

Université de Montréal

**DISTRIBUTION DES RÉCEPTEURS DOPAMINERGIQUES DANS LE CERVEAU
ANTÉRIEUR DE LA SOURIS MUTANTE *DYSTONIA MUSCULORUM***

par

Brice Ongali

Département de physiologie

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M. Sc.) en sciences neurologiques.

Mai 1998

© Brice Ongali, 1998



W

4

U58

1998

v.087

Faculté des Études Supérieures

Ce mémoire intitulé:

**DISTRIBUTION DES RÉCEPTEURS DOPAMINERGIQUES DANS LE CERVEAU
ANTÉRIEURE DE LA SOURIS MUTANTE *DYSTONIA MUSCULORUM***

Présenté par:

Brice Ongali

a été évalué par le jury composé des membres suivants:

Rapporteur:

Alan Smith, PhD

Directeur de recherche:

Tomás A. Reader, MD, PhD.

Membre du jury:

Karen M. Dewar, PhD

Mémoire accepté le:

05/08/1998

SOMMAIRE

La souris mutante *Dystonia musculorum* (dt¹/dt¹) souffre d'une atteinte neurodégénérative des voies spinocérébelleuses et d'une atrophie des voies sensorielles périphériques. Les lésions médullaires observées impliquent des dégénérescences axonales confinées dans les fibres trigéminales sensorielles, les fibres spinocérébelleuses et les voies de la colonne dorsale. Ces atteintes se caractérisent par des troubles du contrôle de la motricité conduisant à une ataxie semblable à l'ataxie cérébelleuse humaine de type Friedreich.

Nous avons étudié la densité et la distribution des récepteurs dopaminergiques D₁ et D₂ en rapport avec les contenus tissulaires en dopamine et principaux métabolites dopaminergiques, notamment la 3-méthoxytyramine (3-MT), l'acide homovanillique (HVA) et l'acide 3,4 dihydroxyphénylacétique (DOPAC) dans le cerveau antérieur de la souris mutante *Dystonia musculorum*. L'utilisation de la technique de radioautographie quantitative et de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) à cette fin a permis d'observer des augmentations relativement discrètes de la quantité de dopamine endogène dans l'hypothalamus (+47%) et du nombre de récepteurs D₁ et D₂. Les récepteurs D₁ augmentaient homogènement (16%) (P < 0.05) dans les subdivisions dorsales du striatum rostral et dans le thalamus (27%) (P < 0.01); alors que les D₂ augmentaient dans les subdivisions médio-ventrale (+32%) (P < 0.01) et latéro-dorsale (+17%) (P < 0.05) du striatum. Ces changements supporteraient une perturbation d'origine biochimique, probablement liée à un déficit central de la neurotransmission de la dopamine sans atteintes évidentes des circuits dopaminergiques; ce qui suggère la conservation de la fonction dopaminergique chez la souris mutante *Dystonia musculorum*.

Ainsi, les résultats de cette étude permettraient d'adopter des stratégies thérapeutiques plus rationnelles applicables aux ataxies dégénératives humaines, en plus de confirmer la souris mutante *Dystonia musculorum* comme modèle animal inapproprié pour la forme de dystonie humaine, mais plutôt utile pour l'ataxie de type Friedreich.

Mots clés: [³H]SCH23390, [³H]raclopride, DA, DOPAC, HVA et 3-MT .

TABLE DE MATIÈRES

SOMMAIRE	iii
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	v
LISTE DES TABLEAUX	viii
LISTE DES FIGURES	ix
REMERCIEMENTS	xiv
CHAPITRE PREMIER: INTRODUCTION	1
La maladie de Friedreich	2
La souris mutante <i>Dystonia musculorum</i>	9
Le système dopaminergique	19
But de l'étude	24
CHAPITRE DEUX: MATÉRIEL ET MÉTHODES	26
LE MATÉRIEL EXPÉRIMENTAL	27
Les animaux	27
Les produits chimiques	27
Les appareils d'analyse	28
LES PROCÉDURES EXPÉRIMENTALES	29
L'obtention des échantillons	29
Le dosage de la dopamine endogène et ses métabolites	36
Radiolisation et radioautographie	37
L'évaluation statistique.	42
CHAPITRE TROIS: RÉSULTATS	43
Dosage des monoamines	44
Distribution et densité des récepteurs dopaminergiques	51
CHAPITRE QUATRE: DISCUSSION	72
Considérations méthodologiques	73
Les changements obtenus	75
Conclusion	82
BIBLIOGRAPHIE	83

