kawaguchi 1993). Toujours dans le striatum dorsal, (Greif et al. 1995) ont démontré chez le rat avec la technique de "*cell-attached patch*" sur des cellules isolées, qu'il existait divers types de canaux potassiques à petite conductance produisant une rectification entrante, ainsi que quelques canaux potassiques à plus haute conductance qui sont activés par la dépolarisation et d'autres

dépendant de la présence du calcium. Si l'on croit toujours à la similarité entre le striatum dorsal et le nAcc, cette surprenante diversité de canaux potassiques devrait être présente dans le nAcc; cette diversité s'étend à l'univers biologique entier (Hille 1984, p112). Nous en discuterons d'un certain type plus tard qui pourrait être responsable des AHPs bloquées par le 4-AP, rapportées dans O'Donnell et Grace (1993b) comme dans nos résultats d'ailleurs.

### 1.7 Développement postnatal des propriétés électrophysiologiques dans d'autres structures du CNS

Dans une étude sur les neurones de type MS dans le noyau caudé du chat (E56-P90), (le striatum est composé du noyau caudé et du putamen), on a trouvé qu'une rectification entrante d'origine potassique est plus fréquemment observée chez les sujets plus âgés.

Les rebonds dépolarisants dépendant du calcium mentionnés dans la section précédente sont semblables à ceux rapportés dans les neurones non-pyramidaux du néocortex (Zhou et Hablitz 1996) et dans les neurones du thalamus, (e.g. (Warren et Jones 1997; Ramoa et McCormick 1994)). Dans ces trois études, comme dans Cepeda et al. (1991), le RMP décroît, le  $R_{in}$  et l'amplitude du potentiel d'action augmentent tandis que la durée de ce dernier diminue avec l'âge.

Les jeunes cellules étant plus facilement excitables à cause de la  $R_{in}$  plus élevée, il se pourrait que dans le nAcc, la présence du calcium soit moins nécessaire et que les rampes de dépolarisation et les rebonds calciques après application d'une impulsion hyperpolarisante soient moins prononcées (par contre, Zhou et Hablitz (1996) ont



rapporté des rebonds qui sont assez évidents et suggèrent que l'entrée de calcium est requise pour induire le développement des neurones du néocortex). Étant donné que le striatum dorsal est semblable au nAcc chez l'adulte, on pourrait s'attendre à ce que le nombre et les types de canaux potassiques augmentent et que la rectification entrante devienne plus marquée au cours du développement.

Dans un premier temps, nous avons étudié les caractéristiques électrophysiologiques des cellules du nAcc *in vitro* pendant le développement postnatal chez le rat. Nous avons utilisé la technique d'enregistrement sur cellule entière ("*whole cell*") par patch-clamp pour avoir un meilleur contrôle de la composition intracellulaire et aussi pour bénéficier d'un meilleur rapport signal/bruit.

## 2. PUBLICATION

Postnatal Developmental of Electrophysiological Properties in Rat Nucleus Accumbens  
Neurons, Journal of Neurophysiology (submitted)

POSTNATAL DEVELOPMENT OF ELECTROPHYSIOLOGICAL PROPERTIES  
OF RAT NUCLEUS ACCUMBENS NEURONS

Marc L. Belleau and Richard A. Warren

Centre de Recherche Fernand-Seguin and Department of Psychiatry, University of  
Montréal, Montréal, Canada

Running Title: POSTNATAL DEVELOPMENT OF RAT NUCLEUS ACCUMBENS

Address for correspondance:

Richard A. Warren

Centre de Recherche Fernand-Seguin

7331 Hochelaga st.

Montréal, Québec, Canada, H1N 3V2

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

## SUMMARY AND CONCLUSIONS

We have studied the postnatal development of the physiological characteristics of nucleus accumbens neurons in slices from animals aged 1 (P1) to P50 using the whole cell patch-clamp technique. The majority of neurons has physiological characteristics attributed to medium spiny neurons whereas some were reminiscent of fast spiking and large aspiny neurons. We observed that the whole-cell membrane resistance decreases substantially during the first 50 postnatal days. During the first postnatal week, the current-voltage relationship was linear. During the second week, an inward rectification began to be observed. It was present in all neurons P21 and older without changing significantly. Extracellular cesium reversibly blocks the rectification in a voltage-dependent manner. TEA also blocks it but not in a voltage-dependent manner. Action potential duration becomes narrower with age. AHP's are observed early during development and are substantially reduced after 4-AP application. Calcium spikes also appear at a young age. The effect of TEA on a spike train is to replace it by a depolarized plateau. Because of the decrease in resistivity with age, it takes more current to generate firing trains. Repetitive firing displays adaptation but this feature does not depend on age.

Taken together, these results imply that many channels are functional quite early and continue maturing during the first few postnatal weeks. They contribute to neuronal plasticity by giving a helping hand to synaptic activity.

## INTRODUCTION

The activity of a neuron largely depends on its synaptic input as well as on its membrane intrinsic properties. It has been repetitively shown that these two aspects of neuronal organization are largely immature at birth and that they develop interdependently during the postnatal period. The influence of the environment during that period has been recognized since the pioneering work of Hubel and Wiesel (Wiesel and Hubel 1963) in the visual system and studies carried out in rodent somatosensory system (Van der Loos and Woolsey 1973). Inappropriate neuronal activity during the critical period will lead to permanent impairment of function of the sensory modality that has been disrupted. Whereas there is an extensive body of literature on the developmental plasticity of sensory systems, comparable studies in limbic structures have been much more limited. Indeed, there is a growing body of evidence suggesting that disease such as schizophrenia may be the result of a disturbed development of limbic structures (Weinberger and Lipska 1995; Falkai and Bogerts 1993). Recently, an animal model of schizophrenia using early postnatal lesion of the subiculum, a limbic structure that has been found to be abnormal in postmortem tissue from schizophrenia patients, mimic much of the symptomatology of schizophrenia (Flores et al. 1996; Weinberger and Lipska 1995; Lipska et al. 1993). One of the nucleus in which neurochemical changes have been observed in that model is the nucleus accumbens (nAcc) (Flores et al. 1996) located in the ventral striatum .

The nucleus accumbens is an important telencephalic region which major afferents, thought to be glutamatergic, arise primarily from the prefrontal cortex, hippocampal formation, entorhinal cortex, amygdala and midline thalamic nuclei (Groenewegen et al.

1987; Groenewegen et al. 1982; Groenewegen et al. 1980; Jayaraman 1985; Kelley and Stinus 1984; Kelley et al. 1982; Kelley and Domesick 1982; Krayniak et al. 1981; Newman and Winans 1980; Phillipson and Griffiths 1985). The primary output of the nucleus accumbens is to the ventral pallidum (Hakan et al. 1992; Zahm and Heimer 1990; Yang and Mogenson 1985) which is known to be involved in the activation of voluntary movements (Heimer et al. 1982; Swerdlow and Koob 1987). Neuroanatomical data and electrophysiological results from anaesthetized animals suggest that the nucleus accumbens somehow provides a centre for the integration of limbic systems with motor systems driven by the ventral pallidum (Mogenson et al. 1980). The nucleus accumbens has been shown to be involved in reinforcement aspects of behavior (Cador et al. 1991; Joseph and Hodges 1990; Milner 1991; Wise and Bozarth 1987).

Many accumbens neurons receive convergent glutamatergic inputs from diverse sources (O'Donnell and Grace 1995), and this information must be harmoniously integrated within the nucleus to generate the proper output. Presumably, the anatomical substrate for such a functional integration is achieved during development through competition/cooperation interactions between the different sources of innervation of the nucleus accumbens.

The maturation of a functional nucleus accumbens probably depends on a fragile equilibrium between its different inputs and the disturbance of these would probably destroy this equilibrium, leading to pathological states. The aim of the present study was to describe the postnatal development of the physiological properties nucleus accumbens neurons and to begin to understand how they can condition the development of that

structure.

## METHODS

Five day old (P5) rats and younger were anaesthetized by hypothermia whereas P6-P49 rats were anaesthetized with methoxyfluran vapour in a closed environment. The animals were then quickly decapitated and their head submerged in 4°C artificial cerebrospinal fluid (ACSF) containing (in mM) 126 NaCl, 26 NaHCO<sub>3</sub>, 10 dextrose, 3 KCl, 1.3 MgSO<sub>4</sub>, 1.25 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> with a pH of 7.4 when bubbled with a gas mixture of 95% O<sub>2</sub> and 5% CO<sub>2</sub>. Four hundred µm thick slices comprising the nAcc were cut with the brain tilted 15 degrees from the para-sagittal plane using a vibroslicer (Campden Instruments Ltd.). Slices were transferred to a submerged type recording chamber and continually superfused with ACSF at room temperature (20-22°C) at a rate of 1.5 ±0.25ml/min. The nAcc was visualized under a stereo microscope (Leica Inc.) using the anterior commissure, the neostriatum, the septum and the ventricles as landmarks based on Paxinos and Watson (1986). The slices were left undisturbed for at least one hour before recording.

Whole cell recording was achieved using the blind patch-clamp technique (Blanton et al. 1989). Pipettes were pulled from thin wall borosilicate capillary glass with a P-87 micropipette puller (Sutter Instrument Co.). The pipettes had a resistance between 5 and 13 MΩ when filled with a solution containing (in mM) 140 K<sup>+</sup> gluconate, 2 MgCl<sub>2</sub>, 0.1 CaCl<sub>2</sub>, 1.1 EGTA, 10 HEPES and 2 K<sub>2</sub>-ATP with a pH of 7.3 ±0.05 and connected to an Axoclamp-2B amplifier (Axon Instruments Inc.). The pipette was aimed at the nAcc under direct visual guidance. In some cases, the pipette internal solution was diluted 2-5% with distilled H<sub>2</sub>O to optimize seal formation. In order to study specific potassium



channels, the following agents were sometimes added to the superfusing ACSF: tetraethyl ammonium (TEA) (25mM), 4-amino-pyridine (4-AP) (100 $\mu$ M or 2mM), and CsOH or CsCl (3mM). When 25mM of TEA was used, the concentration of NaCl was equimolarly adjusted; no correction was made for the other agents. Sometimes 1 or 2mM of QX314 was added to the recording pipette solution to block voltage-sensitive Na<sup>+</sup> channels generating the action potential.

The potential reference of the Axoclamp-2B amplifier was adjusted to zero prior to breaking into the cell. The resting membrane potential (RMP) was measured as soon as the whole cell configuration was achieved and the offset potential, measured upon withdrawal from the cell, was accounted for assuming that it drifted in a linear fashion with time from the start of the recording session. We did not correct for liquid junction potentials, which for a pipette containing 140 mM K<sup>+</sup> gluconate amounts to an addition potential shift of -10mV (Spigelman et al. 1992).

The bridge balance was optimally adjusted by settings on the amplifier. The output of the amplifier was fed to a LPF 200A DC amplifier/filter (Warner Instruments Corp.) and digitized at 0.5 to 10 kHz with a real-time acquisition system Digidata 1200 (Axon Instruments). Data acquisition and offline analysis were achieved using the pClamp 6.0 software (Axon Instruments).

During I-V curve recordings, 2-4 traces at the same current pulse were routinely averaged online. Voltages were measured at the end of a current step episode and the input resistance ( $R_{in}$ ) was calculated in the linear range of the I-V curve around the holding membrane potential. Membrane time constant ( $\tau_m$ ) was calculated by fitting a

simple exponential to an hyperpolarizing voltage response between 3 and 8 mV. Action potential characteristics including amplitude, width and threshold as well as spike train patterns were examined with supra-threshold depolarizing current pulses of varying duration and amplitude.

In order to compare the physiological characteristics of nucleus accumbens neurons with dorsal striatal neurons, the hyperpolarization sag and the afterhyperpolarization were measured following the protocol described by Kawaguchi (1992), Kawaguchi (1993). The % sag was measured as  $100 \times (V_{\text{peak}} - V_{\text{end}}) / (V_{\text{peak}} - V_{\text{hold}})$ . The sag latency was the time difference between the onset of the current pulse and  $V_{\text{peak}}$ . The amplitude of the spike afterhyperpolarization (AHP) was defined as the voltage difference between action potential threshold and the dip voltage of the AHP and the AHP latency was the time difference between the action potential threshold and the dip voltage of the AHP.

Neurons that could not be unambiguously classified as medium spiny (MS) were excluded from statistical analysis (see Results section below). Results are presented as mean  $\pm$  standard error of the mean. Statistical analysis was performed using Sigmastat (Jandel Corporation) and Statistica (Statsoft Inc.) softwares. When necessary, raw data were logarithmically transformed to fulfill the requirements of parametric statistical tests (Sokal and Rohlf 1995).

## RESULTS

Whole cell recording was made in 108 nAcc cells in slices from P1-P49 rats. Because of the quasi-parasagittal plane of slice used and of the young age of some animals, it was easier to positively identify the core than the shell of the nAcc. It is possible that 17 of these cells were recorded in the shell region. However, because we found no apparent electrophysiological differences between them and the other 91 cells, all 108 cells were pooled together in subsequent analysis.

### *ElectroPhysiological Characteristics of Different Cell Types*

Four types of neurons have been physiologically characterized in the dorsal striatum (Kawaguchi et al. 1995), the most numerous being the medium spiny (MS). MS neurons are projection neurons. We recorded 102 nAcc MS neurons in slices from two weeks and older animals displaying the characteristics previously ascribed to MS neurons (e.g. RMP negative to  $-70\text{mV}$ , presence of an inward rectification in response to hyperpolarizing current pulses, action potential threshold near  $-40\text{mV}$ ) as described in other studies on the nAcc by (Pennartz and Kitai 1991; O'Donnell and Grace 1993; O'Donnell and Grace 1995; Uchimura et al. 1989a). Figure 1A shows a P46 neuron typical of MS neurons except it did not exhibit firing train adaptation (see section entitled Discharge Properties). Sixty-eight of those MS neurons had less than a 1% depolarising sag after hyperpolarization. In another 18 of these MS neurons (P8-22), the magnitude of the sag was between 1.1 and 16.9% ( $5.6 \pm 1.0\%$ ) with a latency of 40 to 434 msec ( $182 \pm 27.3$  msec). The remaining 16 neurons (P14-49) were characterized by the presence of a relatively small depolarizing sags with fast onset in response to an

hyperpolarizing current pulse. The magnitude of their sag ranged from 2 to 14% ( $9 \pm 1.0\%$ ) with latencies between 10 and 48msec ( $21.7 \pm 2.6$  msec). None of these sag parameters showed any statistically significant trend with age.

We also had a neuron with some characteristics resembling those of large aspiny (LA) neurons. It had a large amplitude depolarizing sag (over 22%, averaging 29.3%) in response to hyperpolarization. It also had a long and large afterhyperpolarization (AHP) but unfortunately, no rebound following a hyperpolarizing pulse (Fig. 1B).

Three neurons exhibited characteristics of fast spiking (FS) neurons. One P10 cell (Fig. 1C) displayed interrupted firing and two other cells (not shown) exhibited a fast decaying spike train. In all 3 neurons, the high frequency spike train showed little adaptation as found in typical FS cells. The action potential duration ( $2.63 \pm 0.12$ ms) was longer than that previously reported ( $0.29 \pm 0.01$ ms,  $n=13$ ) (Kawaguchi 1993) probably in part because of the young age of some of our preparations and because recordings were made at room temperature.

Finally two other neurons, one of which is shown in Fig. 1D, showed ambiguous features: they did not have a large AHP but on the other hand did exhibit a rebound. However, we made no attempt to identify the ionic current underlying the rebound by blocking it with cesium. The neuron shown in Fig. 1D also displayed firing train adaptation as opposed to the neuron of Fig. 1B suggesting that they were different types of neuron.

#### Passive Membrane Properties

Passive membrane properties of nAcc medium spiny cells changed dramatically

during the first few postnatal weeks (Fig. 2). Changes were more prominent during the first two postnatal weeks and the rate of change tapered during the third postnatal week and tended to stabilize from that point on. The RMP became much more negative with age, averaging  $-49 \pm 3$  mV ( $n=9$ ) during the first postnatal week and  $-74 \pm 1$  mV ( $n=34$ ) after P21 (Fig. 2A). A more dramatic change in  $\tau_m$  was observed as it decreased 4 folds during the same period from an average of  $143 \pm 16$  ms ( $n=7$ ) during the first postnatal week to  $33 \pm 5$  ms ( $n=28$ ) after P21 (Fig. 2B). The shortening of  $\tau_m$  was paralleled by a reduction of comparable magnitude in  $R_{in}$  which decreased from  $2091 \pm 334$  M $\Omega$  ( $n=12$ ) to  $305 \pm 40$  M $\Omega$  ( $n=34$ ) between the first and fourth postnatal week when measured in the non-rectified range around the RMP (Fig. 2C). During the first postnatal week, the current voltage relationship of 90% of neurons (9/10) was linear over an extended range of hyperpolarized voltage responses. At the beginning of the second postnatal week, more cells began to display an inward rectification in response to hyperpolarizing current pulses and only 13% of neurons recorded (6/45) between P8 and P15 lacked an inward rectification whereas all neurons ( $n=33$ ) from rats P16 and older display a significant amount of inward rectification in the hyperpolarized range of voltage responses. Current-voltage responses obtained from P7 and P30 MS neurons are shown in Fig. 3. At P7, the IV relationship is very close to linearity up to  $-130$  mV, more than  $80$  mV negative to the RMP (Fig. 3A). In contrast, at P30, there is a striking inward rectification which is detectable below  $-80$  mV, only  $10$  mV negative to the RMP (Fig. 3B). The amount of rectification was estimated by subtracting the  $R_{in}$  measured in the hyperpolarized range (Fig. 2D) from the one measured around the RMP (Fig. 2C). The results obtained are

plotted as a function of postnatal age in Fig. 2E. Inward rectification was absent in most younger neurons. In fact, it is apparent that a significant proportion of neurons displayed no inward rectification before 2 weeks of age whereas at older ages all neurons exhibited a significant amount of rectification. Following an abrupt rise during the second postnatal week, the absolute amount of rectification apparently decreased afterwards. But when the inward rectification was expressed as a percentage of  $R_{in}$  measured in the linear range (Fig. 1F), it appears relatively constant throughout the postnatal period studied (there was no significant correlation between the percentage of rectification and postnatal age) and the apparent reduction in absolute inward rectification was most likely due to the parallel decrease in  $R_{in}$  in both the linear and rectified ranges.

#### Discharge Properties

Accumbens MS neurons discharged all or none fast action potentials at all ages studied and they could fire repetitively. The two cells displayed in Fig. 4A and B show little apparent adaptation. When depolarized with a positive pulses of current slightly above threshold, the spike threshold could be easily identified at the end of a slow depolarizing ramp. Action potential characteristics including the threshold of activation and the amplitude did not change much with age (Fig. 5A and B). However, there was a striking drop in the width of the action potential during the first 12 postnatal days and the width seemed to stabilize around the end of the second postnatal week (Fig. 5C). The reduction in width is also obvious by comparing Fig. 4A with Fig. 4B. Nevertheless, nucleus accumbens neurons were excitable at birth and repetitive spiking with little adaptation was already observed at P1 (Fig. 4A). Action potentials are relatively fast and

their width was characteristic of  $\text{Na}^+$  channels, depolarization and much of the slowness occurs in the repolarizing phase. By comparing Fig. 4A and 4B it is apparent that indeed the peak and threshold do not change appreciably between P1 and P39. At all ages, a relatively small AHP follows spikes as would be expected for MS neurons and the amplitude did not change in a statistically significant fashion with age ( $r^2=0.05$ ,  $p=0.07$ ,  $n=70$ ) ( $9.9\pm 0.4\text{mV}$ ). In contrast, latency of the AHP decreased significantly with age (Fig. 5D).