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

aca	anterior commissure, anterior	commissure antérieure
Acb	nu accumbens	noyau accumbens
acp	anterior commissure, posterior	commissure antérieure, partie postérieure
AD		Adrénaline
AF	Friedrich's ataxia Ataxie de Friedreich	
AI	agranular insular cortex	cortex insulaire agranulaire
AIP	agranular insular cortex, posterior	cortex insulaire agranulaire, partie postérieure
Aint	anterior interposed cerebellar nu	noyau interposé antérieur du cervelet
Amyg	amygdala	amygdale
Au	auditory cortex	cortex auditif
BS	brainstem	tronc cérébral
CA1-CA4	Ammon's horn	cornu Ammonis
CB	cerebellum	cervelet
GP	caudal globus pallidus	Globus pallidus, portion caudale
Cg1	cingulate cortex, area 1	Cortex cingulaire, aire 1
Cg2	cingulate cortex, area 2	Cortex cingulaire, aire 2
Cin	cingulate cortex	Cortex cingulaire.
Cl	claustrum	Claustrum
cNS	caudal neostriatum	Néostriatum.caudal
cNSd	caudal neostriatum, dorsal	Néostriatum.caudal, portion dorsale
cNSv	caudal neostriatum, ventral	Néostriatum.caudal, portion ventrale
COMT		Cathécol-o-méthyltransférase
cp	cerebral peduncle, basal	pédoncule cérébral, portion basale
Crus 1	crus 1 ansiform cerebellar lobule	Lobule ansiforme du cervelet
CS	superior colliculus	Colliculus supérieur
DA	Dopamin	Dopamine
DAG		Diacylglycérol
Den	dorsal endopiriform nucleus	Noyau endopiriforme dorsal
DG	dentate gyrus	Gyrus dentelé
dHip	dorsal hippocampus	Hippocampe dorsale
DOPAC		Acide 3,4-dihydroxyphénylacétique
Ent	entorhinal cortex	Cortex entorhinal
Fl	flocculus	Flocculus
fmi	forceps minor, corpus callosum	Forceps minor, corps calleux
fm/mg p.	femtomol per miligramm of protein	Femtomoles par milligramme de protéine
Fro	frontal cortex	Cortex frontal
GI	granular insular cortex	Cortex insulaire granulaire
GP	globus pallidus	Globus pallidus
5-HIAA		Acide 5-hydroxyindole-3-acétique
5-HT		5-Hydroxytyramine ou sérotonine
5-HTOL		5-Hydroxytryptophol
5-HTP		5-Hydroxy-l-tryptophane
Hip	hippocampus	Hippocampe
HPLC		Chromatographie liquide de haute pression (performance)

HVA	Homovanillic acid	Acide homovanillique	
Hyp	hypothalamus		Hypothalamus
ic	internal capsule		Capsule interne
IPC	interpeduncular nu		Noyau interpédonculaire
Lat	lateral (dentate) cerebellar nu		Noyau dentelé du cervelet
IHyp	lateral hypothalamic area		Aire hypothalamique latérale
lo	lateral olfactory tract		Tractus olfactif latéral
LPO			Aire préoptique latérale
LS	lateral septal nu		Noyau septal latéral
M1	primary motor cortex		Cortex moteur primaire
M2	secondary motor cortex		Cortex moteur secondaire
MAO			Monoamine oxydase
Med	median (fastigial) cerebellar nu		Noyau fastigial du cervelet
MHPG			3-Méthoxy-4-hydroxyphenylglycol
mHyp	medial hypothalamic area		Aire hypothalamique médiane
MPA			Aire préoptique médiale
MS	medial septal nu		Noyau septal médian
3-MT			3-methoxytyramine
ng/mg p.	nanogramm per miligramm of protein		Nanogramme par milligramme de protéine
NS	neostriatum		Néostriatum
OB	olfactory bulb		Bulbe olfactif
opt	optic tract		Tractus optique
PAG	periaqueductal gray matter		Substance grise périaqueductale
Par	parietal cortex		Cortex pariétal
Pir	piriform cortex		Cortex piriforme
PFL	paraflocculus		Lobe paraflocculaire
PRh	perirhinal cortex		Cortex perirhinal
py	pyramidal tract		Faisceau pyramidal
rf	rhinal fissure		Cissure rhinale
rNS	rostral neostriatum		Néostriatum rostral
rNSld	rostral neostriatum, latero-dorsal		Néostriatum rostral, portion latéro-dorsale
rNSlv	rostral neostriatum, latero-ventral		Néostriatum rostral, portion latéro-ventrale
rNSmd	rostral neostriatum, medio-dorsal		Néostriatum rostral, portion medio-dorsale
rNSmv	rostral neostriatum, medio-ventral		Néostriatum rostral, portion medio-ventrale
RSA			Cortex retrosplénial agranulaire
RSG			Cortex rostrosplénial granulaire
Rt			Noyau thalamique réticulaire
Rub			Noyau rouge
S	subiculum		Subiculum
S1	primary somatosensory cortex		Cortex somatosensoriel primaire
S1J	somatosensory cortex 1, jaw		Cortex somatosensoriel primaire, mâchoire
S1BF	somatosensory cortex 1, barrel field		Cortex somatosensoriel primaire, vibrisses
S1FL	somatosensory cortex 1, forelimb		Cortex somatosensoriel primaire, patte
S1HL	somatosensory cortex 1, hindlimb		Cortex somatosensoriel primaire, jambe
S1Tr	somatosensory cortex 1, trunk		Cortex somatosensoriel primaire, tronc
S2	secondary somatosensory cortex		Cortex somatosensoriel secondaire
Sim	simple lobule, cerebellum		Lobule simple, cervelet

SN	substantia nigra	Substance noire
SNC		Système nerveux central
SNP		Système nerveux périphérique
Spt	septum	Septum
TeA	temporal cortex, association area	Cortex temporal, aire associative
Tem	temporal cortex	Cortex temporal
TH		Tyrosine hydroxylase
Thal	thalamus	Thalamus
Tu	olfactory tubercle	Tubercule olfactif
VDB	vertical diagonal band	noyau vertical de la bande diagonale
vhc	ventral hippocampal commissure	Commisure hippocampique ventrale
vHip	ventral hippocampus	Hippocampe ventral
Vis	visual cortex	Cortex visuel
VTA	ventral tegmental area	Aire tegmentaire ventrale
ZI	zona incerta	Zona incerta

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1: Répertoire des produits chimiques utilisés pour la radioliation	39
TABLEAU 2: Distribution de la dopamine et ses métabolites dans les aires corticales et striatales des cerveaux de souris normales (+/+) et mutantes <i>Dystonia musculorum</i> (dt ^J /dt ^J).	49
TABLEAU 3: Distribution de la dopamine et ses métabolites dans d'autres régions des cerveaux de souris normales (+/+) et mutantes <i>Dystonia musculorum</i> (dt ^J /dt ^J).	50
TABLEAU 4: Densité des récepteurs D ₁ marqués avec du [³ H]SCH23390 dans le cortex, les noyaux gris centraux et le tubercule olfactif des cerveaux de souris normales (+/+) et mutantes <i>Dystonia musculorum</i> (dt ^J /dt ^J).	59
TABLEAU 5: Densités des récepteurs dopaminergiques D ₁ dans le cerveau médian, le tronc cérébral et le cervelet des cerveaux de souris normales (+/+) et mutantes <i>Dystonia musculorum</i> (dt ^J /dt ^J).	60
TABLEAU 6: Densité des récepteurs D ₂ dans les régions des noyaux gris centraux et du système olfactif dans les cerveaux des cerveaux de souris normales (+/+) et mutantes <i>Dystonia musculorum</i> (dt ^J /dt ^J).	69
TABLEAU 7: Proportions relatives des récepteurs D ₁ et D ₂ dans le néostriatum, le noyau accumbens et le tubercule olfactif des cerveaux de souris normales (+/+) et mutantes <i>Dystonia musculorum</i> (dt ^J /dt ^J).	70