The addition of the  $\text{Na}^+$  channel blocker QX314 (1 or 2 mM) to the recording pipette internal solution produced a reduction of the amplitude and an increase in duration of the action potential in a time dependent manner at all ages suggesting that even at birth,  $\text{Na}^+$  play an important role in the depolarizing phase of the action potential while  $\text{K}^+$  channels are involved with the hyperpolarizing phase of the action potential. Some of the effect of QX314 could be detected within a minute of breaking into the neuron and reached a maximal effect several minutes later. Nevertheless, even after several minutes, the action potentials were never completely abolished by QX314 suggesting the involvement of other cations such as  $\text{Ca}^{++}$  (see below) and/or that the concentration of QX314 was too low to completely block  $\text{Na}^+$  channels. In all neurons tested, the average duration of the action potential was 8.4 msec for 17 P3-35 neurons which is much wider than the average width of 3.2 msec at birth (Fig.5C, 65 P1-49 neurons) without QX314. The amplitude of the action potential was also significantly reduced by QX314 down to an average of 36.2mV for 17 P3-35 neurons (compare with an average of 54.7mV in Fig.5B with 65 P1-49 neurons). At P38, (Fig.4D), we notice moreover that

the repolarisation phase of the action potential is noticeably longer than the rising phase.

Upon application of a depolarizing current pulse, all cells regardless of age displayed a hallmark of MS neurons: a slow depolarizing ramp preceded a spike train (e.g. Fig.1A, 4). It persisted with QX314 in the recording pipette. Different potassium, calcium and/or persistent sodium conductances have been proposed to explain this slow depolarization (Nisenbaum et al. 1994; Kita et al. 1985a; Kita et al. 1985b; Kawaguchi et al. 1989).

In some neurons there was a depolarizing hump that preceded spiking (best observed with below threshold depolarizing current pulses (Fig.6A, arrow in right panel). With larger current pulses, a small action potential was initiated over the depolarizing hump (Fig. 6A). In Fig. 6B, this small action potential (arrow in right panel) was followed by normal action potentials. The sub-threshold depolarizing hump is reminiscent of low threshold calcium conductance. As described in other structures, low threshold spikes were activated by membrane hyperpolarization (Fig.6C, arrow in left panel).

At all ages, the firing frequency increases when depolarizing current was increased if we exclude the first interval of the spike train of the neurons with a hump at the beginning of the pulse that preceded the spike train itself. Younger neurons had a RMP closer to threshold and needed less current to fire a first spike. In addition, the firing frequency of young neurons increased more steeply than older neurons when the injected current was increased (Fig.7A, 7B, 7C, 7D). When the frequency of the first interval of a train was plotted as a function of injected current, the relationship was almost linear (Fig.7A). When the average frequency of a train was used, the slope of the curves



decreased significantly ( $t=-4.08$ ,  $p<0.001$ ,  $n=33$ ) showing that the interval between the action potentials became longer as the train went on (compare Fig. 7A and 7B). Adaptation was observed in neurons of all ages and did not change significantly during postnatal development.

#### *Effects of Potassium Channels Blockers*

We have found that MS neurons in slice from young animals showed no apparent inward rectification in current-voltage relationship. Inward rectification in the hyperpolarized range has been shown to be sensitive to  $K^+$  channels blockers (Nisenbaum and Wilson 1995). In order to confirm the absence of inward rectification and that the one that is found in juvenile MS neurons is of the same nature as the one described in mature MS neurons we have examined the effects of specific  $K^+$  blockers. Of the extracellularly administered substances we have tested on neurons displaying inward rectification, cesium was found to be the most potent, producing a voltage-dependent block of the inward rectification (Fig. 8A). With long or with large hyperpolarizing pulses the inward rectification apparently reversed to outward (Fig. 8A, lower panel) and the  $R_{in}$  in the hyperpolarized range became higher than that around the RMP (Fig. 9A, B). These effects were consistently observed in all the neurons tested that displayed a substantial inward rectification in the current-voltage relationship ( $n=10$ ) whereas cesium produced no effects in neurons lacking inward rectification ( $n=5$ ). The effects of cesium have been quantified and they are summarized in Fig. 9. Young neurons lacking inward rectification in control ACSF (Fig. 9A, white circles) had their  $R_{in}$  not affected by cesium (Fig. 9B). In contrast, the inward rectification of older neurons (Fig. 9A, filled circles) reversed to an

outward rectification when cesium was added to the perfusing medium (Fig. 9B). An analysis of covariance showed that the effect was statistically significant ( $F=10.12$ ,  $p=0.004$ ,  $df=28$ ).

When tested mature MS neurons ( $n=3$ ), TEA also decreased the inward rectification but in a voltage-dependent manner seemingly losing some potency at more hyperpolarized potential and producing no inward to outward reversal in the rectification (Fig. 8B). In two neurons lacking inward rectification, TEA produced no detectable effect in their response to hyperpolarizing current pulses although it produced profound effects on their spiking characteristics. In contrast to cesium and TEA, 4-AP produced no statistically significant effect ( $t_s = -0.52$ ,  $p = 0.613$ ,  $n=9$ ) on the response of MS neurons to hyperpolarizing currents whether they exhibited ( $n=9$ ) or not ( $n=3$ ) inward rectification despite the fact that 4-AP had profound effects on the firing characteristics of all neurons tested (Fig. 8C).

The effects of  $K^+$  channels blockers on the firing characteristics of MS neurons were also examined. Cesium produced no significant effects on any of the action potential characteristics regardless of age including threshold ( $t_s = 1.2$ ,  $p = 0.24$ ,  $df = 25$ ), peak ( $t_s = 0.36$ ,  $p = 0.72$ ,  $df = 28$ ) or duration at half amplitude ( $t_s = 0.45$ ,  $p = 0.66$ ,  $df = 24$ ) (Fig. 10A). In contrast, TEA produced marked effect on the spike train which was replaced by a long depolarizing plateau that could last several hundred ms (Fig. 10B, arrow). 4-AP also increased the width of the action potential but produced shorter duration depolarizations than TEA (e.g. Fig. 10C, arrowhead in middle panel). 4-AP probably did not have time to produce as dramatic an effect as in Fig. 8C, middle panel,

yet it substantially reduced the amplitude of the AHP (Fig. 10C, arrow in middle panel). Although 4-AP produced no significant effect on the action potential threshold ( $t_s = 1.11$ ,  $p = 0.29$ ,  $df = 16$ ), it nevertheless reduced the latency to the first spike discharge (data not shown). All the effects of potassium channels blockers on the membrane and firing characteristics were fully reversible.

## DISCUSSION

In spite of the fact that even P1 neurons are able to generate a discharge pattern, there were many notable developmental changes seen from P1 to P49. The RMP,  $R_{in}$ ,  $\tau_m$  and the action potential duration and the AHP latency all decrease. An inward rectification develops after the first postnatal week while calcium spikes seem to be more frequent in the young. No cytological markers to distinguish between shell and core neurons were used but as it is easier to select a core neuron due to the much higher area coverage by the core in the our slices, we assume most of our recordings are from core neurons. At any rate, the electrophysiological distinction between the shell and core neurons is relatively minor (O'Donnell and Grace 1993).

### *Classification of neuron types*

Most cells that were recorded are thought to be MS neurons. They are thought to be projection neurons whereas all other neuron types are considered to be interneurons (Kita 1993). One cell that was recorded could be of the LA type (this type is immunoreactive to CHAT (Kawaguchi 1993; Kaneko et al. 1993)) and thus might be cholinergic) although we cannot characterize it as such unambiguously according to the classification by (Kawaguchi 1993) on P16-P22 cells since it is younger (P8) and we have already shown that the RMP and  $R_{in}$  drop considerably with age. AHP's could be due to the activation of a calcium-dependent potassium channel. Their existence explains why adaptation to spike train frequency is stronger in LA cells when compared to MS neurons (Kawaguchi 1992; Wilson et al. 1990). It could also be that for LA cells, AHP's vary with age. As LA neurons account for less than 5% of all neurons in the dorsal striatum, it

would not be surprising that we recorded only of them even though their larger size (soma diameter lies in the range 20 to 60  $\mu\text{m}$ ) makes them better target candidates by a blind search. For the same reason, the P9,10,13 cells of which the P10 is depicted in Fig. 1C cannot be classified with certainty as being of the FS type. (This type is immunoreactive to parvalbumin, a protein that binds calcium. Non-pyramidal hippocampal neurons (Kawaguchi et al. 1987) and neurons in the rat frontal cortex (Kawaguchi and Kubota 1993; Kawaguchi 1995) display properties similar properties to this FS type). It is possible though that all these cells belong to an intermediate or even different category because many other morphological types have been discovered in the dorsal striatum (Bishop et al. 1982; Braak and Braak 1982; Yelnik et al. 1991; Danner and Pfister 1981a; Danner and Pfister 1981b; Danner and Pfister 1979; DiFiglia et al. 1980a; DiFiglia et al. 1980b; DiFiglia et al. 1976); Graveland et al. 1985; Rowniak et al. 1994; Takagi et al. 1984 and also in the nAcc (Danner and Pfister 1982; Danner and Pfister 1981c). The rest of the discussion relates to the 102 putative MS neurons that were recorded.

#### Passive membrane characteristics ( $RMP, R_{in}$ )

We found that nAC neurons do not discharge spontaneously perhaps because of their relatively negative membrane potential. That was also the case in the cat striatum (Sugimori et al. 1978). The more positive RMP in newborns (-43.6mV) could be due to either a lesser  $K^+$  conductance, (Spigelman et al. 1992), an inactive  $Na^+K^+Cl^-$  co-transport extrusion mechanism (Zhang et al. 1991), an immature  $Na^+K^+$  pump (Fukuda and Prince 1992) or simply to a more fragile slice preparation. The RMP's of neostriatal neurons identified to be of the MS type are more negative than -50mV (Kita et al. 1985a).

O'Donnell and Grace (1993) obtain an average of -67.6mV in the adult compared to our average of -81.0 mV at P49. Our result is actually more negative by about 10 to 15mV if we include the liquid junction potential (Huguenard and Prince 1992; Spigelman et al. 1992; Barry 1994).

Now, denote the specific resistance (capacitance) of 1 cm<sup>2</sup> of cell membrane by  $R_M$  ( $C_M$ ). If we assume that  $C_M$  does not change with age, (Hille 1984; Johnston and Wu 1995) then from the relation  $\tau_m = R_M C_M$ , a decrease in  $\tau_m$  with age implies a decrease of  $R_M$ . This reflects a greater ionic channel density in older animals as was already noted in previous articles (McCormick and Prince 1987; Zhou and Hablitz 1996; Spigelman et al. 1992). As mentioned by these authors, membrane resistance also depends on the surface area of the cell but we do not have any morphological data to confirm that cells grow with age. However, as noted by Zhou and Hablitz (1996) our greater rate of decrease in  $R_{in}$  compared  $\tau_m$  in Fig. 2 indicates that cells indeed do grow. In the dorsal striatum, the mean  $R_{in}$  and  $\tau_m$  are 16.6 M $\Omega$  and 5.3msec respectively (Kita et al. 1984). In the same nucleus, (Kawaguchi et al. 1989) the  $R_{in}$  is around 30 M $\Omega$  and the  $\tau_m$  values are slightly above 8msec. In the nAcc, O'Donnell and Grace (1993) obtained an average  $R_{in}$  of 55 M $\Omega$  and an average  $\tau_m$  of 8.6 msec. The  $R_{in}$  value is substantially lower than our average of 98.2 M $\Omega$  at P49. However these authors use classical intracellular electrodes for their recordings whereas we use whole cell patch clamping. A higher  $R_{in}$  and thus a smaller electrotonic length may help newborns integrate synaptic inputs in a more efficient manner which would then compensate for their lack of organization (McCormick and Prince 1987; Spigelman et al. 1992).

### Fast action potentials

Action potentials of short duration are seen even at P1 and P2 which suggest that sodium channels already exist at birth. Application of the Na<sup>+</sup> channel blocker QX314 confirms their presence: the discharges become shorter. The fact that they also become wider indicates that potassium channels affect the action potential at birth and that these are also blocked by QX314 (blockade of K<sup>+</sup> currents by QX314 has already been reported by several authors (Alreja and Aghajanian 1994; Grunschlag et al. 1997; Deisz et al. 1997; Perkins and Wong 1995). Even though there is little correlation between age and action potential width the latter decreases significantly with age: the average width is 3.2 msec at birth and 1.5 msec at P49. The action potential width decrease at a rate less than half of the decrease in R<sub>in</sub>. Thus, not all parameters mature at the same rate as was already noted (McCormick and Prince 1987; Spigelman et al. 1992). Our average peak measured from threshold is 54.7mV and the average threshold is -34.6mV whereas O'Donnell and Grace (1993) obtained an average of 58.4 mV and -41.5 msec respectively. Their average action potential width measured at threshold is 1.8msec but ours is measured at the voltage halfway between the maximum and the threshold. So, using a rough trapezoidal rule extrapolation, a width equivalent to theirs at threshold would be 3.0 msec which is almost twice their value. This implies that developmental changes are not complete at P49 although we have to point out that the bath temperature in our case hovered between 20 and 22°C whereas O'Donnell and Grace (1993) used a bath temperature lying in the range 33 to 35°C. Production by the genetic apparatus of the neuron of either more mature versions or greater amounts of the sodium channel and the

delayed rectifier channel could explain why the action potential threshold and amplitude are not correlated with age as opposed to the hyperpolarisation phase of the action potential which decreases with age since the latter only depends on potassium channels.

As application of CsOH or CsCl does not affect action potential parameters in any significant way, we conclude this drug does not block potassium channels involved in shaping the action potential. Similarly, 4-AP does not affect action potential threshold as is expected because this threshold depends on  $I_{K(DR)}$ , the fast sodium channel current and the leak currents and all of these are independent of 4-AP action (Johnston and Wu 1995).

### Calcium spikes

It is likely that the wide humps in Fig 6A are due to low threshold calcium channels but this possibility needs to be verified with blockers of these channels. In the adult guinea pig nAcc, one also observes calcium spikes, (Uchimura et al. 1989b). O'Donnell and Grace (1993) have noticed that action potentials become narrower and shorter after cobalt (a calcium channel blocker) application in the adult rat which suggests that calcium channels come into play. We also observed a slow depolarizing rebound after a hyperpolarizing current pulse (Fig 6C). This is similar to the low threshold discharges that are seen in the thalamus and which play a role in rhythm generation and enhance excitation in hyperpolarized cells (Ramoal and McCormick 1994; Warren and Jones 1997). In O'Donnell and Grace (1993), the rebound is only seen in core neurons and it disappears after application of cobalt. Again we have not added calcium channel blockers, so the possibility that these rebounds are then due to calcium spikes is not



excluded. All recorded neurons whether classified as MS or not displayed a slow depolarization ramp regardless of age or the value of the holding potential. A calcium current component to this ramp has been proposed in MS neurons of the adult nAcc (O'Donnell and Grace 1993) although we later discuss another possibility.

#### *AHP's and Spike Train Frequency and Adaptation*

Whether we measure the frequency in the first spike interval or we calculate it as an average over the whole train, it rises with injected current as was also reported in O'Donnell and Grace (1993) in the nAcc. It becomes more difficult to excite cells considering that the action potential threshold does not change with age whereas the RMP and  $R_{in}$  drop with age. That explains why it takes more current to attain action potential threshold and to obtain the same spike train frequency. This observation has also been reported in the thalamus (Warren and Jones 1997; Ramoa and McCormick 1994) as opposed to the work of McCormick and Prince (1987) on the pyramidal neurons in the neocortex but in their case the action potential amplitude increases.

In an earlier work by Kawaguchi (1992) on the dorsal striatum, firing rate adaptation is present in LA cells and can be explained by their AHP's of large amplitude and long latencies compared to MS cells. He reports that the latter do not show adaptation. In the guinea pig nAcc, where AHP latencies of less than 30msec (typical of MS cells) are reported (Uchimura et al. 1989b), little adaptation is seen. On the other hand, we report a considerable degree of adaptation in cells that seem to be MS neurons, just as in the study by O'Donnell and Grace (1993) on the mature nAcc: we define the degree of adaptation by the difference between the slope of the spike train frequency

versus current in the first spike interval to the slope of the average frequency over the whole train versus current. The degree of adaptation is independent of age and its value of .08 Hz/pA is significant ( $p < 0.001$ ,  $n=33$ ,  $t=-4.08$ ). We will come forth with a possible explanation for these results, after discussing various potassium currents. The first one,  $I_{K(Af)}$ , activates slightly above the action potential threshold and inactivates quickly. The second one,  $I_{K(As)}$ , activates quickly just below the action potential threshold and inactivates more slowly. Finally, another one activates slowly at higher potentials and does not inactivate (in this paper, we denote it by  $I_{K(ni)}$ ).  $I_{K(As)}$  complement the action of persistent sodium channels and calcium channels in slow depolarizations of MS neurons (Kita et al. 1985a; Kita et al. 1985b; Kawaguchi et al. 1989). (There may also be a TTX-insensitive slow  $Na^+$  current involved in both MS and LA neurons of rat neostriatal cells (Chao and Alzheimer 1995)). Two mM of 4-AP blocks  $I_{K(Af)}$  and  $I_{K(As)}$  while TEA blocks  $I_{K(ni)}$  and  $I_{K(Af)}$  and also, the amount of time spent in the hyperpolarized state affects the reactivation of  $I_{K(As)}$  (Nisenbaum et al. 1994). These authors stated that *in vivo*,  $I_{K(As)}$  also affects the latency to first discharge and the spike train frequency.

We have observed that with 2mM of 4-AP, the latency to first discharge diminishes, (data not shown) the AHP's are reduced, (Fig. 10C) and the action potential duration is considerably lengthened (Fig. 10C). Now, O'Donnell and Grace (1993) have concluded that morphologically and electrophysiologically, almost all the nAC can be considered to be an ventral extension of the neostriatum. Therefore, it would not be surprising that 4-AP blocks  $I_{K(As)}$  and  $I_{K(Af)}$  in the nAcc.  $I_{K(Af)}$  would only be responsible for the faster repolarization events like AHP's. We noted that AHP's appear as early as

P4.  $I_{K(Af)}$  or some other potassium channel responsible for the AHP's would then be active very early after birth. It is not fully mature since we see a significant decline in AHP latency with age (Fig. 5D). Early maturation of AHP is not seen in all studies though: for example, in the cat, AHP's are more frequent in older cells of caudate nucleus (Cepeda et al. 1991).  $I_{K(Ca)}$  is another current that affects the interspike intervals and the AHP's (Johnston and Wu 1995). As cesium is known to block  $I_{K(Ca)}$ , (Hille 1984) it is possible this channel is also present in our study but again, its existence can only be proved by adding a calcium channel blocker like cobalt: O'Donnell and Grace (1993) have noticed that cobalt attenuates the AHP's.  $I_{K(As)}$  could be a component in the slow depolarization ramp observed in all our neurons as was suggested above in the dorsal striatum.

The  $I_{K(mi)}$  block by TEA could explain why the spike train in Fig. 10B is replaced by a depolarized plateau. Such an effect of TEA on the falling rather than rising phase of the action potential has also been reported in the rat (Kita et al. 1985b) and the cat (Sugimori et al. 1978). Assuming that  $I_{K(As)}$  affects the first interspike interval and that  $I_{K(mi)}$  affects the average interspike interval, the lack of correlation of the observed degree of adaptation with age could mean neither of these currents is evolving faster than the other.

In summary, the three potassium channels may affect the discharge pattern.

### Inward Rectification

Neurons in the dorsal striatum that appear to be of the MS type display inward rectification upon hyperpolarization (Kita et al. 1984). This is also the case in the guinea pig nAcc (Uchimura et al. 1989b). In the cat caudate nucleus, although it is more

frequent in older animals (Cepeda et al. 1991). O'Donnell and Grace (1993) only saw an instantaneous inward rectification in 43% of mature cells. The low percentage reported by these authors is probably due to the fact they use classical intracellular electrodes for their recordings. We saw an instantaneous inward rectification in more than 98% of all neurons after the first two postnatal weeks.