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1: Dissection des cerveaux	35
FIGURE 2: Profil chromatographique de la DA et ses metabbolites dans le striatum.	46
FIGURE 3: Distribution du [³ H]SCH23390 dans une section du cerveau de la souris normale (IA= 5.20mm).	52
FIGURE 4: Distribution du [³ H]SCH23390 dans une section du cerveau de la souris normale (IA = 3.94 mm).	53
FIGURE 5: Distribution du [³ H]SCH23390 dans une section du cerveau de la souris normale (IA = 2.10 mm)	55
FIGURE 6: Distribution du [³ H]SCH23390 dans une section du cerveau de la souris normale (IA = 0.88 mm.)	56
FIGURE 7: Distribution du [³ H]SCH23390 dans toutes les sections du cerveau de la souris normale.	58
FIGURE 8: Distribution de [³ H]raclopride dans une tranche du cerveau de la souris normale. (IA = 5.14 mm)	63
FIGURE 9: Distribution de [³ H]raclopride dans une tranche du cerveau de la souris normale (IA = 3.94 mm)	64
FIGURE 10: Distribution de [³ H]raclopride dans une tranche du cerveau de la souris normale (IA = 3.34 mm)	65
FIGURE 11: Distribution de [³ H]raclopride dans une tranche du cerveau de la souris normale (IA = 2.10 mm)	66
FIGURE 12: Distribution de [³ H]raclopride dans toutes les tranches du cerveau de la souris normale	68
FIGURE 13: Représentation graphique du tableau 7.	71

REMERCIEMENTS

Je remercie principalement le Docteur Tomás A. Reader pour sa disponibilité, son assistance et surtout pour la confiance qu'il m'a témoignée en m'offrant cette opportunité de travailler dans son laboratoire, aux cotés de sa merveilleuse équipe à qui je tire également ma révérence.

En parlant de cette équipe, je m'en voudrais de ne pas parler de mes collègues Ariel Ase et Angelina Habimana respectivement pour leur majeure contribution au dosage des monoamines par l'HPLC et critiques constructives; la technicienne Caroline Hébert pour les coupes histologiques et son assistance technique; le Docteur Fatima Hamdiss pour son assistance et ses sages conseils.

J'adresse ma profonde gratitude à la république Gabonaise pour son soutien financier qui a grandement contribué à ma formation académique au centre de recherche Paul Desmarais, à l'Université de Montréal.

Mes travaux en laboratoire ont été subventionnés par le *Medical Research Council of Canada* (MT-12966); Le *Groupe de Recherche sur le Système Nerveux Central*, les *Fonds pour la Formation des Chercheurs et l'Aide à la Recherche* à l'endroit de qui je formule un gros merci.

Enfin, j'adresse ma sincère reconnaissance à mes parents Mpiriguikala Madeleine, Malévoulou Justine, Ndoguefouba Alexandrine, Ovouguyissa Fabienne et Nguétsara Laurent, ainsi qu'à ma femme Akoume Ndong Marie Yvonne pour la vie, les soutiens financier et moral importants pour la réussite.

**À ma fille Ongali tiye et à la mémoire de ma grand-mère Amwanini Nabibiga Ambrosine qui
demeure vivante dans mes pensées...**

CHAPITRE PREMIER
INTRODUCTION

I La Maladie de Friedreich

I.1/ Historique

Le Professeur Nicolaus Friedreich (1825 - 1882) a été le premier à observer des syndromes cliniques particuliers que développaient certains de ses patients. Ces derniers exhibaient des postures ataxiques¹ et de la dysarthrie² qui ne s'exprimaient qu'autour de la puberté.

Les signes décrits par le Professeur Friedreich incluait l'ataxie des quatre membres avec exagération des mouvements volontaires, le nystagmus³, la perturbation de la parole, la perte des réflexes tendineux et des déformations squelettiques importantes, comme la cypho-scoliose⁴ et le pied bot⁵. Aussi, suite à des observations postmortems réalisées sur des patients autopsiés, le Professeur Friedreich (1863 a, b) a désigné cette maladie sous l'appellation de «atrophie dégénérative des cordons postérieurs de la moelle».

Plusieurs études ont cependant suivi cette époque et de nombreuses découvertes ont été réalisées; notamment au niveau des structures affectées par la maladie observée par le professeur Friedreich et au niveau des maladies cliniquement apparentées mais complètement différentes même si elles conduisent aussi à une forme d'ataxie. Ainsi, l'affection découverte par le Professeur Friedreich a été rebaptisée: Maladie ou ataxie de Friedreich (AF).

¹le terme ataxie étant originalement utilisé pour désigner les perturbations des fonctions motrices conduisant à la perte de coordination des mouvements volontaires.

²difficulté d'articuler les mots, due à une paralysie ou à une ataxie des centres nerveux.

³succession de mouvements oscillatoires, courts et saccadés des yeux.