As in the study of Nisenbaum and Wilson (1995) on MS neurons of the dorsal striatum, we note that TEA (Fig. 8B) and CsOH (Fig. 8A) but not 4-AP block the instantaneous inward rectification (Fig. 8C). Only CsOH shows a switch from an inward to an outward rectification. Such a non-linear blocking action by cesium as a function of voltage hyperpolarization has been mentioned in Hille (1984).

It seems that the  $I_{K(ir)}$  current is responsible for the inward rectification and for 50% of  $R_{in}$  in possibly all MS neurons in the nAcc (Uchimura et al. 1989a). It therefore contributes significantly to the RMP. The evolution of this channel responsible for this current would explain the observed decrease with age of the RMP, the  $R_{in}$  and the input resistance for voltages hyperpolarized with respect to the RMP. Because  $I_{K(ir)}$  lowers the  $R_{in}$  by a shunt effect during the hyperpolarization, the electrotonic length increases which tend to cancel excitatory synaptic inputs when these are not synchronized (Nisenbaum and Wilson 1995). *In vivo*, temporal summation of converging synaptic inputs from the prefrontal cortex, amygdala, thalamus and hippocampus triggered spike firing in neostriatal cells (Finch 1996). Also *in vivo*, activation of hippocampal afferents switch nAcc neurons into a more depolarized state allowing PFC stimulation to trigger spike trains (O'Donnell and Grace, 1995). After diffusion of cesium, the time spent in the

hyperpolarized state diminishes and the magnitude and variability of spontaneous depolarizations both increase. Their reversal potential is the same as that of EPSP's evoked by cortex stimulation. The depolarized state which is only seen *in vivo* is thus interpreted as being due to synaptic excitation. In the presence of cesium, this input is strong enough to drive the neuron close to the EPSP reversal potential. One role attributed to dendritic potassium conductances would then be to counteract those excitatory inputs and thereby protect the neuron from eventual destruction (Wilson and Kawaguchi 1996). The immaturity of these conductances during the first post-natal week would not be deleterious to the cell because it is paralleled by a scarcity of dendritic spines and a lack of local synaptic excitation (Misgeld et al. 1986). Otherwise, the PFC would easily destroy very young nAcc neurons since their RMP is already in a depolarized state independent of hippocampal gating. Moreover, their high  $R_{in}$  makes it easy to excite them. When the synaptic inputs are synchronized,  $I_{K(ir)}$  eventually deactivates by the depolarization until  $I_{K(As)}$  and  $I_{K(mi)}$  come into play to stabilize this depolarization for many seconds (Nisenbaum and Wilson 1995).

### Conclusions

The evolution of all these membrane conductances is very likely an important factor in the postnatal development of the nAcc. Another potential factor though is the plasticity of synaptic inputs from the cerebral cortex and the hippocampus. In the adult, Kombian and Malenka (1994) discovered cortical afferents could simultaneously elicit LTP of non-NMDA responses and LTD of NMDA-receptor-mediated responses in the nAcc. Both LTP and LTD were dependent upon an intracellular increase in  $Ca^{++}$  and

NMDA receptor activation during LTP-LTD induction. Zhou and Hablitz (1996) have pointed out that wider action potentials in young neurons facilitate calcium entry through calcium channels activated by depolarization and that are slowly inactivating. Although we have not applied calcium channel blockers, we suspect calcium channels are involved in the slow depolarization ramp and in the low threshold spike phenomenon. Once very young nAcc neurons are excited by the PFC afferents, calcium is then made available for a cascade of mechanisms leading among other things to neuronal plasticity. We speculate that PFC hypofunctionality then eventually leads to diseases like schizophrenia due to a lack of appropriate neuronal plasticity at an early critical period after birth. The postnatal development of these synaptic mechanisms is thus also a good topic for future research. One would predict to observe a more efficient summation of synaptic inputs or EPSP's of greater amplitude as neurons become intrinsically less excitable with age.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

Supported by the Fonds de la Recherche en Santé Mentale du Québec and by the National Science and Engineering Research Council of Canada. R.A.W. was supported by the Fonds de la Recherche en Santé Mentale du Québec.

## FIGURES LEGENDS

*Figure 1.* Physiological characteristics of nAcc neurons. A- A P46 neuron displaying the characteristics of medium spiny neurons. MS neurons displayed very small depolarizing sag (arrow, left column) and a prominent inward rectification (arrowhead, left column) in response to hyperpolarizing current pulses, a depolarizing plateau preceding the action potential (arrow, right column), an AHP of medium latency and amplitude (arrowhead, middle column) and a firing train with little frequency adaptation (right column). B- A P8 neuron displaying the characteristics of large aspiny neurons. LA neurons displayed a large depolarizing sag in response to hyperpolarizing current pulses (arrow, left column), a large and long AHP following action potential (arrow, middle column) and little firing frequency adaptation (right column). C- A P10 neuron displaying the characteristics of a fast spiking neuron. FS neurons displayed no inward rectification (left column), small AHP that followed short duration action potential (middle column) and fast irregular firing train (right column). Following the first spike, there is a long pause before the train resumes with four equally spaced spikes of equal amplitude and width. They are all slightly shorter and wider than the initial spike in the train. D- A P7 neuron with mixed characteristics including a large time dependent inward rectification (arrow, left column) in response to hyperpolarizing current pulses followed by rebound firing (arrowhead, left column), a small AHP (middle column) and significant firing adaptation (right column). RMP was -76mV in A, -47mV in B, -64mV in C. In D, the neuron was held at -58mV with -13pA to -19pA (middle and right). Vertical scale bar is 40mV for all panels. Horizontal scale bar represent in msec: (left column) A, 125; B-D, 250; (middle column)



A, 30; B and C, 125; D, 250; (right column) A and B, 125; C and D, 250. Traces in the left columns represent the average of two sweeps in A, B and D and of four sweeps in C; the spikes appear distorted because of the averaging. All the other traces represent single sweeps.

*Figure 2.* Graphs illustrating the passive membrane properties of nAcc neurons as a function of postnatal age. A- Resting membrane potentials (RMP). Data were best fitted using a 2<sup>nd</sup> order polynomial regression and a statistically significant correlation was found between RMP and postnatal age ( $r^2=0.473$ ,  $p<0.001$ ,  $n=94$ ). B- Membrane time constants ( $\tau_m$ ). Data were best fitted using a 2<sup>nd</sup> order polynomial regression and a statistically significant correlation was found between  $\tau_m$  and postnatal age ( $r^2=0.562$ ,  $p<0.001$ ,  $n=74$ ). Cells for which the voltage response did not flatten out at the end of the current pulse were excluded. C- Input resistance ( $R_{in}$ ) measured around the RMP. Data were best fitted using a 3<sup>rd</sup> order polynomial regression and a statistically significant correlation was found between  $R_{in}$  and postnatal age ( $r^2=0.509$ ,  $p<0.001$ ,  $n=101$ ). D-  $R_{in}$  measured in the rectified hyperpolarized range relative to the RMP. Data were best fitted using a 3<sup>rd</sup> order polynomial regression and a statistically significant correlation was found between  $R_{in}$  and postnatal age ( $r^2=0.509$ ,  $p<0.001$ ,  $n=99$ ). E- Inward rectification measured as the difference between  $R_{in}$  measured in the linear (C) and rectified (D) ranges. Data were best fit by a linear regression and a statistically significant correlation was found between the difference and postnatal age ( $r^2=0.343$ ,  $p<0.001$ ,  $n=81$ ). Cells lacking inward rectification were excluded from the regression. F- Same as E but the inward rectification was expressed as a percentage of  $R_{in}$  measured in the linear range (C).

No significant correlation was found between the % inward rectification and postnatal age ( $r^2=0.013$ ,  $p=0.304$ ,  $n=81$ ). Cells lacking inward rectification were excluded from the regression.

*Figure 3.* Current-voltage relationship of MS neurons. Responses (upper row) of a P7 (A) and a P30 (B) neurons to depolarizing and hyperpolarizing current pulses (middle row) from RMP and I-V relationships (bottom row). Scale bar applies to all diagrams. RMP was -50mV in A and -71mV in B. All traces represent the average of two sweeps and, as a consequence, the spikes appear distorted.

*Figure 4.* Characteristics of action potentials in response to depolarizing current pulses in MS neurons. Single action potential (left) and firing train (right) in a P1 neuron (A) and a P39 neuron (B). Effects of internal QX314 on the action potential of a P3 (C) and a P38 (D) neuron. Action potentials were recorded 6.5min (C) and 3min (D) after breaking into the cells. The lowest dotted line of each panel indicates the resting membrane potential. The horizontal scale bar represents 20ms for single action potential traces and 150ms for the spike train traces.

*Figure 5.* Characteristics of action potential as a function of postnatal age. A- Threshold. The threshold was measured as the voltage on the rising phase of the response at which the change in slope was maximum in response to just above threshold depolarizing current pulses of 100 or 400 ms (see Fig. 4 left column). No statistically significant correlation was found between threshold and postnatal age ( $r^2<0.021$ ,  $p=0.270$ ,  $n=59$ ). B- Amplitude. The amplitude was measured from the threshold to the peak of the action potential. No statistically significant correlation was found between the amplitude and

postnatal age ( $r^2 < 0.032$ ,  $p = 0.156$ ,  $n = 65$ ). C- Duration. The duration was measured at the midpoint between the threshold and the peak of the action potential (half-amplit. in Fig. 4 A and B left panels). Data were best fitted using a 2<sup>nd</sup> order polynomial regression and a statistically significant correlation was found between duration and postnatal age ( $r^2 = 0.369$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 65$ ). D- Latency of the afterhyperpolarization (AHP) following the action potential. Data were best fitted using a 2<sup>nd</sup> order polynomial regression and a statistically significant correlation was found between the latency of the AHP and postnatal age ( $r^2 = 0.214$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 70$ ).

*Figure 6.* Low threshold calcium spikes. A- Responses of a P6 MS neuron to perithreshold depolarizing current pulses at a holding membrane potential of -60mV (left) and -80mV (right). The arrow in the right panel indicates the depolarizing hump of a low threshold spike which is absent in the left traces. B- Trains of action potentials evoked from -60mV (left) and -80mV (right). At -80mV, the spike train is initiated by a fast and small action potential (arrow). C- Low threshold spike elicited at the end of an hyperpolarizing current pulse showing its voltage dependency.

*Figure 7.* Postnatal changes in firing properties. A- Firing frequency of the first interspike interval of a firing train as a function of injected current for 5 P4-P9 and 5 P30-P49 MS neurons. B- Same neurons as in A but the average frequency of the train was used. C- Logarithm of the slope of the linear regression lines fitted to the frequency curves similar to those in A for all MS neurons as a function of postnatal age (correlation coefficients were all  $> 0.9$ ). A statistically significant correlation was found between the slope and postnatal age ( $r^2 = 0.259$ ,  $p = 0.001$ ,  $n = 38$ ). D- Same as in C but the slope of the average

frequency was used instead (correlation coefficients were all  $>0.9$ ). A statistically significant correlation was found between the slope and postnatal age ( $r^2=0.208$ ,  $p=0.001$ ,  $n=47$ ).

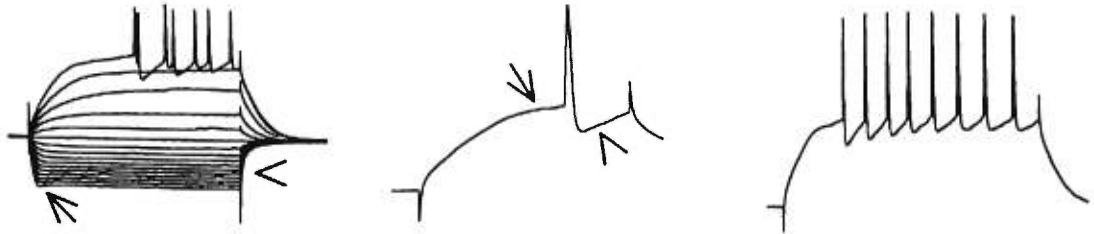
*Figure 8.* Effects CsOH (A), TEA (B) and 4-AP (C) on the membrane properties of MS neurons. A- Voltage responses of a P12 neuron before (Control), during (CsOH) and after the addition of 300  $\mu$ M CsOH to the ACSF and corresponding current voltage relationships. CsOH panel after 28 min with CsOH and Wash panel after 54 min of washout of CsOH. B- Voltage responses of a P37 neuron before (Control), during (TEA) and after the addition of 25mM TEA to the ACSF and corresponding current voltage relationships. TEA panel after 10 min with TEA and Wash panel after 25 min of washout of TEA. All traces represent the average of two sweeps. C- Voltage response of the same P12 neuron shown in A before (Control), during (4-AP) and after the addition of 2 mM 4-AP to the ACSF and corresponding current voltage relationships. 4-AP panel after 15 min with 4-AP and lower panel after 31 min of washout of 4-AP. All traces represent the average of two pulses. In all 3 current voltages curves panels: ▲ Control, ■ Blocker, ● Wash.

*Figure 9.* Effects of cesium on the inward rectification membrane in the hyperpolarized range. The ordinate represents the amounts of inward rectification measured as measured as the ratio of the difference between the  $R_{in}$  measured around the resting membrane potential and that measured at hyperpolarized membrane potentials and the  $R_{in}$  measured around the holding membrane potential. A statistically significant correlation was found between the effects of cesium on the rectification and

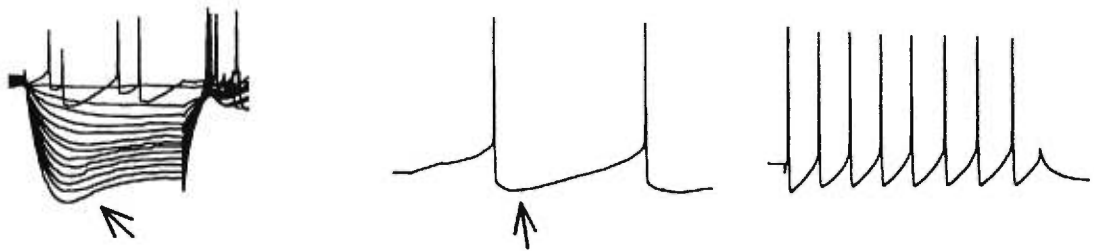
postnatal age ( $r^2=0.493$ ,  $p=0.024$ ,  $n=10$ ). Cells lacking inward rectification were excluded from the regression.

*Figure 10.* Effects CsOH (A), TEA (B) and 4-AP (C) on the firing properties of P12, P37 and P15 MS neurons respectively. The middle traces were recorded after wash in periods of 24 min (A), 10 min (B) and 19 min (C). The wash out periods were of 40 min (A), 25 min (B) and 35min (C). The horizontal scale bar represents 250msec for A and 125 msec for B and C

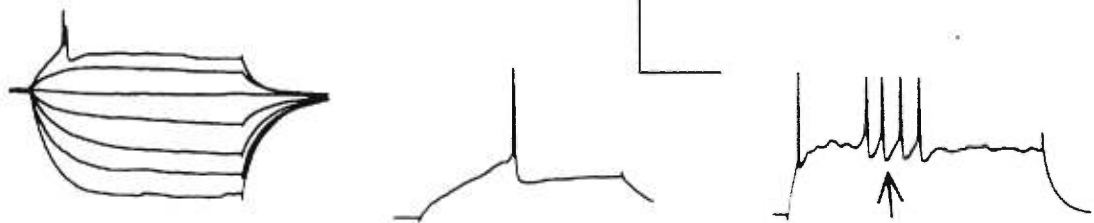
A- Medium spiny (P46)



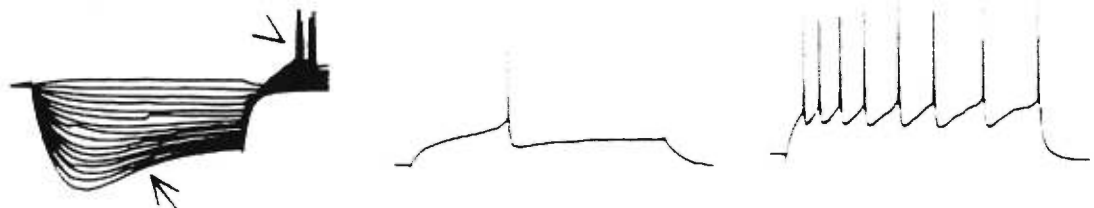
B- Large aspiny (P8)



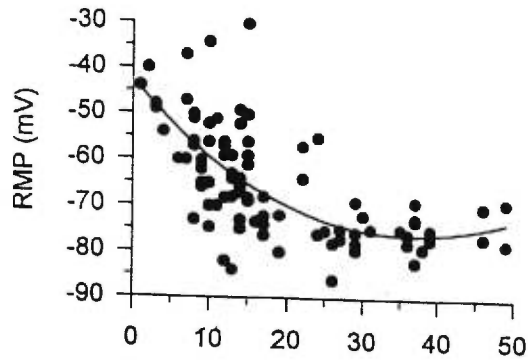
C- Fast Spiking (P10)



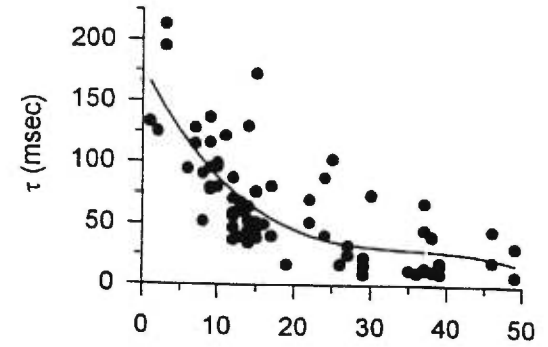
D- Mixed (P7)



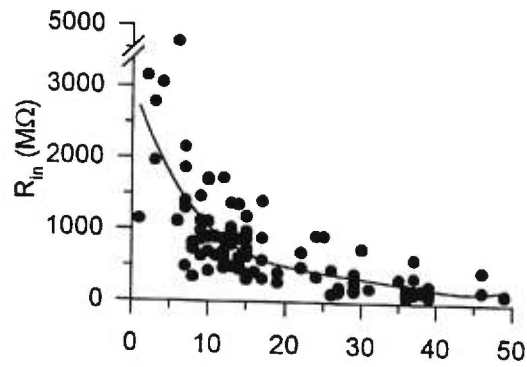
**A- Resting Membrane Potential**



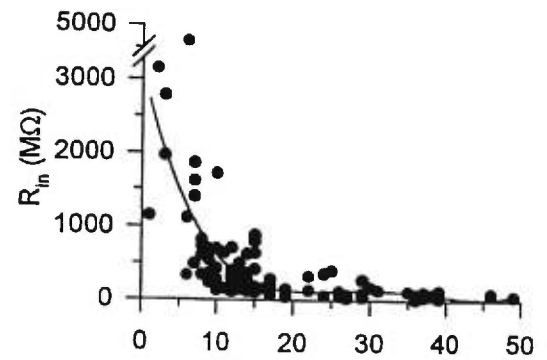
**B- Time Constant**



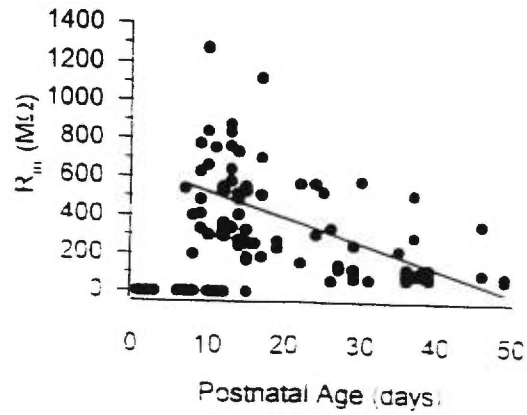
**C- Input Resistance around RMP**



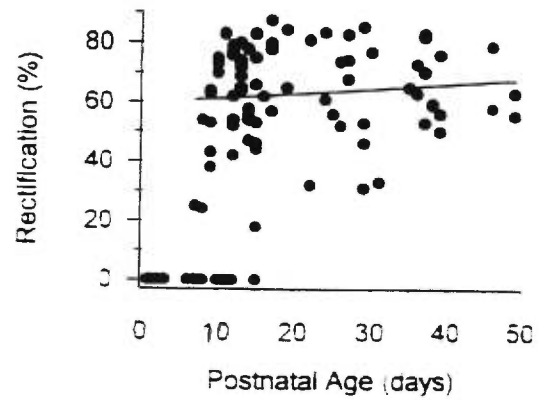
**D- Rectified Range Input Resistance**

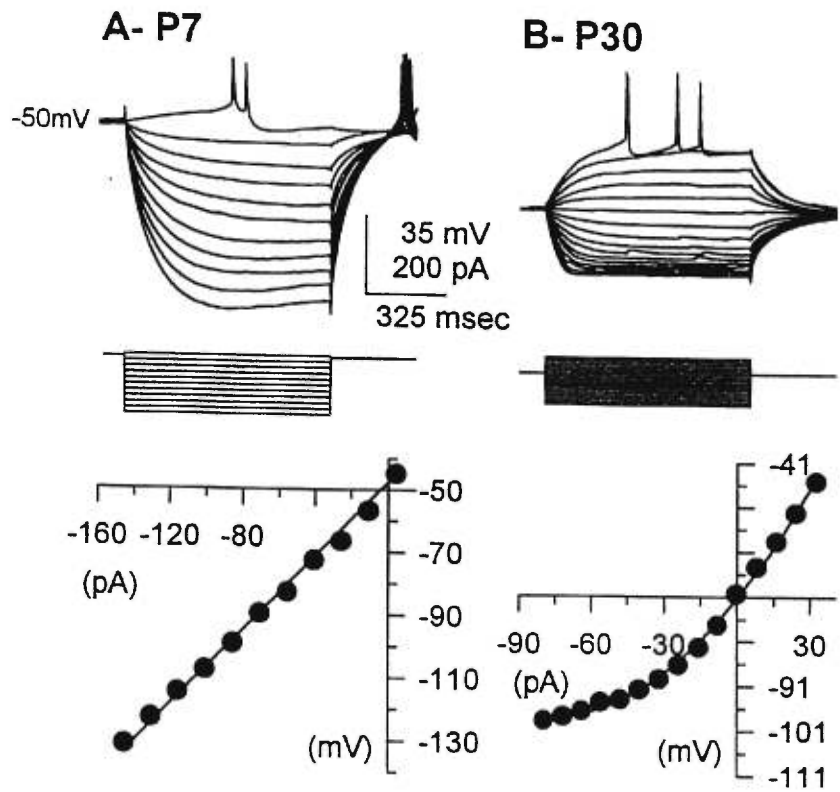


**E- Inward Rectification**



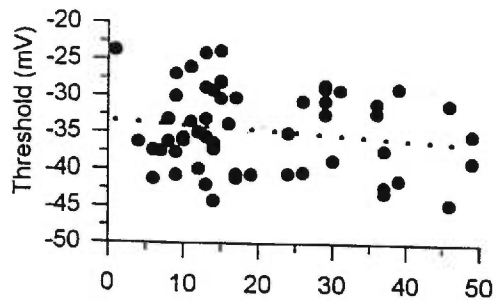
**F- % Inward Rectification**



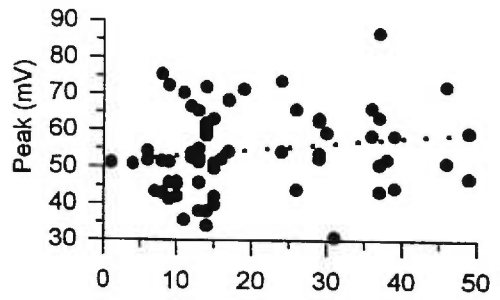




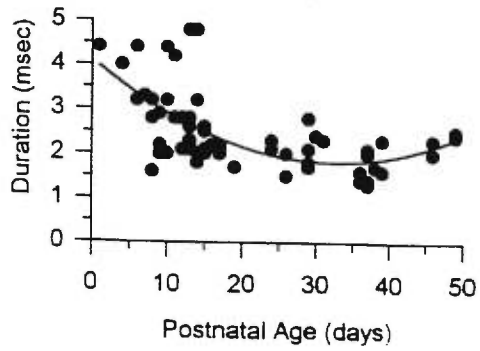
A- Threshold



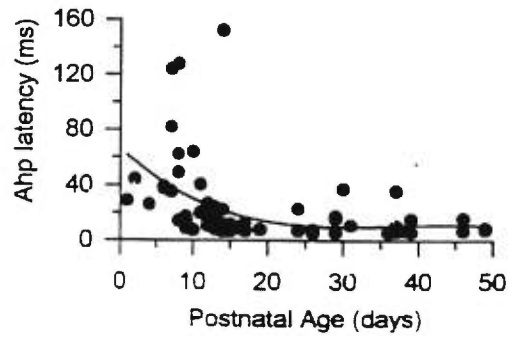
B- Amplitude



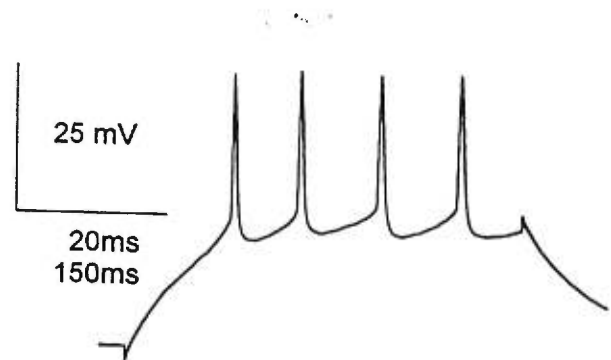
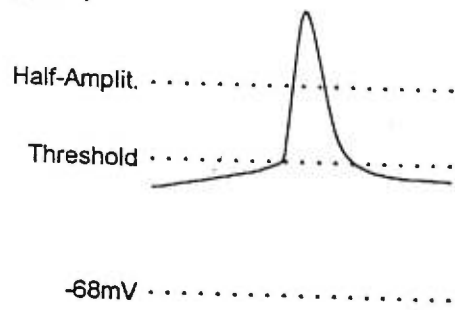
C- Width at half-amplitude



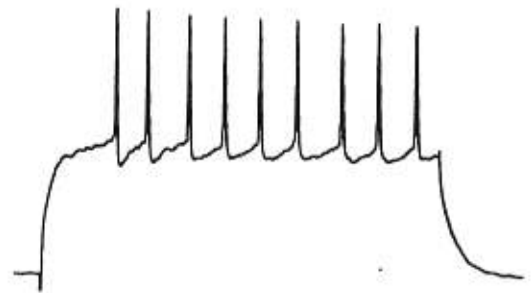
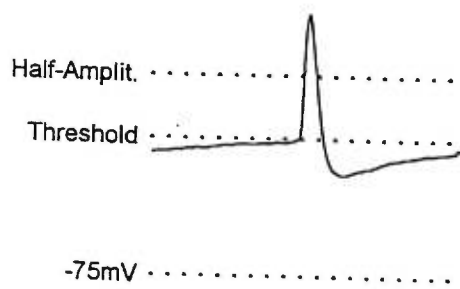
D- AHP latency



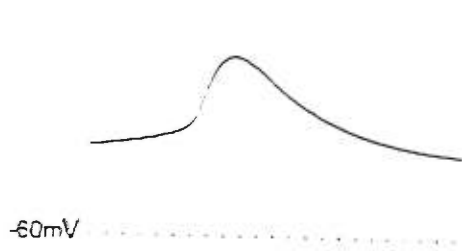
A- P1



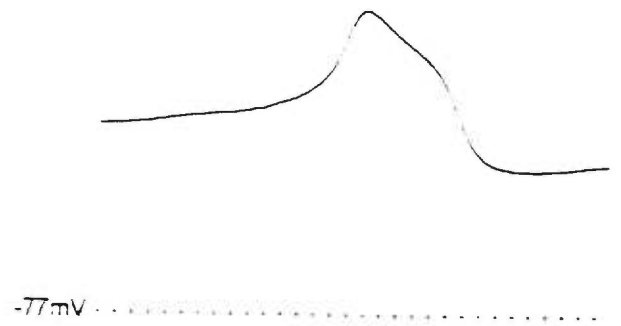
B- P39



C- P3 QX314 1mM

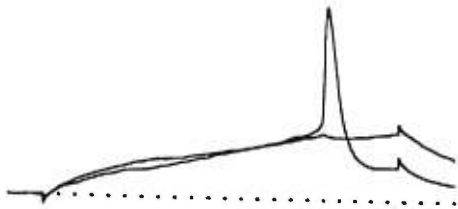


D- P38 QX314 2mM

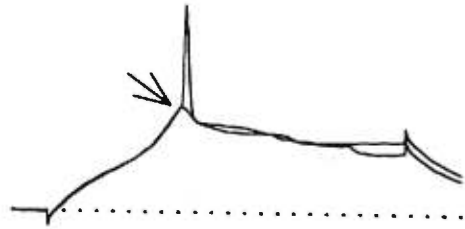


A- Single action potential

P6 -60mV

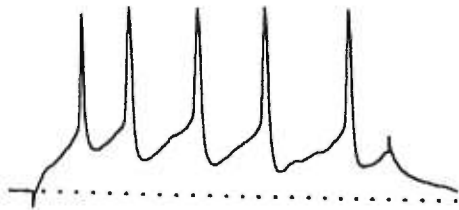


P6 -80mV

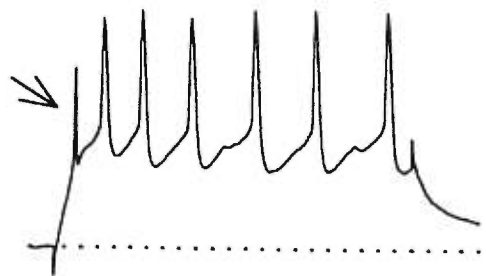


B- Firing train

P6 -60mV

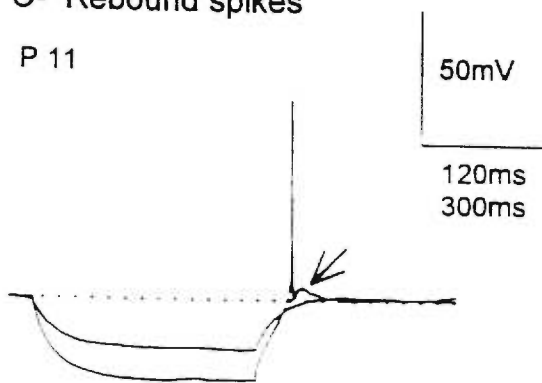


P6 -80mV

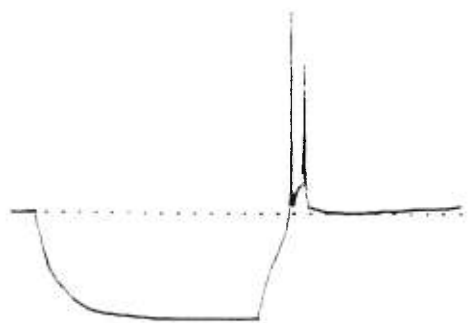


C- Rebound spikes

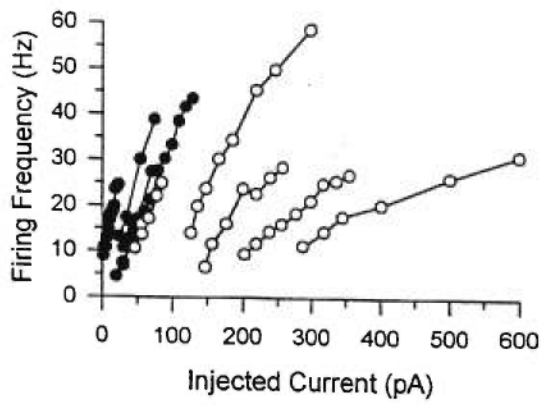
P 11



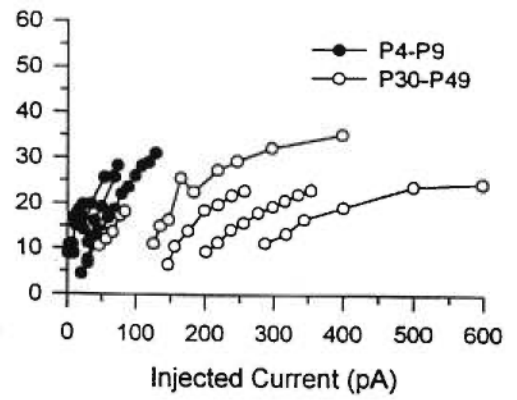
P11



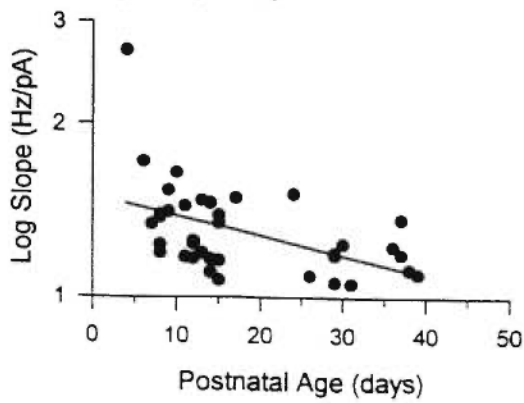
A- First interspike interval frequency



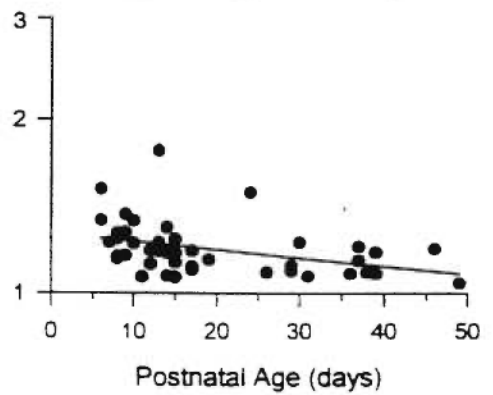
B- Train average frequency



C- Firing Frequency

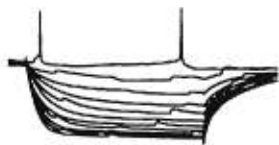


D- Average Firing Frequency

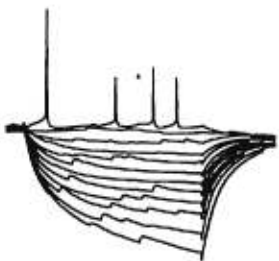


A- P12

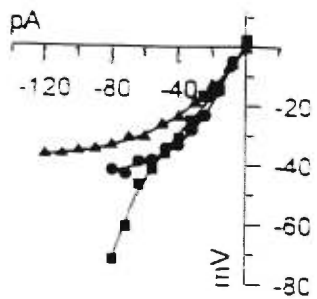
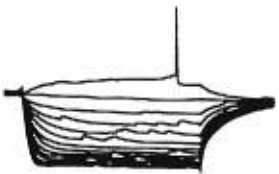
Control



CsOH

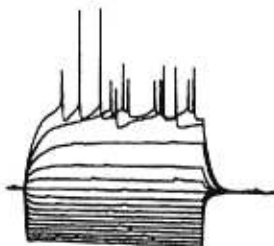


Wash

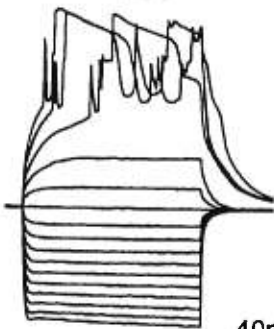


B- P37

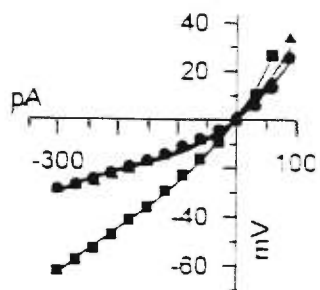
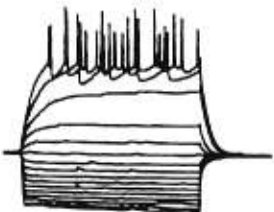
Control



TEA



Wash



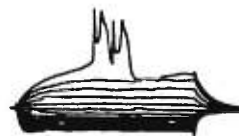
40mV  
250 msec

C- P12

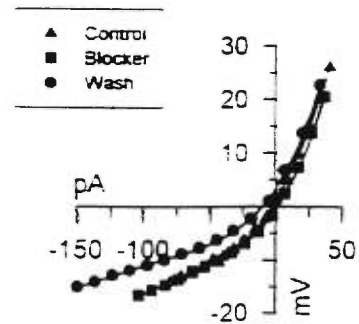
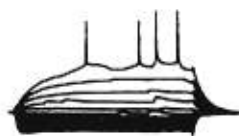
Control



4-AP



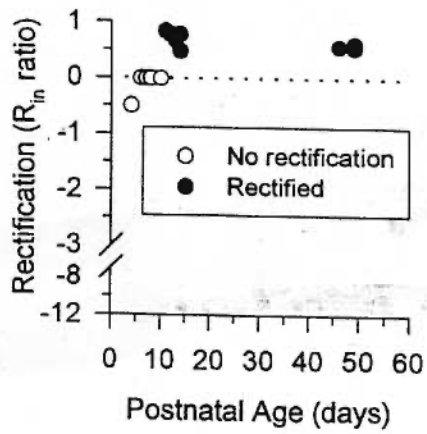
Wash



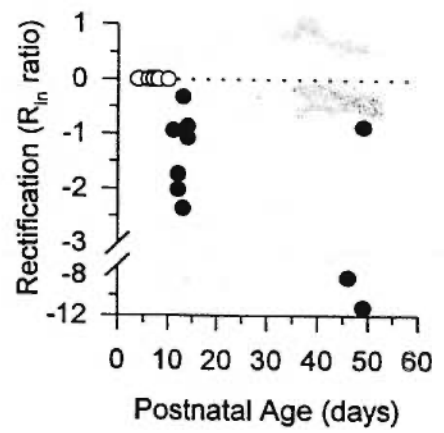
▲ Control  
■ Blocker  
● Wash

Belloni, M. and Warren, R.A.