⁴déformation complexe de la colonne vertébrale associant une cyphose et une scoliose; la cyphose étant une courbure à convexité postérieure de la colonne vertébrale dorsale et la scoliose, une déformation latérale de la colonne vertébrale.

⁵affection congénitale due à la rétraction de certains muscles et à des manifestations osseuses.

I.2/ Considérations physiologiques et cliniques

Les signes cliniques de la maladie ou ataxie de Friedreich (AF) apparaissent fréquemment autour de l'âge de la puberté, avant 25 ans (Manyam, 1991; Bureau et al., 1976) et sont le plus souvent marqués par une perturbation progressive de la marche et de la station debout, de la dysarthrie et de la perte des réflexes tendineux des membres inférieurs. Le patient présente des troubles de l'équilibre et de la coordination ainsi que des symptômes sensitifs. Il ressent alors une fatigue musculaire anormale accompagnée d'une ataxie des membres. L'évolution de la maladie est marquée en général, par une aggravation lente et inexorable, régulière et progressive des symptômes neurologiques en plus des atteintes cardiaques, accompagnées de scoliose apparentée à ce qui est observé chez les patients souffrant d'atrophie musculaire. L'encadré 1 ci-dessous résume les critères de diagnostic clinique d'un patient atteint de l'AF*.

Symptômes et signes primaires: 100% constants et obligatoires pour le diagnostique.

1. La maladie est toujours héritée à partir d'un mode autosomique récessif;
2. L'âge du début des manifestations de la maladie se situe toujours avant la fin de la puberté;
3. L'ataxie des membres inférieurs puis des quatre membres, progresse lentement sans rémission et est toujours accompagnée d'une faiblesse musculaire;
4. La présence précoce de dysarthrie dans les manifestations de la maladie;
5. L'absence ou la croissance marquée de vibrations sensorielles des membres inférieurs;
6. L'absence de réflexes tendineux dans les membres inférieurs;
7. La faiblesse musculaire.

Symptômes et signes secondaires (progressifs): présents dans plus de 90% des cas, éventuellement 100%, mais non obligatoires pour le diagnostique.

1. Le développement progressif, à l'intérieur de deux ans après le début de la maladie, des varus équins et de la cypho-scoliose;
2. La présence de cardiomyopathie progressive, généralement de type hypotrophique;
3. L'absence de conduction nerveuse sensorielle (potentiels évoqués) dans les membres inférieurs avec un ralentissement considérable dans les membres supérieurs;
4. Les conductions motrices sont essentiellement normales (ou dans les limites de la normale), avec un EMG (électromyogramme) normal.

Signes et symptômes accessoires: moins de 50% de cas.

Atrophie optique, nystagmus, paresthésie, surdité pariétale, tremblement essentiel, vertige, paralysie, douleur, baisse du quotient intellectuel.

* Adapté à partir de Manyam et al., 1991, & Geoffroy et al., 1976.

I.3/ Observations génétiques

L'AF est une affection souvent consanguine, transmise génétiquement suivant un mode récessif autosomique. Le gène impliqué a été localisé sur le chromosome 9, plus précisément en position 9q13-q21 à l'intérieur de 0.7 centimorgan des loci D9S5 et D9S15 (Duclos et al. 1993; Brown et al., 1994). Suite à des études plus approfondies, Duclos et ses collaborateurs (1993) ont proposé le gène X11 de 80 Kb situé dans une direction opposée au locus D9S5, comme étant le responsable de l'AF. Ils ont également démontré que l'expression de X11, était répartie dans le cerveau, le cervelet, et la moelle épinière alors que certaines lignées cellulaires ou tissus neuronaux semblaient exempts. De plus, ils ont stipulé l'existence de l'expression de X11 chez des souris adultes avec une similarité de 61% dont la séquence la plus conservée se retrouvait en 3' après le codon stop (79%).