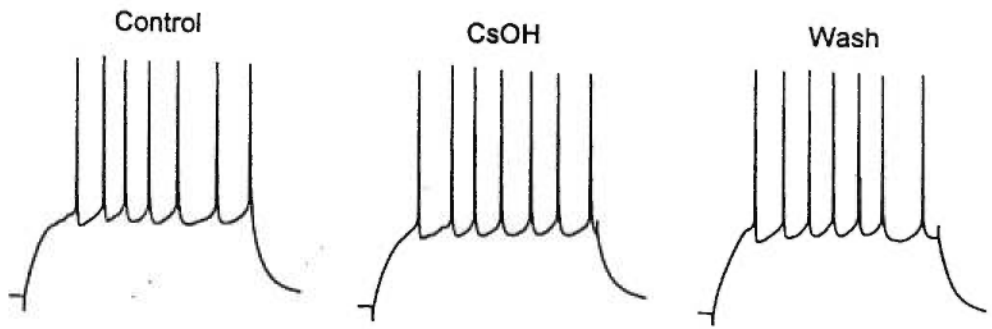
**A- Control**



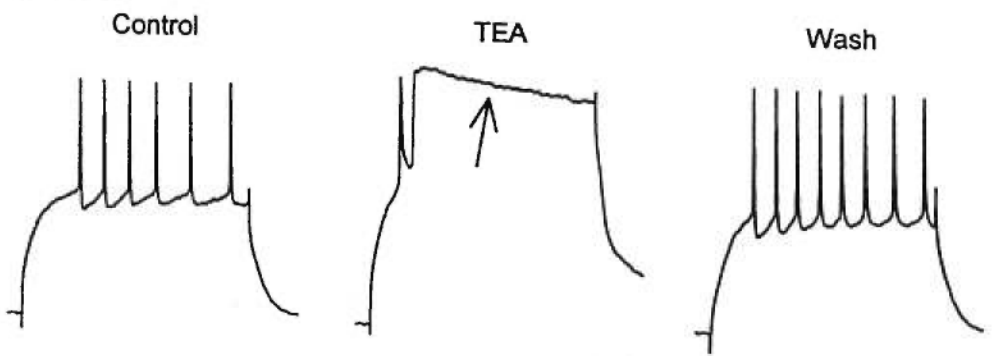
**B- Cesium**



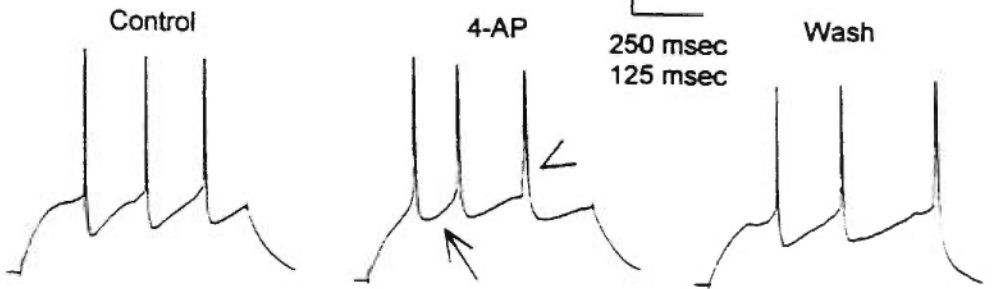
A- P12



B- P37



C- P15



**Figure 10**

**Postnatal development of accumbens neurons**

**Belleau, M. and Warren, R.A.**





**REFERENCES**

Alreja, M. and Aghajanian, G.K. QX-314 blocks the potassium but not the sodium-dependent component of the opiate response in locus-coeruleus neurons *Brain Res*, 639(2):320-324, 1994.

Bishop, G.A., Chang, H.T., and Kitai, S.T. Morphological and physiological properties of neostriatal neurons: an intracellular horseradish peroxidase study in the rat. *Neuroscience* 7:179-191, 1982.

Barry, P.H. JPCalc, a software package for calculating liquid junction potential corrections in patch-clamp, intracellular, epithelial and bilayer measurements and for correcting junction potential measurements. *J.Neurosci.Meth.* 51:107-116, 1994.

Blanton, M. G., Lo Turco, J. J., and Kriegstein, A. R. Whole cell recording from neurons in slices of reptilian and mammalian cerebral cortex. *Journal of Neuroscience Methods* 30:203-210, 1989.

Braak, H. and Braak, E. Neuronal types in the striatum of man. *Cell Issue Res.* 227:319-342, 1982.

Cador, M., Taylor, J. R., and Robbins, T. W. Potentiation of the effects of reward-related stimuli by dopaminergic-dependent mechanisms in the nucleus accumbens. *Psychopharmacology* 104:377-385, 1991.

Cepeda, C., Walsh, J.P., Buchwald, N.A., and Levine, M.S. Neurophysiological maturation of cat caudate neurons: evidence from in vitro studies. *Synapse* 7:278-290, 1991.

Chao, T.I. and Alzheimer, C. Do neurons from rat neostriatum express both a TTX-

- sensitive and a TTX-insensitive slow Na<sup>+</sup> current? *J.Neurophysiol.* 74:934-941, 1995.
- Danner, H. and Pfister, C. [the structure of the neostriatum in the rat]. [german]. *Journal fur Hirnforschung* 20:285-301, 1979.
- Danner, H. and Pfister, C. [spiny neurons in the rat caudate-putamen complex]. [german]. *Journal fur Hirnforschung* 22:75-84, 1981a.
- Danner, H. and Pfister, C. [4 spine-less neuron types in the neostriatum of the rat]. [german]. *Journal fur Hirnforschung* 22:465-477, 1981b.
- Danner, H. and Pfister, C. [investigation on the cytoarchitecture of the nucleus accumbens septi of rat (author's transl)]. [german]. *Anatomischer Anzeiger* 150:264-280, 1981c.
- Danner, H. and Pfister, C. [further studies on the cytoarchitecture of the nucleus accumbens septi of the rat]. [german]. *Journal fur Hirnforschung* 23:87-99, 1982.
- Deisz, R.A., Billard, J.M., and Zieglgansberger, W. Presynaptic and postsynaptic GABA(B) receptors of neocortical neurons of the rat in vitro: Differences in pharmacology and ionic mechanisms. *Synapse* 25:62-72, 1997.
- DiFiglia, M., Pasik, P., and Pasik, T. A Golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkeys. *Brain Res.* 114:245-256, 1976.
- DiFiglia, M., Pasik, P., and Pasik, T. Early postnatal development of the monkey neostriatum: a Golgi and ultrastructural study. *J.Comp.Neurol.* 190:303-331, 1980a.
- DiFiglia, M., Pasik, P., and Pasik, T. Ultrastructure of Golgi-impregnated and gold-toned spiny and aspiny neurons in the monkey neostriatum. *J.Neurocytol.* 9:471-492, 1980b.
- Falkai, P. and Bogerts, B. Cytoarchitectonic and developmental studies in schizophrenia. In: *Neurobiology and Psychiatry*, edited by R. Kerwin. Cambridge: Cambridge University

Press, 1993, p. 43-70.

Finch, D.M. Neurophysiology of converging synaptic inputs from the rat prefrontal cortex, amygdala, midline thalamus, and hippocampal formation onto single neurons of the caudate/putamen and nucleus accumbens. *Hippocampus* 6:495-512, 1996.

Flores, G., Barbeau, D., Quirion, R., and Srivastava, L.K. Decreased binding of dopamine D3 receptors in limbic subregions after neonatal bilateral lesion of rat hippocampus. *J.Neurosci.* 16:2020-2026, 1996.

Fukuda, A. and Prince, D.A. Postnatal development of electrogenic sodium pump activity in rat hippocampal pyramidal neurons. *Dev.Brain Res.* 65:101-114, 1992.

Graveland, G.A., Williams, R.S., and DiFiglia, M. A Golgi study of the human neostriatum: neurons and afferent fibers. *J.Comp.Neurol.* 234:317-333, 1985.

Groenewegen, H.J., Becker, N.E., and Lohman, A.H. Subcortical afferents of the nucleus accumbens septi in the cat, studied with retrograde axonal transport of horseradish peroxidase and bisbenzimid. *Neuroscience* 5:1903-16: 2, 1980.

Groenewegen, H.J., Room, P., Witter, M.P., and Lohman, A.H. Cortical afferents of the nucleus accumbens in the cat, studied with anterograde and retrograde transport techniques. *Neuroscience* 7:977-996, 1982.

Groenewegen, H.J., Vermeulen-Van der Zee, E., te Kortschot, A., and Witter, M.P. Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. A study using anterograde transport of *phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *Neuroscience* 23:103-120, 1987.

Grunschlag, C.R., Haas, H.L., and Stevens, D.R. 5-HT inhibits lateral entorhinal cortical

neurons of the rat in vitro by activation of potassium channel-coupled 5-HT<sub>1A</sub> receptors  
*Brain Res*, 770(1-2):10-17, 1997.

Hakan, R.L., Berg, G.I., and Henriksen, S.J. Electrophysiological evidence for reciprocal connectivity between the nucleus accumbens septi and ventral pallidal region. *Brain Res*. 581:344-350, 1992.

Heimer L., Switzer, R. D., and Van Hoesen, G. W. Ventral striatum and ventral pallidum: components of the motor system ? *Trends Neurosci*. 5:83-87, 1982.

Hille, B. *Ion channels of excitable membranes*. Sunderland, MA: Sinauer Associates Inc., 1984.

Huguenard, J.R. and Prince, D.A. A novel t-type current underlies prolonged Ca<sup>2+</sup>-dependent burst firing in GABAergic neurons of rat thalamic reticular nucleus. *J.Neurosci*. 12:3804-3817, 1992.

Jayaraman, A. Organization of thalamic projections in the nucleus accumbens and the caudate nucleus in cats and its relation with hippocampal and other subcortical afferents. *Journal of Comparative Neurology* 231:396-420, 1985.

Joseph, M. H. and Hodges, H. Lever pressing for food reward and changes in dopamine turnover and uric acid in rat caudate and nucleus accumbens studied chronically by in vivo voltammetry. *J. of Neurosci. Meth*. 34:143-149, 1990.

Johnston, D. and Wu, S.M.S. *Foundations of cellular neurophysiology*. Cambridge: MIT Press, 1995.

Kaneko, T., Shigemoto, R., Nakanishi, S., and Mizuno, N. Substance P receptor-immunoreactive neurons in the rat neostriatum are segregated into somatostatinergic and

cholinergic aspiny neurons. *Brain Res.* 631:297-303, 1993.

Kawaguchi, Y. Large aspiny cells in the matrix of the rat neostriatum in vitro: physiological identification, relation to the compartments and excitatory postsynaptic currents. *J.Neurophysiol.* 67:1669-1682, 1992.

Kawaguchi, Y. Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *J.Neurosci.* 13:4908-4923, 1993.

Kawaguchi, Y. Physiological subgroups of nonpyramidal cells with specific morphological characteristics in layer II/III of rat frontal cortex. *J.Neurosci.* 15:2638-2655, 1995.

Kawaguchi, Y., Katsumaru, H., Kosaka, T., Heizmann, C.W., and Hama, K. Fast spiking cells in rat hippocampus (CA<sub>1</sub> region) contain the calcium-binding protein parvalbumin. *Brain Res.* 416:369-374, 1987.

Kawaguchi, Y. and Kubota, Y. Correlation of physiological subgroupings of nonpyramidal cells with parvalbumin- and calbindin<sub>D28k</sub>-immunoreactive neurons in layer V of rat frontal cortex. *J.Neurophysiol.* 70:387-396, 1993.

Kawaguchi, Y., Wilson, C.J., Augood, S.J., and Emson, P.C. Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci.* 18:527-535, 1995.

Kawaguchi, Y., Wilson, C.J., and Emson, P.C. Intracellular recording of identified neostriatal patch and matrix spiny cells in a slice preparation preserving cortical inputs. *J.Neurophysiol.* 62:1052-1068, 1989.

Kelley, A.E. and Domesick, V.B. The distribution of the projection from the hippocampal formation to the nucleus accumbens in the rat: an anterograde- and retrograde-

horseradish peroxidase study. *Neuroscience* 7:2321-2335, 1982.

Kelley, A.E., Domesick, V.B., and Nauta, W.J.H. The amygdalostriatal projection in the rat - An anatomical study by anterograde and retrograde tracing methods. *Neuroscience* 7:615-630, 1982.

Kelley, A.E. and Stinus, L. The distribution of the projection from the parataenial nucleus of the thalamus to the nucleus accumbens in the rat: an autoradiographic study. *Exp.Brain Res.* 54:499-512, 1984.

Kita, H. GABAergic circuits of the striatum. *Prog.Brain Res.* 99:51-72, 1993.

Kita, H., Kita, T., and Kitai, S.T. Passive electrical membrane properties of rat neostriatal neurons in an in vitro slice preparation. *Brain Res.* 300:129-139, 1984.

Kita, H., Kita, T., and Kitai, S.T. Active membrane properties of rat neostriatal neurons in an in vitro slice preparation. *Exp.Brain Res.* 60:54-62, 1985a.

Kita, H., Kita, T., and Kitai, S.T. Regenerative potentials in rat neostriatal neurons in an in vitro slice preparation. *Exp.Brain Res.* 60:63-70, 1985b.

Kombian, S.B. and Malenka, R.C. Simultaneous LTP of non-NMDA- and LTD of NMDA-receptor-mediated responses in the nucleus accumbens. *Nature* 368:242-246, 1994.

Krayniak, P. F., Meibach, R. C., and Siegel, A. A projection from the entorhinal cortex to the nucleus accumbens in the rat. *Brain Research* 209:427-431, 1981.

Lipska, B.K., Jaskiw, G.E., and Weinberger, D.R. Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal excitotoxic hippocampal damage: a potential animal model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 9:67-75,

1993.

McCormick, D.A. and Prince, D.A. Post-natal development of electrophysiological properties of rat cerebral cortical pyramidal neurones. *J.Physiol.* 393:743-762, 1987.

Milner, P.M. Brain-stimulation reward: a review. [review] [220 refs]. *Canadian Journal of Psychology* 45:1-36, 1991.

Misgeld, U., Dodt, H.U., and Frotscher, M. Late development of intrinsic excitation in the rat neostriatum: an in vitro study. *Brain Research* 392:59-67, 1986.

Mogenson, G.J., Jones, D.L., and Yim, C.Y. From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. [review] [151 refs]. *Prog.Neurobiol.* 14:69-97: 3, 1980.

Newman, R. and Winans, S.S. An experimental study of the ventral striatum of the golden hamster. i. neuronal connections of the nucleus accumbens. *J.Comp.Neurol.* 191:167-192, 1980.

Nisenbaum, E.S. and Wilson, C.J. Potassium currents responsible for inward and outward rectification in rat neostriatal spiny projection neurons. *J.Neurosci.* 15:4449-4463, 1995.

Nisenbaum, E.S., Xu, Z.C., and Wilson, C.J. Contribution of a slowly inactivating potassium current to the transition to firing of neostriatal spiny projection neurons. *J.Neurophysiol.* 71:1174-1189, 1994.

O'Donnell, P. and Grace, A.A. Physiological and morphological properties of accumbens core and shell neurons recorded in vitro. *Synapse* 13:135-160, 1993.

O'Donnell, P. and Grace, A.A. Synaptic interactions among excitatory afferents to nucleus accumbens neurons: hippocampal gating of prefrontal cortical input. *J.Neurosci.*

15:3622-3639, 1995.

Paxinos, G., Watson, C., *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Sydney: Academic Press, 1986, Plates 79-81, Figures 79-81.

Pennartz, C.M.A. and Kitai, S.T. Hippocampal inputs to identified neurons in an *in vitro* slice preparation of the rat nucleus accumbens: Evidence for feed-forward inhibition. *J.Neurosci.* 11:2838-2847, 1991.

Perkins, K.L. and Wong, R.K.S. Intracellular QX-314 blocks the hyperpolarization-activated inward current I-Q in hippocampal CA1 pyramidal cells. *J. Neurophysiol.* 73(2):911-915, 1995.

Phillipson, O.T. and Griffiths, A.C. The topographic order of inputs to nucleus accumbens in the rat. *Neuroscience* 16:275-296, 1985.

Pirchio, M., Lightowler, S., and Crunelli, V. Postnatal development of the T calcium current in cat thalamocortical cells. *Neuroscience* 38:39-45, 1990.

Ramoá, A.S. and McCormick, D.A. Developmental changes in electrophysiological properties of LGNd neurons during reorganization of retinogeniculate connections. *J.Neurosci.* 14:2089-2097, 1994.

Rowniak, M., Sztejn, S., Robak, A., Klawon, M., and Dusza, M. The types of neurons in the neostriatum of bison bonasus. Nissl and Golgi study. *Folia Morphologica.* 53(3):165-76, 1994.

Sokal, R.R. and Rohlf, F.J. *Biometry*. New York: W.H. Freeman Co., 1995.

Spigelman, I., Zhang, L., and Carlen, P.L. Patch-clamp study of postnatal development of CA1 neurons in rat hippocampal slices: Membrane excitability and K<sup>+</sup> currents.



*J. Neurophysiol.* 68:55-69, 1992.

Sugimori, M., Preston, R.J., and Kitai, S.T. Response properties and electrical constants of caudate nucleus neurons in the cat. *J. Neurophysiol.* 41:1662-1675, 1978.

Swerdlow, N.R. and Koob, G.F. Lesions of the dorsomedial nucleus of the thalamus, medial prefrontal cortex and pedunculopontine nucleus: effects on locomotor activity mediated by nucleus accumbens-ventral pallidal circuitry. *Brain Res.* 412:233-243, 1987.

Takagi, H., Somogyi, P., and Smith, A. D. Aspiny neurons and their local axons in the neostriatum of the rat: a correlated light and electron microscopic study of golgi-impregnated material. *Journal of Neurocytology* 13:239-265, 1984.

Uchimura, N., Cherubini, E., and North, R.A. Inward rectification in rat nucleus accumbens neurons. *J. Neurophysiol.* 62:1280-1286, 1989a.

Uchimura, N., Higashi, H., and Nishi, S. Membrane properties and synaptic responses of the guinea pig nucleus accumbens neurons in vitro. *J. Neurophysiol.* 61:769-779, 1989b.

Van der Loos, H. and Woolsey, T. A. Somatosensory cortex: structural alterations following early injury to sense organs. *Science* 179:395-8: 1973.

Warren, R.A. and Jones, E.G. Maturation of neuronal form and function in a mouse thalamo-cortical circuit. *J. Neurosci.* 17:277-295, 1997.

Weinberger, D.R. and Lipska, B.K. Cortical maldevelopment, anti-psychotic drugs, and schizophrenia: a search for common ground. *Schizophr. Bull.* 16:87-110, 1995.

Wiesel, T.N. and Hubel, D.H. Receptive fields of cells in striate cortex of very young, visually inexperienced kittens. *J. NeuroPhysiol.* 26:994-1002, 1963.

Wilson, C.J., Chang, H.T., and Kitai, S.T. Firing patterns and synaptic potentials of

- identified giant aspiny interneurons in the rat neostriatum. *J.Neurosci.* 10:508-519, 1990.
- Wilson, C.J. and Kawaguchi, Y. The origins of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons. *J.Neurosci.* 16:2397-2410, 1996.
- Wise, R. A. and Bozarth, M. A. A psychomotor stimulant theory of addiction. [review] [48 refs]. *Psychological Review* 94:469-92: 1987.
- Yang, C.R. and Mogenson, G.J. An electrophysiological study of the neural projections from the hippocampus to the ventral pallidum and the subpallidal areas by way of the nucleus accumbens. *Neuroscience* 15:1015-1024, 1985.
- Yelnik, J., François, C., Percheron, G., and Tandé, D. Morphological taxonomy of the neurons of the primate striatum. *J.Comp.Neurol.* 313:273-294, 1991.
- Zahm, D.S. and Heimer, L. Two transpallidal pathways originating in the rat nucleus accumbens. *J.Comp.Neurol.* 302:437-446, 1990.
- Zhang, L., Spigelman, I., and Carlen, P.L. Development of GABA-mediated, chloride-dependent inhibition in CA1 pyramidal neurones of immature rat hippocampal slices. *J.Physiol.(Lond.)* 444:25-49, 1991.
- Zhou, F.-M. and Hablitz, J.J. Postnatal development of membrane properties of layer I neurons in rat neocortex. *J.Neurosci.* 16(3):1131-1139, 1996.

### 3. DISCUSSION

Bien que le nAcc consiste en un *shell* et un *core*, nous n'avons pas utilisé de marqueurs pour distinguer les cellules enregistrées. Par conséquent, nous ne ferons pas la distinction entre les cellules du *shell* et du *core* dans ce qui suit. O'Donnell et Grace (1993b) ont affirmé que les seules différences électrophysiologiques significatives chez l'adulte entre ces deux régions sont les suivantes: la valeur de  $\tau_m$  est plus petite dans le *shell*, le *shell* ne possède pas de neurones exhibant des LTS et le *core* a plus de neurones exhibant une rampe de dépolarisation. A cause de notre manque de distinction entre le *shell* et le *core*, nous serons obligés de comparer notre valeur de  $\tau_m$  avec la moyenne des valeurs de  $\tau_m$  que ces auteurs ont obtenues dans le *shell* et le *core*. Nous présumerons que les neurones où des LTS furent enregistrés appartiennent au *core* tandis que ceux où des rampes de dépolarisation furent enregistrées sont plus probablement localisés dans le *core*.

Quoique l'on observe des potentiels d'action, des AHPs, des rampes et des décharges lentes dès les premiers jours postnatals, il faut admettre que les propriétés électrophysiologiques passives et actives de la membrane neuronale tels le RMP, le  $R_m$ , la rectification entrante,  $\tau_m$ , la durée du potentiel d'action et des AHPs changent de façon notable durant les premiers 50 jours postnatals. Le type de décharges lentes semble dépendre de l'âge mis à part les rampes de dépolarisation qui sont toujours présentes durant le développement. Après avoir examiné les différents types de neurones observés, nous décrivons les propriétés passives des neurones enregistrés et ensuite les patrons activés par des impulsions de courant hyperpolarisées et dépolarisées dans cet ordre.

### 3.1 Critères de classification des neurones MS

Étant donné que chez l'adulte, (1) on estime (Graveland et DiFiglia 1985) que les neurones de taille moyenne à épines dendritiques (MS) comptent pour plus de 95% des neurones du néostriatum, (2) que le nAcc est semblable au striatum dorsal et (3) qu'O'Donnell et Grace (1993b) ont observé 91 neurones MS sur un total de 94 dans le nAcc, on peut présumer que dans notre étude développementale la grande majorité des neurones soient de ce type (après tout, à la limite, ils pourraient tous se ressembler puisque plus les neurones sont jeunes, le moins ils sont différenciés). De toute façon, les 108 cellules que nous avons enregistrées possèdent indépendamment de leur âge, un des traits les plus typiques des neurones MS du nAcc adulte: une rampe de dépolarisation précédant le potentiel d'action (Kawaguchi 1997).

Cependant, six cellules sur ce total exhibent clairement des caractéristiques de certaines classes non MS. Par exemple, il y a une cellule possédant une rectification entrante tardive à la fin de l'impulsion de courant hyperpolarisant et une AHP de grande amplitude (P8, Fig. 1B). Elle pourrait appartenir à la classe des neurones LA découverts dans le striatum dorsal: dans certaines cellules de ce noyau, on observe une rectification entrante tardive à la fin de l'impulsion de courant hyperpolarisant si l'impulsion est suffisamment longue, suivit d'un rebond après cette impulsion qui n'est pas sensible à la présence de calcium dans le bain de perfusion. Ce rebond et cette rectification tardive seraient dus à un courant potassique  $I_H$  (Kawaguchi 1993). Ce courant empêchant le potentiel membranaire d'atteindre un niveau hyperpolarisé stable serait utile pour induire des décharges toniques; il est bloqué par le césium. Le potentiel membranaire des

neurones LA est dépolarisé par près de 20mV comparé aux neurones MS (Uchimura et al. 1990; Kawaguchi 1992; Jiang et North 1991). La résistance membranaire est aussi plus élevée que celle de neurones MS (Jiang et North 1991; Wilson et al. 1990). De plus, on note des AHPs de grande amplitude chez les neurones LA. Ceux-ci pourraient être la conséquence de l'activation d'un canal potassique dépendant du calcium (Kawaguchi 1992). La taille de ces AHPs expliquerait pourquoi l'adaptation à la fréquence de décharge est plus forte par comparaison aux neurones MS (Wilson et al. 1990; Kawaguchi 1992). Toutefois, cette adaptation n'est pas apparente dans Fig. 1B où pourtant la AHP est plus évidente. Ils nous faudrait ajouter des bloqueurs de canaux ioniques pour confirmer si la cellule dans Fig. 1B est bel et bien un neurone LA. Trois autres cellules âgées de P9 à P13 peuvent être classées en tenant compte de leurs caractéristiques physiologiques comme des neurones FS ("*fast spiking*") trouvés entre autres dans le striatum dorsal (Kawaguchi 1993). Dans ce noyau, certains de ces interneurons ont un potentiel d'action de très courte durée et un train de décharge souvent interrompu ayant une fréquence rapide avec peu d'accommodation. Ils sont immunoréactifs pour la parvalbumine, une protéine qui lie le calcium. L'intermittence des décharges est peut-être utilisée pour supprimer les dépolarisations dans les dendrites.

Indépendamment de leur type, toutes les cellules apparaissant à la Fig. 1 sont ou bien plus jeunes ou plus vieilles que celles que Kawaguchi (1993) a enregistrées. La comparaison du RMP et de la résistance membranaire dans Kawaguchi (1993) avec nos résultats est donc impossible étant donné que nous avons rapporté que le RMP et la résistance membranaire changeaient substantiellement avec l'âge. De plus, la température

de notre bain est située aux alentours de 20-22°C alors que la température dans Kawaguchi (1993) est située aux alentours de 26-27°C. On remarque aussi deux cellules (P7, P9) avec des caractéristiques ambiguës (Fig. 1D). Elles possèdent une rectification entrante tardive à la fin de l'impulsion de courant hyperpolarisant et un rebond dépolarisant après cette impulsion. L'adaptation à la fréquence de décharge est évidente malgré une AHP de taille très moyenne. Il est possible que les cellules dans Fig. 1B-D soient des neurones immatures d'autres catégories ou qu'elles représentent d'autres types de neurones qui ont été décrits dans le striatum dorsal (e.g. des neurones en forme de fuseau avec des épines dendritiques, des neurones avec peu d'épines dendritiques, d'autres, dépourvus d'épines dendritiques, qui sont ou bien de petite taille ou en forme d'araignée) (Braak et Braak 1982; Bishop et al. 1982; Yelnik et al. 1991; Danner et Pfister 1981a; Danner et Pfister 1981b; Danner et Pfister 1979; DiFiglia et al. 1976; DiFiglia et al. 1980a; DiFiglia et al. 1980b; Graveland et al. 1985; Rowniak et al. 1994; Takagi et al. 1984) aussi bien que dans le nAcc (Danner et Pfister 1982; Danner et Pfister 1981c).

### 3.2 Le Potentiel Membranaire au Repos

Nous avons trouvé que le RMP des jeunes neurones MS était relativement dépolarisé et qu'il devenait de plus en plus négatif avec l'âge pour se stabiliser vers la fin de la seconde semaine postnatale. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer pourquoi le RMP chez les jeunes est positif par rapport aux plus vieux dans d'autres régions du cerveau. Soit 1) la conductance des ions  $K^+$  ou  $Cl^-$  est moindre, (Spigelman et al. 1992), 2) le mécanisme d'extrusion par co-transport  $Na^+-K^+-Cl^-$  est moins actif (Zhang

et al. 1991)) ce qui se traduit par une concentration externe de  $\text{Cl}^-$  plus faible, 3) la pompe  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  n'est pas aussi efficace (Fukuda et Prince 1992) ou (4) la pompe  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  fonctionne moins bien si les neurones sont fragilisés par la procédure expérimentale. Dans les deux derniers cas, il se produit une diminution de la concentration interne de  $\text{K}^+$ . Il s'agit d'appliquer les équations Goldman-Hodgkin-Katz (Hammond et Tritsch 1990) pour réaliser que les changements de conductances ou de concentration d'ions dans les conditions (1)-(4) entraînent une dépolarisation du RMP. À P49, nous avons mesuré un RMP moyen de  $-81.0 \text{ mV}$ . D'autres études rapportent aussi un RMP relativement négatif chez le rat adulte: dans le nAcc, O'Donnell et Grace (1993b) ont rapporté une moyenne de  $-67.6 \text{ mV}$  (P60-P100) et dans le striatum dorsal, le RMP était inférieur à  $-50 \text{ mV}$  (Kita et al. 1985a). Un RMP relativement négatif expliquerait l'absence de décharges spontanées dans notre étude, tout comme dans le striatum du chat (Sugimori et al. 1978). De plus, nous n'avons pas tenu compte dans nos mesures du potentiel de jonction des liquides qui devrait se situer entre  $10$  et  $15 \text{ mV}$  (Huguenard et Prince 1992; Spigelman et al. 1992; Barry 1994) suggérant que le potentiel de repos des neurones MS est moins de  $-90 \text{ mV}$ .

### 3.3 La Résistance Membranaire au Repos ( $R_{in}$ )

Nous avons trouvé que la  $\tau_m$  et la  $R_{in}$  diminuaient de façon importante pendant les premières semaines postnatales pour se stabiliser après P30 autour de  $24 \text{ ms}$  et  $215 \text{ M}\Omega$  respectivement. O'Donnell et Grace (1993b) ont rapporté pour l'ensemble des neurones du *shell* et du *core*, une  $\tau_m$  moyenne de  $8.6 \text{ msec}$  et une  $R_{in}$  moyenne de  $55 \text{ M}\Omega$ . La différence s'explique par le fait qu'ils utilisent la technique d'enregistrement intra-

cellulaire classique où les pertes de courant par la membrane cellulaire perforée autour de la pipette sont bien plus considérables qu'avec l'enregistrement "*whole cell*" que nous avons utilisé.

On croit généralement que la diminution de résistance membranaire pendant le développement est attribuable principalement à deux facteurs. Premièrement, on observe généralement des changements morphologiques importants des neurones produisant une augmentation importante de la surface membranaire. Le nombre total de canaux ioniques serait donc plus élevé. Deuxièmement, (McCormick et Prince 1987; Zhou et Hablitz 1996 ; Spigelman et al. 1992), une diminution de  $R_m$  avec l'âge ne peut être entièrement attribuée à une augmentation de la surface membranaire mais aussi à une augmentation de la densité par unité de surface membranaire, de canaux ioniques actifs au potentiel de repos. Cette augmentation occasionnerait une baisse de la résistance spécifique,  $R_M$ . Si comme eux, on suppose que la capacitance spécifique de la membrane,  $C_M$ , demeure constante pendant le développement, on conclut d'après la relation  $\tau_m = R_M C_M$  que la densité des canaux ioniques augmente durant le développement puisque nous avons rapporté que  $\tau_m$  décroît avec l'âge. Malgré l'absence de données morphologiques, on pourrait expliquer un taux de diminution de  $R_{in}$  plus élevé que celui de  $\tau_m$  dans Fig. 2 (comme il fut déjà noté dans Zhou et Hablitz (1996)) par l'augmentation de la surface membranaire. Une plus grande résistance membranaire en bas âge implique une constante d'espace plus grande. Ainsi, un potentiel synaptique provoqué par un courant synaptique donné sera moins atténué en se propageant vers le soma; ceci permettrait donc une intégration spatiale-temporelle plus efficace des inputs synaptiques. Donc, cette plus



grande résistance observée chez le jeune rat aiderait à compenser pour une organisation synaptique encore mal développée.

### 3.4 La Rectification Entrante

Après les deux premières semaines postnatales, nous remarquons que plus de 98% des neurones MS ont une rectification entrante instantanée. Par contre, dans le nAcc adulte, O'Donnell et Grace (1993b) ont remarqué que seulement 43% des neurones ont une rectification entrante instantanée (et en utilisant des injections de Lucifer Yellow, 97% de ces neurones sont des MS). De même, dans le noyau caudé, Cepeda et al. (1991), aussi en injectant du Lucifer Yellow, ont rapporté qu'après P5, 99% des neurones sont des MS, mais que la rectification entrante bien que plus fréquente chez les animaux âgés de P16 à P40 est seulement observée dans 24% des neurones pour ce groupe d'âge. Ces pourcentages d'observation de rectification beaucoup plus faible que le nôtre sont probablement dus au fait que ces auteurs utilisent pour enregistrer, des électrodes intracellulaires à haute résistance dont la fine pointe perce la membrane cellulaire. Il en résulte des pertes de courant considérables. Conséquemment, il leur est plus difficile d'atteindre des potentiels suffisamment négatifs dans un intervalle où la rectification serait observée. Donc, le désaccord entre nos résultats et les leurs semble être dû à la méthodologie qui est utilisée, ce qui nous permet d'émettre l'hypothèse que la rectification entrante est une caractéristique de tous les neurones MS à l'âge adulte.

Maintenant, il semblerait que le courant  $I_{K(ir)}$  est responsable de la rectification entrante pour les potentiels très hyperpolarisés et on estime qu'il est responsable de 50% du  $R_{in}$  dans le nAcc (Uchimura et al. 1989). Il est donc un facteur déterminant du

RMP. Nisenbaum et Wilson (1995) ont suggéré que tous les neurones MS dans le striatum dorsal possèdent  $I_{K(ir)}$ . Une évolution du courant  $I_{K(ir)}$  expliquerait donc la baisse avec l'âge du RMP, de  $R_{in}$  et de la résistance membranaire pour les voltages hyperpolarisés.

Nous avons observé que le TEA et le Cs mais non le 4-AP, bloquent la rectification entrante évoquée par des impulsions de courant hyperpolarisant au début de la réponse (de façon semblable, Nisenbaum et Wilson (1995) ont rapporté que dans le striatum dorsal adulte, la rectification entrante est atténuée par le TEA et le Cs mais non par le 4-AP). Par contre, le TEA et le Cs n'ont eu aucun effet sur les jeunes neurones n'exhibant aucune rectification entrante, démontrant qu'une proportion importante de neurones développe une rectification tardivement parce qu'ils n'expriment pas  $I_{K(ir)}$  quand ils sont trop jeunes. Le plus étonnant est que dans tous les 10 cas où il y a une rectification entrante (des neurones âgés de plus que P10), l'application du césium transforme cette rectification entrante en une rectification sortante: c'est à dire que la résistance membranaire aux voltages hyperpolarisés est maintenant plus grande que le  $R_{in}$  (Par un facteur de 2 à 11). On peut expliquer l'apparition de la rectification sortante en présence du Cs par son action bloquante sur  $I_{K(ir)}$ , qui augmente quand le voltage appliqué est hyperpolarisé (une hypothèse déjà formulée par Hille (1984, pp. 296-297) pour les ions  $Cs^+$  extracellulaires agissant sur  $I_{K(ir)}$  dans un oeuf de l'étoile de mer ).

### 3.5 Potentiels d'action sodiques

L'observation de potentiels d'action de courte durée au jour 1 et 2 postnatal suggère que les neurones possèdent déjà des canaux sodiques et potassiques fonctionnels

à la naissance. Cette conclusion est appuyée par les résultats obtenus avec le QX-314, un bloqueur des canaux sodiques qu'on applique dans la pipette d'enregistrement; en effet, l'amplitude des potentiels d'action diminue sensiblement en sa présence à tout âge. De plus, le QX-314 semble aussi avoir un effet sur des canaux potassiques, puisque en sa présence, la phase de repolarisation des potentiels d'action augmente de manière significative. Il a été démontré que le QX-314 bloque certains canaux potassiques dont ceux modulés par les ligands opiacés (Alreja et Aghajanian 1994), sérotonergiques (Grunschlag et al. 1997) et GABA<sub>B</sub>-ergiques (Deisz et al. 1997), et le canal responsable de la rectification entrante (courant  $I_Q$  aussi dénommé  $I_H$  ou  $I_F$ ) pour les voltages hyperpolarisés dans l'hippocampe (Perkins et Wong 1995).

La durée moyenne des potentiels d'action des neurones MS diminue presque de moitié pendant la période développementale étudiée. Le temps de diminution de la durée du potentiel d'action est donc deux fois plus lente que celle de  $R_{in}$  et  $\tau_m$  montrant que les propriétés membranaires ne se développent pas tous au même rythme dans le nAcc tout comme dans le cortex cérébral, (McCormick et Prince 1987) et l'hippocampe (Spigelman et al. 1992). Par contre, l'amplitude et le seuil moyen du potentiel d'action des neurones MS demeurent constant pendant le développement postnatal et sont du même ordre de grandeur que celles rapportées par O'Donnell et Grace (1993b) chez l'adulte. La durée moyenne du potentiel d'action mesurée à partir du seuil par O'Donnell et Grace (1993b) était de 1.8 msec. Nous avons mesuré la durée à mi-chemin entre le seuil et le sommet du potentiel d'action. En utilisant une règle trapézoïdale on peut extrapoler la durée que nous avons mesurée et la comparer à leurs mesures. Avec cette méthode, nous obtenons

une valeur moyenne de 4.8 msec à P49, ce qui est près du triple de la valeur rapportée par O'Donnell et Grace (1993b). Les changements dus au développement ne seraient donc pas complets à P49. Il est fort probable qu'une partie importante de la différence observée provienne du fait que nous avons travaillé à une température située entre 20 et 22°C alors que O'Donnell et Grace (1993b) travaillaient à une température plus physiologique de 33 à 35°C. Une production conjointe, du canal sodique et du canal responsable du courant de la rectification retardée ( $I_{K(DR)}$ ), qui deviendrait plus accrue ou bien la production conjointe de formes plus matures de ces canaux, pourrait expliquer pourquoi le seuil et l'amplitude du potentiel d'action ne changent pas de façon significative avec l'âge alors que la durée du potentiel d'action et surtout sa phase de repolarisation, décroît avec l'âge; ceci parce que la durée du potentiel d'action dépend de canaux potassiques et non de canaux sodiques.

Etant donné que le Cs n'affecte pas le seuil, l'amplitude ou la durée du potentiel d'action de façon significative, il ne bloque pas le canal sodique rapide et les canaux potassiques qui sont impliqués dans la détermination de ces paramètres du potentiel d'action. De même, le seuil du potentiel d'action, n'est pas affecté par le 4-AP (Johnston et Wu 1995), un bloqueur de certains courants potassiques (voir le  $I_{K(As)}$  plus bas). Le 4-AP donc, ne bloque pas les courants impliqués dans la détermination du seuil du potentiel d'action, comme  $I_{K(DR)}$ , le courant potassique de fuite et le courant sodique rapide.

### 3.6 Potentiels d'action calciques ?

Pour renforcer l'hypothèse que les décharges lentes illustrées dans la Fig. 6A soient la conséquence de l'activation de canaux calciques à bas seuil qui sont réinactivés

par un potentiel imposé hyperpolarisé, il faudrait appliquer un bloqueur de canaux calciques comme le cobalt ou le cadmium. Quand l'impulsion de courant dépolarisant est assez longue pour provoquer un train de décharge, on observe une petite décharge lente au début de la rampe de la dépolarisation. Si l'amplitude du courant injecté est suffisante, on observe plutôt qu'une décharge lente, un potentiel d'action de plus courte durée et de plus faible amplitude que les potentiels d'action qui suivent la rampe de dépolarisation (Fig. 6B). On pourrait expliquer la plus courte durée du premier potentiel d'action par l'action d'un canal potassique dépendant du calcium qui raccourcirait la phase de repolarisation du potentiel d'action. L'AHP plus prononcée de ce premier potentiel d'action pourrait aussi être expliquée par l'action de ce canal potassique.

Une autre façon de constater l'existence de ces canaux calciques à bas seuil qui sont réinactivés par un potentiel imposé hyperpolarisé est d'appliquer une impulsion de courant hyperpolarisé à partir d'un potentiel imposé légèrement dépolarisé: dans cette condition, nous notons des rebonds dépolarisants lents après une impulsion de courant hyperpolarisé (Fig. 6C). Ils sont semblables aux décharges à bas seuil observées dans le thalamus, qui jouent un rôle dans la génération du rythme des décharges et qui augmentent l'excitabilité des cellules hyperpolarisées (Warren et Jones 1997; Ramoa et McCormick 1994). Encore une fois, il faudrait appliquer un bloqueur de canaux calciques comme le cobalt pour vérifier si les rebonds que nous avons observés sont dus à des décharges calciques.