En 1996, Campuzano et ses collaborateurs mettaient plutôt en évidence le gène X25 qu'ils identifiaient formellement comme étant l'élément déterminant, impliqué dans l'AF. Le gène X25 est caractérisé par une répétition de triplet GAA dans la région critique 9q13 du chromosome 9 (Montermini et al., 1997). Ce gène encode pour une protéine de 210 acides aminés que les auteurs ont appelé frataxine. Le gène de la frataxine a des homologues nucléaires chez *Caenorhabditis elegans* et *Saccharomyces cerevisiae*. Chez *Saccharomyces cerevisiae*, le gène homologue (YFH1) de la frataxine a déjà été cloné et identifié comme encodant pour une protéine mitochondriale impliquée dans l'homéostasie du fer et de la fonction respiratoire (Wilson et Roof, 1997; Babcock et al. 1997). La frataxine a été aussi identifiée comme une protéine mitochondriale chez l'homme et la souris. De plus, Campuzano et ses collaborateurs (1996) ont remarqué une réduction de la frataxine dans les cellules des patients atteints par l'AF et ont conclu que c'est la réduction de la frataxine dans la moelle épinière, le coeur et dans le pancréas qui serait la cause primaire des dégénérescences neuronales, des cardiomyopathies et de l'augmentation des risques diabétiques.

Dans le même ordre d'idée, l'analyse de l'expression du RNA de la frataxine dans les tissus humains, ainsi que des études par hybridation *in situ* chez la souris suggèrent une corrélation directe entre les patrons de dégénérescence observés dans l'AF et les sites de transcription de la frataxine retrouvés plus élevés dans le coeur, la moelle épinière et les cornes dorsales de la racine dorsale (Campuzano et al., 1996). De plus, vu que les cellules cardiaques et neuronales sont des tissus postmitotiques qui dépendent essentiellement de l'énergie provenant du métabolisme oxydatif, et considérant le tableau clinicopathologique très similaire et voir même indistinct à celui de l'AF que dresse un déficit en vitamine E, certains auteurs pensent que la frataxine jouerait un rôle de stimulateur qui permettrait le transport du fer hors de la mitochondrie et, les antioxydants de la vitamine E, localisés dans la mitochondrie coopéreraient pour protéger les cellules de l'oxydation mitochondriale (Babcock et al., 1997). Ainsi, le déficit en frataxine serait la cause de la mort cellulaire. Mais ces auteurs reconnaissent cependant que cette interprétation ne suffit pas pour expliquer les spécificités pathologiques cellulaires impliquées dans l'AF; car plusieurs types neuronaux de la moelle épinière et du tronc cérébral par exemple, demeurent intacts pendant la phase de dégénérescence cellulaire.

D'autre part, tout en confirmant l'existence de la frataxine, Carvajal et al. (1996) découvrent que cette dernière est plutôt encodée dans une plus grande unité transcriptionnelle que celle qui a été annoncée dans les précédentes études de Campuzano et al. (1996). Pour Carvajal et al. (1996), le gène de la frataxine ferait plutôt partie de son voisin, STM7 qui serait transcrit dans la même direction, et encoderait pour une enzyme: la phosphatidylinositol - 4 phosphate 5 - kinase; enzyme impliquée dans la fabrication de la phosphatidylinositol - 4,5 diphosphate ou PIP₂, un phospholipide que l'on trouve essentiellement à la face interne de la membrane plasmique où il est hydrolysé par la phospholipase C en forme de deux seconds messagers: l'inositol triphosphate (IP₃), qui active un canal calcique du réticulum endoplasmique pour libérer du Ca²⁺ dans le cytosol, et le diacyl glycérol (DAG), qui active la protéine kinase C (Huang, 1989).

Finalement, la frataxine encore qualifiée en langue anglaise par “the villain”, et dont les travaux ne sont que croissants sur le plan génétique, reste la piste la plus explorée pour comprendre les affections induites par l'AF. Et définitivement, les chercheurs insistent sur la région 3' du gène de la frataxine pour toutes les mutations identifiées ou soupçonnées d'être responsables ou impliquées dans l'AF jusqu'à date (Cossée et al., 1996).

1.4/ Aspects neuropathologiques

L'AF est de façon générale, un désordre dégénératif qui touche à la fois le système nerveux central (SNC) et le système nerveux périphérique (SNP). En microscopie, l'atrophie remarquable de la moelle épinière et des racines postérieures contraste avec l'atteinte toujours discrète du tronc cérébral et du cervelet. Les lésions dégénératives observées jusqu'à nos jours, intéressent dans un premier plan les afférences médullaires du cervelet c'est-à-dire les faisceaux spinocérébelleux et les cordons postérieurs, ainsi que les faisceaux pyramidaux, mais à un moindre degré.

1.4.1/ Le cervelet

Les lésions cérébelleuses sont très discrètes et variables. Greenfield (1954) a souligné un appauvrissement irrégulier du cortex vermien suite à la perte des cellules de Purkinje dans la lamina supérieure, en plus de la dégénérescence des noyaux dentelés et des pédoncules supérieurs et médians. Les axones de ces cellules de Purkinje adopteraient une forme fusiforme gonflée, tumescence, démontrant un contour inégal (Lamarche et al., 1984; Oppenheimer, 1979).

1.4.2/ Le tronc cérébral

Le professeur Friedreich (1863 a, b) décrivait déjà des changements dégénératifs dans les cordons postérieurs de la moelle épinière, qui s'étendaient jusqu'à la medulla oblongata, avec une perte nucléaire des cellules hypoglosses.

1.4.3/ La moelle épinière

La moelle épinière est toujours de dimension réduite. L'atrophie des colonnes de Clarke accompagnée d'une destruction cellulaire a été rapportée par Kinnier-Wilson (1954). Toutefois, la dégénérescence axonale et les phénomènes de démyélinisation sont particulièrement nets au niveau des faisceaux spinocérébelleux dorsaux. Les faisceaux spinocérébelleux ventraux sont moins touchés en dehors des colonnes de Clarke (Kinnier-Wilson, 1954). Les structures les plus affectées sont les cordons postérieurs, les racines postérieures et les faisceaux pyramidaux, surtout les croisés.

1.4.4 / Le système nerveux périphérique

Les fibres myélinisées de gros calibres sont les structures essentiellement atteintes dans l'AF

1.5/ Implications neurochimiques

Les principales découvertes concernent globalement les déficits métaboliques des enzymes; entre autre, la réduction des enzymes impliqués dans le métabolisme des carbohydrates (Robinson, 1966) ainsi que la déficience d'activité de la lipoamide déshydrogénase (Rodriguez-Budelli 1978).

Dans les conditions normales, l'activité malique mitochondriale est normalement plus élevée à l'intérieur du système nerveux et du coeur, et est très importante pour l'apport nutritionnel de ces organes anaérobiques. Chez les patients atteints de l'AF, l'activité mitochondriale de l'enzyme malique est considérablement réduite (Stumpf et al., 1982, 1983).

En 1966, Robinson mentionne l'augmentation de l'activité de la 5-nucléotidase et de la phosphatase acide dans les colonnes blanches postérieures, dans la moelle épinière, et dans la matière blanche cérébelleuse mais pas dans les cellules de la colonne de Clarke, ni dans les cellules de Purkinje où cette activité est réduite ou absente.

Une défaillance génétique impliquant l'interférence de l'activité de trois complexes enzymatiques (pyruvate déshydrogénase et les analogues γ -cétoglutarate déshydrogénase) a été aussi rapportée par Blass et al., (1976); Butterworth et al. 1977.

D'autre part, plusieurs changements au niveau des acides aminés ont été mentionnés. C'est le cas de la taurine (acide 2 aminoéthanesulfonique) qui, chez le malade, se retrouve 2 à 3 fois plus élevée dans les matières grise et blanche, alors que cette augmentation est plutôt modérée dans les hémisphères cérébelleux, dans le vermis antérieur et dans les noyaux dentelés (Butterworth et Giguère, 1984; Butterworth et al., 1982; Barbeau et al., 1981, 1982), accompagnée d'une activité métabolique et d'un recyclage (turnover) élevé dans la corne dorsale de la moelle épinière (Barbeau 1979; 1980; 1982). Les niveaux de glutamate, de glycine, de glutamine sont aussi élevés chez le malade alors que les niveaux d'acide aspartique, glutamique retrouvés chez des malades autopsiés sont bas dans la moelle épinière (Robinson 1968).

D'autres auteurs comme Huxtable et al. (1979); Barbeau et al., (1976) ont également rapporté la réduction des niveaux de glutamate, d'aspartate et de GABA dans les hémisphères cérébelleux et dans le vermis, ainsi que des valeurs de bilirubine conjuguée anormalement élevées, en plus d'une augmentation des excréctions urinaires de taurine et de β -alanine. Ces excréctions étaient accompagnées d'une augmentation de la clairance⁶ rénale en taurine, en acide aspartique et β -alanine, possiblement due à un défaut de recapture tubulaire ou à une sécrétion tubulaire anormale (Lemieux et al., 1976).