Il y a plusieurs résultats dans la littérature qui rendent plausible l'hypothèse que des canaux calciques entrent aussi en jeu dans les phénomènes physiologiques observés dans

notre étude. Chez les animaux adultes, O'Donnell et Grace (1993b) ont remarqué que les potentiels d'action deviennent plus étroits après application de cobalt. Ils ont noté aussi des décharges lentes à haut seuil (HTS) contrairement à ce que nous avons observés; toutefois, nous n'avons pas appliqué le 4-AP et le QX314 en combinaison ce qui aurait été un prérequis pour observé ces décharges somato-dendritiques. Dans le nAcc du cochon d'Inde adulte, il y a une décharge calcique à bas seuil qui est générée par une impulsion dépolarisante en partant d'un potentiel imposé de moins que -60mV. De plus, si ce potentiel imposé n'est pas plus négatif que -70mV, une décharge calcique à haut seuil suit celle à bas seuil en autant qu'on utilise une impulsion dépolarisante plus longue que 20ms. Il est présumé que cette deuxième décharge provient des dendrites à cause du délai par rapport à la première. Ces décharges sont observées dans deux groupes de cellules qui diffèrent dans leur  $R_{in}$  (Uchimura et al. 1989). Elles sont aussi bloquées par application de cobalt. Chez le nAcc adulte, O'Donnell et Grace (1993b) ont aussi observé un rebond dépolarisant lent similaire à celui que nous avons observé après une impulsion de courant hyperpolarisé et cela dans 70% des neurones du *core*. Ce rebond est aboli par application de cobalt.

Nous avons remarqué qu'une rampe de dépolarisation semble être fonctionnelle à tout âge et ne dépend pas du potentiel imposé. Elle pourrait aussi avoir une composante calcique tout comme celle rapportée dans les neurones MS du nAcc adulte (O'Donnell et Grace 1993b) (cependant voir la prochaine section).

### 3.7 Train de décharge

Nous avons trouvé que même les très jeunes neurones MS pouvaient décharger

de manière répétitive. Que la fréquence de décharge soit mesurée sur le premier intervalle dans le train ou sur une moyenne de tous ces intervalles, elle augmente avec le courant injecté intracellulairement un phénomène rapporté par O'Donnell et Grace (1993b). Cependant, le taux de croissance de cette fréquence de décharge en fonction du courant est plus grand et de façon significative quand il est mesuré sur le premier intervalle (par une marge de .08 Hz/pA ( $p < 0.001$ ,  $n=33$ ,  $t=-4.08$ )). Nous avons quantifié le degré d'adaptation des neurone MS du nAcc par cette différence. Ce degré d'adaptation ne change pas avec l'âge. O'Donnell et Grace (1993b) ont rapporté aussi une adaptation marquée dans le nAcc adulte.

Avec l'âge, il faut de plus en plus de courant pour activer les neurones: comme le seuil d'activation ne change pas, la diminution du RMP et de la  $R_m$  nécessitent l'injection de plus de courant afin d'obtenir un seul potentiel d'action. De plus, la diminution de la  $R_m$  explique pourquoi plus de courant doit être injecté pour obtenir la même fréquence de décharge chez les neurones MS. (La pente (Hz/pA) dans Fig. 7C et 7D diminue avec l'âge). Le phénomène a été observé dans le thalamus (Warren et Jones, 1997; Ramoa et McCormick 1994) alors que l'inverse a été observé dans les neurones pyramidaux du néocortex, (McCormick et Prince 1987).

Les AHPs apparaissent très tôt (même à P4). Puisque la latence de ces AHPs décroît de façon significative avec l'âge (Fig. 5D), la production du canal qui en est responsable évolue. Ce canal pourrait être responsable du courant  $I_{K(Af)}$  décrit dans le striatum dorsal (Nisenbaum et al. 1994) et qui serait activé par une dépolarisation un peu au dessus du seuil de décharge et qui s'inactiverait rapidement.  $I_{K(Af)}$  serait uniquement

responsable des repolarisations comme les AHPs rapides. Une autre possibilité est qu'un courant  $I_{K(Ca)}$  entre en jeu. Lors de l'entrée de calcium, ces courants affecteraient les AHPs rapides. Cependant ces AHPs seraient trop rapides pour altérer l'intervalle entre décharges successives; elles ne peuvent donc pas expliquer nos résultats sur l'adaptation ou sur la fréquence de décharges en fonction du courant injecté. Dans ce qui suit, nous émettrons une hypothèse sur le contrôle des intervalles entre décharges.

En présence de 2mM de 4-AP, nous avons observé que la latence de la première décharge diminue, l'amplitude des AHPs est réduite et que la durée des potentiels d'action augmente considérablement (P15; Fig. 10C). D'après Nisenbaum et al. (1994), une concentration de 2 mM de 4-AP bloquerait  $I_{K(Af)}$  et  $I_{K(As)}$ .  $I_{K(As)}$  est un courant qui est activé rapidement juste en-dessous du seuil de décharge et s'inactive plus lentement que  $I_{K(Af)}$ . *In vivo*, il a été démontré que  $I_{K(As)}$  altère la latence de la première décharge et la fréquence de décharge.  $I_{K(As)}$  s'inactive lentement et une fois inactivé, sa réactivation dépend de l'amplitude et la durée de l'hyperpolarisation subséquente du potentiel membranaire. Quoique les rampes de dépolarisation précédant la première décharge, (un phénomène que nous avons observé dans toutes les cellules MS), peuvent avoir une composante calcique (O'Donnell et Grace 1993b), on peut supposer qu'il y a aussi une composant potassique,  $I_{K(As)}$ . Dans le striatum dorsal, ce type de rampe est médiée par des canaux sodiques persistants sensibles au TTX et par des canaux calciques (Kita et al. 1985a; Kita et al. 1985b) aussi bien que par des canaux sodiques persistants qui sont insensibles au TTX (Chao et Alzheimer 1995),

L'application du TEA (P37; Fig. 10B) a aussi produit des effets dramatiques sur



le potentiel d'action produisant un long plateau dépolarisant. Le TEA bloquerait  $I_{K(Af)}$  et un autre courant activé lentement à des potentiels très dépolarisés, et avec un temps d'inactivation très long (Nisenbaum et al. 1994) (d'où l'appellation  $I_{K(mi)}$ ). Ces effets du TEA sur la phase repolarisante plutôt que la phase dépolarisante du potentiel d'action ont déjà été rapportés chez le rat (Kita et al. 1985b) et le chat (Sugimori et al. 1978).

Étant donné son temps d'inactivation,  $I_{K(As)}$  altérerait seulement l'intervalle entre deux décharges consécutives alors que  $I_{K(mi)}$  altérerait plusieurs intervalles consécutifs comme son temps d'inactivation est très long. Conséquemment, ces deux conductances potassiques exercent une influence importante sur le degré d'adaptation. Le manque de corrélation du degré d'adaptation avec l'âge chez les neurone MS suggérerait que l'expression et la fonction des canaux responsables des courants  $I_{K(As)}$  et  $I_{K(mi)}$  évoluent (dans l'éventualité où elles changent) en parallèle pendant le développement postnatal.

### 3.8 Conclusions

Les deux états bistables du RMP que l'on rencontre chez l'adulte *in vivo* seraient en bonne partie contrôlés par des conductances potassiques dendritiques (Wilson et Kawaguchi 1996). Nisenbaum et Wilson (1995) ont proposé un rôle interactif dans cette bistabilité pour les courants activés par hyperpolarisation ( $I_{K(ir)}$ ) et ceux activés par dépolarisation ( $I_{K(As)}, I_{K(mi)}$ ): durant l'état hyperpolarisé,  $I_{K(ir)}$  serait activé et il diminuerait la constante d'espace entre les dendrites et le soma. Il aurait donc tendance à annuler les inputs synaptiques excitateurs quand ceux-ci ne sont pas synchronisés spatialement ou temporellement. Cependant, si ces inputs sont synchronisés,  $I_{K(ir)}$  se désactive. Par conséquent, la constante d'espace augmente et le soma peut être plus facilement

dépolarisé par la sommation de tous les inputs synaptiques. Cette dépolarisation est plafonnée de façon stable pendant plusieurs secondes par l'action des courants  $I_{K(As)}$  et  $I_{K(ni)}$ . Maintenant, chez l'adulte *in vivo*, le PFC exerce son contrôle sur le nAcc seulement quand les neurones du nAcc sont dépolarisés par l'activité excitatrice des fibres provenant de l'hippocampe. Dans notre étude *in vitro*, on ne rencontre pas cet état bistable du RMP car le nAcc est isolé des autres noyaux. Sans excitation provenant de l'extérieur, le RMP reste donc dans le plus hyperpolarisé des deux états. Cependant, chez les jeunes, ce RMP est déjà relativement positif: en moyenne, si on inclut le potentiel de jonction des liquides, il serait plus positif que -60mV chez le rat naissant. Le PFC peut donc stimuler à son gré le nAcc indépendamment des inputs de l'hippocampe. La tâche lui sera d'autant plus aisée que le  $R_m$  est plus élevé et que les inputs ne peuvent pas être annulés par  $I_{K(ir)}$  puisque ce dernier est inexistant durant la première semaine postnatale.

Etant donné qu'il est si facile d'exciter les jeunes cellules, on peut émettre l'hypothèse que l'entrée de calcium ne soit pas requise pour atteindre le seuil d'excitation. Pourtant, à la naissance, nous avons observé une plus longue durée des potentiels d'action et comme fut mentionnée par Zhou et Hablitz (1996), cette plus longue durée facilite généralement l'entrée de calcium pour des canaux calciques activés par la dépolarisation et s'inactivant lentement. De plus, nous observons des rampes de dépolarisation ainsi que des LTS en bas âge. Comme il fût souvent soulevé dans ce texte et pour corroborer nos conclusions, des antagonistes spécifiques pour certains canaux ioniques devraient être ajoutés afin de déterminer la nature exacte des décharges lentes et de façon plus précise comment elles évoluent avec l'âge. Néanmoins, si on attribue l'existence de ces décharges

lentes aux canaux calciques, pourquoi ces derniers sont-ils déjà opérants chez les jeunes? Peut-être par ce que les effets du calcium sur la plasticité sont plus critiques tôt durant le développement. Le calcium n'est donc pas requis pour exciter les neurones mais pour affecter la plasticité une fois que le neurone est excité par les afférences provenant du PFC. A cet égard, il est intéressant de noter l'hypothèse que la schizophrénie serait due à une plasticité qui n'a pu se manifester à temps durant le développement (Deutch 1992).

Une étude électrophysiologique sur la réponse des récepteurs synaptiques après application de ligands spécifiques ou de stimulation électrique, devrait être poursuivie pour compléter notre travail sur les conductances membranaires. Elle confirmerait entre autres si la réponse synaptique augmente en compensation pour la baisse du  $R_{in}$  et donc d'excitabilité quand les cellules grossissent avec l'âge.

Étant donné qu'il y a une interdépendance entre la transmission synaptique et les conductances membranaires et que ces dernières évoluent sensiblement durant les premières semaines postnatales, il est plausible de proposer qu'elles affectent indirectement les changements comportementaux et donc, les anomalies observées dans certaines pathologies majeures telle la schizophrénie, mettant en cause le circuit nerveux dont fait partie le nAcc .

## BIBLIOGRAPHIE

- Alheid G.F., Heimer L. New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: the striatopallidal, amygdaloid, and corticopetal components of substantia innominata. [Review] [334 refs] *Neuroscience*. 27(1):1-39, 1988.
- Alreja, M., Aghajanian, G.K. QX-314 blocks the potassium but not the sodium-dependent component of the opiate response in locus-coeruleus neurons *Brain Res*, 639(2):320-324, 1994.
- Andersen, S.L., Gazzara, R.A. The development of D<sub>2</sub> autoreceptor-mediated modulation of K<sup>+</sup>-evoked dopamine release in the neostriatum. *Dev.Brain Res*. 78:123-130, 1994.
- Barry, P.H. JPCalc, a software package for calculating liquid junction potential corrections in patch-clamp, intracellular, epithelial and bilayer measurements and for correcting junction potential measurements. *J.Neurosci.Meth*. 51:107-116, 1994.
- Bear, M.F., Kleinschmidt, A., Gu, Q., Singer, W. Disruption of experience-dependent synaptic modifications in striate cortex by infusion of an NMDA receptor antagonist. *J.Neurosci*. 10:909-925, 1990.
- Berendse, H.W., Groenewegen, H.J., Lohman, A.H.M., Compartmental distribution of ventral striatal neurons projecting to the ventral mesencephalon in the rat. *J. of Neurosci*. 12:2079-2103, 1992.
- Bishop, G.A., Chang, H.T., Kitai, S.T. Morphological and physiological properties of neostriatal neurons: an intracellular horseradish peroxidase study in the rat. *Neuroscience*

7:179-191, 1982.

Björklund et Lindvall, dans Björklund et Hökfelt (eds) *Handbook of Chemical Neuroanatomy*, vol. 2, Amsterdam: Elsevier Science Publ., 1984, pp. 55-122.

Braak, H., Braak, E. Neuronal types in the striatum of man. *Cell Issue Res.* 227:319-342, 1982.

Brog, J.S., Deutch, A.Y., Zahm, D.S., The patterns of afferent innervation in the core and shell in the "accumbens" part of the ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported Fluoro-Gold. *J. Comp.Neurol.*, 338: 255-278, 1993.

Brown, V.J., Bowman, E.M. Discriminative cues indicating reward magnitude continue to determine reaction time of rats following lesions of the nucleus accumbens. *Eur J. Neurosci.* 7(12):2479-2485, 1995

Cador, M., Taylor, J.R., Robbins, T.W. Potentiation of the effects of reward-related stimuli by dopaminergic-dependent mechanisms in the nucleus accumbens. *Psychopharmacology* 104:377-385, 1991.

Catalano, S.M., Chang, C.K, Shatz, C.J. Activity-dependent regulation of NMDAR1 immunoreactivity in the developing visual cortex. *J. of Neurosci.* 17(21):8376-90, 1997

Cepeda, C., Walsh, J.P., Buchwald, N.A., Levine, M.S. Neurophysiological maturation of cat caudate neurons: evidence from in vitro studies. *Synapse* 7:278-290, 1991.

Chang, J.Y., Sawyer, S.F., Lee, R.S., Woodward, D.J. Electrophysiological and pharmacological evidence for the role of the nucleus accumbens in cocaine self-administration in freely moving rats. *J. of Neurosci.* 14(3 Pt 1):1224-44, 1994

Chao, T.I., Alzheimer, C. Do neurons from rat neostriatum express both a TTX-sensitive

and a TTX-insensitive slow Na<sup>+</sup> current? *J.Neurophysiol.* 74:934-941, 1995.

Comery, T.A., Shah, R., Greenough, W.T. Differential rearing alters spine density on medium-sized spiny neurons in the rat corpus striatum: evidence for association of morphological plasticity with early response gene expression. *Neurobiology of Learning & Memory.* 63(3):217-9, 1995.

Cools, A.R., Miwa, Y., Koshikawa, N. Role of dopamine D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptors in the nucleus accumbens in jaw movements of rats: a critical role of the shell. *Eur.J.Pharmacol.* 286:41-47, 1995.

Danner, H., Pfister, C. [the structure of the neostriatum in the rat]. [german]. *Journal fur Hirnforschung* 20:285-301, 1979.

Danner, H., Pfister, C. [spiny neurons in the rat caudate-putamen complex]. [german]. *Journal fur Hirnforschung* 22:75-84, 1981a.

Danner, H., Pfister, C. [4 spine-less neuron types in the neostriatum of the rat]. [german]. *Journal fur Hirnforschung* 22:465-477, 1981b.

Danner, H., Pfister, C. [investigation on the cytoarchitecture of the nucleus accumbens septi of rat (author's transl)]. [german]. *Anatomischer Anzeiger* 150:264-280, 1981c.

Danner, H., Pfister, C. [further studies on the cytoarchitecture of the nucleus accumbens septi of the rat]. [german]. *Journal fur Hirnforschung* 23:87-99, 1982.

DeFrance, J.F., Sikes, R.W., Chronister, R.B. Dopamine action in the nucleus accumbens. *J.Neurophysiol.* 54(6):1568-77, 1985.

DeFrance, J.F., Marchand, J.F., Sikes, R.W., Chronister, R.B., Hubbard, J.I. Characterization of fimbria input to nucleus accumbens. *J.Neurophysiol.* 54:1553-1567,

1985.

Deisz, R.A., Billard, J.M., Zieglgansberger, W. Presynaptic and postsynaptic GABA(B) receptors of neocortical neurons of the rat in vitro: Differences in pharmacology and ionic mechanisms. *Synapse* 25:62-72, 1997.

Deutch, A.Y. The regulation of subcortical dopamine systems by the prefrontal cortex: interactions of central dopamine systems and the pathogenesis of schizophrenia. *J.Neural Transm.* 36:61-89, 1992.

Deutch, A.Y. Prefrontal cortical dopamine systems and the elaboration of functional corticostriatal circuits: implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *J.Neural Transm.* 91:197-221, 1993.

DiFiglia, M., Pasik, P., Pasik, T. A Golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkeys. *Brain Res.* 114:245-256, 1976.

DiFiglia, M., Pasik, P., Pasik, T. Early postnatal development of the monkey neostriatum: a Golgi and ultrastructural study. *J.Comp.Neurol.* 190:303-331, 1980a.

DiFiglia, M., Pasik, P., Pasik, T. Ultrastructure of Golgi-impregnated and gold-toned spiny and aspiny neurons in the monkey neostriatum. *J.Neurocytol.* 9:471-492, 1980b.

Engel, J.E., Wu, C.-F. Genetic Dissection of Functional Contributions of Specific Potassium Channel Subunits in Habituation of an Escape Circuit in *Drosophila*. *J. of Neurosci.* 18(6):2254-2267

Feasey-Truger, K.J., ten Bruggencate, G. The NMDA receptor antagonist CPP suppresses long-term potentiation in the rat hippocampal - accumbens pathway *in vivo*. *Eur.J.Neurosci.* 6:1247-1254, 1994.

Flores, G., Barbeau, D., Quirion, R., Srivastava, L.K. Decreased binding of dopamine D3 receptors in limbic subregions after neonatal bilateral lesion of rat hippocampus. *J.Neurosci.* 16:2020-2026, 1996.

Fukuda, A., Prince, D.A. Postnatal development of electrogenic sodium pump activity in rat hippocampal pyramidal neurons. *Dev.Brain Res.* 65:101-114, 1992.

Gaffan, D. Recognition impaired and association intact in the memory of monkeys after transection of the fornix. *J.Comp.Physiol.Psychol.* 86:1100-1109, 1974.

Grace, A.A. The depolarization block hypothesis of neuroleptic action: implications for the etiology and treatment of schizophrenia. *J.Neural Transm.* 36:91-131, 1992.

Graveland, G.A., DiFiglia, M., The frequency and distribution of medium-sized neurons with intended nuclei in the primate and rodent neostriatum. *Brain Res*, 327: 307-311, 1985.

Graveland, G.A., Williams, R.S., DiFiglia, M. A Golgi study of the human neostriatum: neurons and afferent fibers. *J.Comp.Neurol.* 234:317-333, 1985.

Greif, G.J., Lin, Y.-J., Liu, J.C., Freedman, J.E. Dopamine-modulated potassium channels on rat striatal neurons: specific activation and cellular expression. *J.Neurosci.* 15:4533-4544, 1995.

Groenewegen, H.J., Berendse, H.W. Connections of the subthalamic nucleus with ventral striatopallidal parts of the basal ganglia in the rat. *J.Comp.Neurol.* 294(4):607-22, 1990.

Groenewegen et al. 1994 in Percheron et al. (Eds) *The Basal Ganglia IV*, New York: Plenum, pp 81-93.

Groenewegen, H.J., Russchen, F.T. Organization of the efferent projections of the



nucleus accumbens to pallidal, hypothalamic, and mesencephalic structures: a tracing and immunohistochemical study in the cat. *J.Comp.Neurol.* 223:347-367, 1984.

Groenewegen, H. J., Vermeulen-Van der Zee, E., te Kortschot, A., Witter, M. P. Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. A study using anterograde transport of *phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *Neuroscience* 23:103-120, 1987.

Groenewegen, H.J., Wright, J.W., Beijer, A., V.,J. The nucleus accumbens: gateway for limbic structures to reach the motor system? *Prog. Brain Res.*, Vol 107, pp. 485-511, 1996.

Grunschlag, C.R., Haas, H.L., Stevens, D.R. 5-HT inhibits lateral entorhinal cortical neurons of the rat in vitro by activation of potassium channel-coupled 5-HT<sub>1A</sub> receptors *Brain Res*, 770(1-2):10-17, 1997.

Hammond, C. , Tritsch, D., *Neurobiologie cellulaire*. Paris, Doin Éditeurs, 1990

Hara, M., Sasa, M., Takaori S. Ventral tegmental area-mediated inhibition of neurons of the nucleus accumbens receiving input from the parafascicular nucleus of the thalamus is mediated by dopamine D1 receptors. *Neuropharmacology*. 28(11):1203-9, 1989 Nov.

Heimer, L., Zahm, D.S., Churchill, L., Kalivas, P.W., Wohltmann, C. Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. *Neuroscience* 41:89-125, 1991.

Herrmann, K., Shatz, C.J. Blockade of action potential activity alters initial arborization of thalamic axons within cortical layer 4 *Proc. Nat. Acad. Sci.* 92(24):11244-8, 1995 Nov 21.

Hille, B. *Ion channels of excitable membranes*. Sunderland, MA: Sinauer Associates Inc.,

1984.

Huguenard, J.R., Prince, D.A. A novel t-type current underlies prolonged  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent burst firing in GABAergic neurons of rat thalamic reticular nucleus. *J.Neurosci.* 12:3804-3817, 1992.

Jayaraman, A. Organization of thalamic projections in the nucleus accumbens and the caudate nucleus in cats and its relation with hippocampal and other subcortical afferents. *Journal of Comparative Neurology* 231:396-420, 1985.

Jiang, Z.-G., North, R.A. Membrane properties and synaptic responses of rat striatal neurones *in vitro*. *J.Physiol.(Lond.)* 443:533-553, 1991.

Johnston, D., Wu, S.M.S. *Foundations of cellular neurophysiology*. Cambridge: MIT Press, 1995.

Jongen-Relo, A. L., Groenewegen, H. J., Voorn, P. Compartmental organization of the rat nucleus accumbens: mu-opioid and dopamine  $\text{D}_1$  and  $\text{D}_2$  receptor distribution. *Eur. J. Neuros.* 4:2299, 1991.

Joseph, M. H., Hodges, H. Lever pressing for food reward and changes in dopamine turnover and uric acid in rat caudate and nucleus accumbens studied chronically by *in vivo* voltammetry. *J. of Neurosci. Meth.* 34:143-149, 1990.

Kaneko, T., Shigemoto, R., Nakanishi, S., Mizuno, N. Substance P receptor-immunoreactive neurons in the rat neostriatum are segregated into somatostatinergic and cholinergic aspiny neurons. *Brain Res.* 631:297-303, 1993.

Karreman, M., Westerink, B.H.C., Moghaddam, B. Excitatory amino acid receptors in the ventral tegmental area regulate dopamine release in the ventral striatum.

*J.Neurochem.* 67:601-607, 1996.

Katz, L.C., Shatz, C.J. Synaptic activity and the construction of cortical circuits. *Science* 274:1133-1138, 1996.

Kawaguchi, Y. Neostriatal cell subtypes and their functional roles. [Review] [77 refs] *Neurosci.Res.* 27(1):1-8, 1997.

Kawaguchi, Y. Large aspiny cells in the matrix of the rat neostriatum in vitro: physiological identification, relation to the compartments and excitatory postsynaptic currents. *J.Neurophysiol.* 67:1669-1682, 1992.

Kawaguchi, Y. Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *J.Neurosci.* 13:4908-4923, 1993.

Kawaguchi, Y., Wilson, C.J., Emson, P.C. Intracellular recording of identified neostriatal patch and matrix spiny cells in a slice preparation preserving cortical inputs. *J.Neurophysiol.* 62:1052-1068, 1989.

Kemp, I.R., Kaada, B.R. The relation of hippocampal theta activity to arousal, attentive behaviour and somato-motor movements in unrestrained cats. *Brain Res.* 95:323-342, 1975.

Kita, H., Kita, T., Kitai, S.T. Passive electrical membrane properties of rat neostriatal neurons in an in vitro slice preparation. *Brain Res.* 300:129-139, 1984.

Kita, H., Kita, T., Kitai, S.T. Active membrane properties of rat neostriatal neurons in an in vitro slice preparation. *Exp.Brain Res.* 60:54-62, 1985a.

Kita, H., Kita, T., Kitai, S.T. Regenerative potentials in rat neostriatal neurons in an in vitro slice preparation. *Exp.Brain Res.* 60:63-70, 1985b.

Kombian, S.B., Malenka, R.C. Simultaneous LTP of non-NMDA- and LTD of NMDA-receptor-mediated responses in the nucleus accumbens. *Nature* 368:242-246, 1994.

Koob, G.F., Bloom, F.E. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. [Review] [97 refs] *Science*. 242(4879):715-23, 1988.

Bloom, F.E. The science of substance abuse [editorial]. *Science*. 278(5335):15, 1997

Koob, G.F. Le Moal M. Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science*. 278(5335):52-8, 1997.

Koshikawa, N., Kitamura, M., Kobayashi, M., Cools, A.R. Contralateral turning elicited by unilateral stimulation of dopamine D<sub>2</sub> and D<sub>1</sub> receptors in the nucleus accumbens of rats is due to stimulation of these receptors in the shell, but not the core, of this nucleus. *Psychopharmacology* 126:185-190, 1996.

Lin, M.Y., Walters, D.E. The d2 autoreceptor agonists snd 919 and pd 128483 decrease stereotypy in developing rats. *Life Sciences* 54:PL17-22, 1994.

Maldonado-Irizarry, C.S., Kelley, A.E. Excitotoxic lesions of the core and shell subregions of the nucleus accumbens differentially disrupt body weight regulation and motor activity in rat. *Brain Res.Bull.* 38:551-559, 1995a.

Maldonado-Irizarry, C. S., Kelley, A. E. Excitatory amino acid receptors within nucleus accumbens subregions differentially mediate spatial learning in the rat. *Behavioural Pharmacology* 6:527-539, 1995b.

Maldonado-Irizarry, C.S., Swanson, C.J., Kelley, A.E. Glutamate receptors in the nucleus accumbens shell control feeding behavior via the lateral hypothalamus. *J.Neurosci.* 15:6779-6788, 1995.

McCormick, D.A., Prince, D.A. Post-natal development of electrophysiological properties of rat cerebral cortical pyramidal neurones. *J.Physiol.(Lond.)* 393:743-762, 1987.

McDonald, A.J. Organization of amygdaloid projections to the prefrontal cortex and associated striatum in the rat. *Neuroscience* 44:1-14, 1991.

Meredith, G.E., Blank, B., Groenewegen, H.J. The distribution and compartmental organization of the cholinergic neurons in nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience* 31:327-345, 1989.

Meredith, G.E., Ypma, P., Zahm, D.S. Effects of dopamine depletion on the morphology of medium spiny neurons in the shell and core of the rat nucleus accumbens. *J.Neurosci.* 15:3808-3820, 1995.

Mogenson, G.J., Jones, D.L., Yim, C.Y. From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. [review] [151 refs]. *Prog.Neurobiol.* 14:69-97: 3, 1980.

Nestler, E.J. Molecular mechanisms of drug addiction [published erratum appears in *J Neurosci* 1992 Aug;12(8):following table of contents]. [Review] [81 refs] *J. of Neurosci.* 12(7):2439-50, 1992 Jul

Nicola, S.M., Kombian, S.B., Malenka, R.C. Psychostimulants depress excitatory synaptic transmission in the nucleus accumbens via presynaptic D1-like dopamine receptors. *J.Neurosci.* 16(5):1591-1604, 1996.

Nisenbaum, E.S., Wilson, C.J. Potassium currents responsible for inward and outward rectification in rat neostriatal spiny projection neurons. *J. Neurosci.* 15:4449-4463, 1995.

Nisenbaum, E.S., Xu, Z.C., Wilson, C.J. Contribution of a slowly inactivating potassium

current to the transition to firing of neostriatal spiny projection neurons. *J.Neurophysiol.* 71:1174-1189, 1994.

O'Donnell, P., Grace, A.A. Dopaminergic modulation of dye coupling between neurons in the core and shell regions of the nucleus accumbens. *J.Neurosci.* 13:3456-3471, 1993a.

O'Donnell, P., Grace, A.A. Physiological and morphological properties of accumbens core and shell neurons recorded in vitro. *Synapse* 13:135-160, 1993b.

O'Donnell, P., Grace, A.A. Tonic D<sub>2</sub>-mediated attenuation of cortical excitation in nucleus accumbens neurons recorded in vitro. *Brain Res.* 634:105-112, 1994.

O'Donnell, P., Grace, A.A. Synaptic interactions among excitatory afferents to nucleus accumbens neurons: hippocampal gating of prefrontal cortical input. *J.Neurosci.* 15:3622-3639, 1995.

Ohno, M., Watanabe, S. Persistent increase in dopamine release following activation of metabotropic glutamate receptors in the rat nucleus accumbens. *Neurosci.Lett.* 200:113-116, 1995.

Pennartz, C.M.A., Dolleman-Van der Weel, M. J., Lopes da Silva, F. H. Differential membrane properties and dopamine effects in the shell and core of the rat nucleus accumbens studied in vitro. *Neurosci. Lett.* 136:109-112, 1992a.

Pennartz, C.M.A., Dolleman-Van der Weel, M.J., Kitai, S.T., Da Silva, F.H.L. Presynaptic dopamine D1 receptors attenuate excitatory and inhibitory limbic inputs to the shell region of the rat nucleus accumbens studied in vitro. *J.Neurophysiol.* 67:1325-1334, 1992b.

Pennartz, C.M.A., Kitai, S.T. Hippocampal inputs to identified neurons in an *in vitro* slice preparation of the rat nucleus accumbens: Evidence for feed-forward inhibition. *J.Neurosci.* 11:2838-2847, 1991.

Penny, G.R., Afsharpour, S., Kitai, S. T. The glutamate decarboxylase-, leucine enkephalin-, methionine enkephalin- and substance p-immunoreactive neurons in the neostriatum of the rat and cat: evidence for partial population overlap. *Neuroscience* 17: 1011-1045, 1986.

Perkins, K.L., Wong, R.K.S. Intracellular QX-314 blocks the hyperpolarization-activated inward current I-Q in hippocampal CA1 pyramidal cells *J. Neurophysiol.* 73(2):911-915, 1995.

Pickel, V.M., Towle, A.C. Joh, T.H., Chan, J. Gamma-aminobutyric acid in the medial rat nucleus accumbens: ultrastructural localization in neurons receiving monosynaptic input from catecholaminergic afferents *J.Comp.Neurol.* 272(1):1-14, 1988.

Pickel, V.M., Chan, J. Spiny neurons lacking choline acetyltransferase immunoreactivity are major targets of cholinergic and catecholaminergic terminals in rat striatum. *J.Neurosci.Res.* 25:263-280, 1990.

Pierce, R.C., Bell, K., Duffy, P., Kalivas, P.W. Repeated cocaine augments excitatory amino acid transmission in the nucleus accumbens only in rats having developed behavioral sensitization. *J.Neurosci.* 16(4):1550-1560, 1996.

Rabacchi, S.A., Bailly, Y., Delhaye-Bouchaud, N., Herrup, K., Mariani, J. Role of the target in synapse elimination: studies in cerebellum of developing lurcher mutants and adult chimeric mice. *J. of Neurosci.* 12(12):4712-20, 1992.

Ramoia, A.S., McCormick, D.A. Developmental changes in electrophysiological properties of LGNd neurons during reorganization of retinogeniculate connections. *J.Neurosci.* 14:2089-2097, 1994.

Rao, P.A., Molinoff, P.B., Joyce, J.N. Ontogeny of dopamine D1 and D2 receptor subtypes in rat basal ganglia: a quantitative autoradiographic study. *Dev.Brain Res.* 60(2):161-77, 1991.

Rowniak, M., Sztejn, S., Robak, A., Klawon, M., Dusza, M. The types of neurons in the neostriatum of bison bonasus. Nissl and Golgi study. *Folia Morphologica.* 53(3):165-76, 1994.

Sesack, S. R., Deutch, A. Y., Roth, R. H., Bunney, B. S. Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with *phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *J. Comp. Neurol.* 290:213-242, 1989.

Sesack, S.R., Pickel, V.M. In the rat medial nucleus accumbens, hippocampal and catecholaminergic terminals converge on spiny neurons and are in apposition to each other. *Brain Res.* 527:266-279, 1990.

Sesack, S.R., Pickel, V.M. Prefrontal cortical efferents in the rat synapse on unlabeled neuronal targets of catecholamine terminals in the nucleus accumbens septi and on dopamine neurons in the ventral tegmental area. *J.Comp.Neurol.* 320:145-160, 1992.

Shetreat, M.E., Lin, L., Wong, A.C., Rayport, S. Visualization of D1 dopamine receptors on living nucleus accumbens neurons and their colocalization with D2 receptors. *J.Neurochem.* 66:1475-1482, 1996.



- Shi, W.-X., Rayport, S. GABA synapses formed *in vitro* by local axon collaterals of nucleus accumbens neurons. *J.Neurosci.* 14:4548-4560, 1994.
- Schultz, W., Apicella, P., Scarnati, E., Ljungberg, T. Neuronal activity in monkey ventral striatum related to the expectation of reward. *J. of Neurosci.* 12(12):4595-610, 1992
- Spigelman, I., Zhang, L., Carlen, P.L. Patch-clamp study of postnatal development of CA1 neurons in rat hippocampal slices: Membrane excitability and K<sup>+</sup> currents. *J.Neurophysiol.* 68:55-69, 1992.
- Stern, C.E., Passingham, R.E. The nucleus accumbens in monkeys (macaca fascicularis).3.reversal learning *Exp Brain Research* 106(2):239-247, 1995.
- Swerdlow, N.R., Koob, G.F. Lesions of the dorsomedial nucleus of the thalamus, medial prefrontal cortex and pedunculopontine nucleus: effects on locomotor activity mediated by nucleus accumbens-ventral pallidal circuitry. *Brain Res.* 412:233-243, 1987.
- Taber, M.T., Fibiger, H.C. Electrical stimulation of the prefrontal cortex increases dopamine release in the nucleus accumbens of the rat: modulation by metabotropic glutamate receptors. *J.Neurosci.* 15:3896-3904, 1995.
- Takagi, H., Somogyi, P., Smith, A.D. Spiny neurons and their local axons in the neostriatum of the rat: a correlated light and electron microscopic study of golgi-impregnated material. *Journal of Neurocytology* 13:239-265, 1984.
- Uchimura, N., Cherubini, E., North, R.A. Inward rectification in rat nucleus accumbens neurons. *J.Neurophysiol.* 62:1280-1286, 1989.
- Uchimura, N., Cherubini, E., North, R.A. Cation current activated by hyperpolarization

- in a subset of rat nucleus accumbens neurons. *J.Neurophysiol.* 64:1847-1850, 1990.
- Uchimura, N., Higashi, H., Nishi, S. Membrane properties and synaptic responses of the guinea pig nucleus accumbens neurons in vitro. *J.Neurophysiol.* 61:769-779, 1989.
- Walaas, I., Fonnum, F. The effects of surgical and chemical lesions on neurotransmitter candidates in the nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience.* 4(2):209-16, 1979.
- Walters, D.E., Howard, S.G. The D1 agonist SKF 38393 increases dopamine release in the developing rat striatum. *Eur.J.Pharmacol.* 184(2-3):257-64, 1990.
- Wan, F.-J., Geyer, M.A., Swerdlow, N.R. Presynaptic dopamine-glutamate interactions in the nucleus accumbens regulate sensorimotor gating. *Psychopharmacology* 120:433-441, 1995.
- Wan, F.-J., Swerdlow, N.R. Sensorimotor gating in rats is regulated by different dopamine-glutamate interactions in the nucleus accumbens core and shell subregions. *Brain Res.* 722:168-176, 1996.
- Warren, R.A., Jones, E.G. Maturation of neuronal form and function in a mouse thalamo-cortical circuit. *J.Neurosci.* 17:277-295, 1997.
- Weinberger, D.R. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch.Gen.Psychiatry* 44:660-669, 1987.
- Weinberger, D.R., Lipska, B.K. Cortical maldevelopment, anti-psychotic drugs, and schizophrenia: a search for common ground. *Schizophr.Bull.* 16:87-110, 1995.
- White, F. J. D-1 dopamine receptor stimulation enables the inhibition of nucleus accumbens neurons by a d-2 receptor agonist. *Eur.J.Pharmacol.* 135:101-105, 1987.
- Wilson, C.J., Chang, H.T., Kitai, S.T. Firing patterns and synaptic potentials of identified

giant aspiny interneurons in the rat neostriatum. *J.Neurosci.* 10:508-519, 1990.

Wilson, C.J., Kawaguchi, Y. The origins of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons. *J.Neurosci.* 16:2397-2410, 1996.

Wu, M., Brudzynski, S.M. Mesolimbic dopamine terminals and locomotor activity induced from the subiculum. *NeuroReport* 6:1601-1604, 1995.

Yang, C.R., Mogenson, G.J. Electrophysiological responses of neurones in the nucleus accumbens to hippocampal stimulation and the attenuation of the excitatory responses by the mesolimbic dopaminergic system. *Brain Res.* 324:69-84, 1984.

Yelnik, J., François, C., Percheron, G., Tandé, D. Morphological taxonomy of the neurons of the primate striatum. *J.Comp.Neurol.* 313:273-294, 1991.

Yim, C.Y., Mogenson, G.J. Neuromodulatory action of dopamine in the nucleus accumbens: an *in vivo* intracellular study. *Neuroscience* 26:403-415, 1988.

Zaborszky, L., Alheid, G.F., Beinfeld, M.C., Eiden, I.E., Heimer, L., Palkovits, M. Cholecystokinin innervation of the ventral striatum: a morphological and radioimmunological study. *Neuroscience* 14:427-453, 1985.

Zahm, D.S., Heimer, L. Ventral striatopallidal parts of the basal ganglia in the rat: I. Neurochemical compartmentation as reflected by the distributions of neurotensin and substance P immunoreactivity. *J.Comp.Neurol.* 272:516-535, 1988.

Zahm, D.S., Heimer, L. Two transpallidal pathways originating in the rat nucleus accumbens. *J.Comp.Neurol.* 302:437-446, 1990.

Zahm, D.S., Heimer, L. Specificity in the efferent projections of the nucleus accumbens in the rat: comparison of the rostral pole projection patterns with those of the core and

shell. *J.Comp.Neurol.* 327:220-232, 1993.

Zhang, L., Spigelman, I., Carlen, P.L. Development of GABA-mediated, chloride-dependent inhibition in CA1 pyramidal neurones of immature rat hippocampal slices. *J.Physiol.(Lond.)* 444:25-49, 1991.

Zhou, F.-M., Hablitz, J.J. Postnatal development of membrane properties of layer I neurons in rat neocortex. *J.Neurosci.* 16(3):1131-1139, 1996.

## REMERCIEMENTS

Je suis très reconnaissant à mon directeur de recherche, le Dr. Richard A. Warren, pour avoir accédé à son laboratoire et aussi pour toutes ses suggestions.