Enfin, les autres perturbations métaboliques rapportées concernent les lipides: bas niveau de cholestérol dans le sérum (Butterworth et al. 1976); réduction des HDL totaux déjà de composition anormale (Huang et al., 1978); déficience dans l'incorporation de l'acide linoléique dans la membrane des structures, surtout mitochondriales (Barbeau, 1982); déficience du profil d'acides gras et des fractions du cholesterylester (Davignon et al., 1979).

⁶terme pharmacologique utilisé pour définir le rapport entre la concentration sanguine d'une substance et son élimination urinaire.

II La Souris Mutante *Dystonia Musculorum*

II.1/ *La mutation Dystonia musculorum*

La souris mutante neurologique *Dystonia musculorum* est le produit d'une mutation spontanée survenue dans une colonie de souris du Institute of Animal Genetics à Edinburgh (Royaume Unis), en 1963 (Duchen et al., 1963, 1964).

Portée par le gène (*dt*), la mutation *Dystonia musculorum* est localisée dans la région proximale du chromosome 1 (Brown et al., 1994) et se transmet d'une génération à l'autre suivant un mode autosomique récessif simple. Chaque parent est un hétérozygote du gène *dt* et apparaît cliniquement normal. Il existe cependant deux autres souris mutantes, alléliques à la mutante *Dystonia musculorum*; les souris mutantes 'athétoïde' (Davisson, 1990) et BALB/cBy.

Tout comme leur allèle, la mutante athétoïde (*dt'*) a été découverte spontanément (Sidman et al., 1965) au Jackson laboratory, Bar Harbor (USA), alors que la mutante BALB/cBy (*dt^{ALB}*) provient spontanément d'un stock maintenu en colonie par le Docteur Lorraine Flaherty dans son centre en Albany, New York (USA). Les trois mutantes portent cliniquement la même maladie, à la seule exception que la souche Jacksonienne vivrait moins longtemps que celles de Edinburgh et d'Albany.

II.2/ *Les apparences cliniques de la mutante Dystonia musculorum*

Les premiers signes anormaux sont inconstants et intermittents. Ils sont observables à partir de l'âge de 7 jours, pas avant. Leurs caractéristiques sont:

- * L'apparence de la mutante qui est généralement plus petite que celle de la souris normale de même âge;

- * Le fléchissement d'un ou des deux membres postérieurs qui vont se coller au tronc de l'animal lorsque celui-ci est soulevé par la queue; alors que dans les mêmes conditions la souris normale réagit en étirant ses pattes (Duchen et al., 1963; 1964);
- * La tendance des membres supérieurs de l'animal à se tordre en gardant les pattes dans une position d'hyperpronation;
- * Les mouvements de l'animal deviennent saccadés et progressivement incoordonnés même si ses membres bougent dans une séquence de marche normale (Duchen, 1976; Lalonde et al., 1994).

L'apparition des premiers troubles observables, donne suite à une progression assez rapide de la maladie. L'animal perd de plus en plus le contrôle de ses membres, à un tel point qu'il ne peut plus exécuter des mouvements périodiques tenaces (Duchen et al., 1963; 1964). Ses membres se déposent abruptement sur le support et sont accompagnés d'une contorsion et d'un vrillage du tronc. La souris adopte des postures bizarres dans lesquelles les membres sont soutenus par des spasmes soudains (Duchen, 1976) à mesure qu'elle vieillie. Puis le désordre se caractérise globalement par une incoordination musculaire progressive mais sans paralysie (Duchen et al., 1964; Lalonde et al., 1994), dont les apparences cliniques et pathologiques ne sont pas distinctes de la dystonie humaine (Falconer et al., 1964), d'où son nom, *Dystonia musculorum* (Duchen et al., 1963; 1964).

Mais, il est toutefois très important de souligner que l'appellation «*Dystonia musculorum*» attribuée à cette souris mutante neurologique est inadéquate et arbitraire. Car, malgré les observations de Falconer et al. (1964) et le nom de la mutante, il ne faut pas assimiler l'affection portée par cette souris à la forme de dystonie humaine. En effet, Rondot et al (1988) définissent la dystonie humaine comme étant un trouble moteur d'intensité variable, caractérisé par la contraction involontaire des groupes musculaires fixant un membre, un segment de membre, ou les quatre membres et l'axe corporel dans des attitudes particulières suivant un schème identique chez un même patient; alors que les désordres observés chez la souris *Dystonia musculorum* ne sont clairement pas associés à des mouvements involontaires; car rien ne se passe quand l'animal est endormi ou quand il ne bouge pas

(Duchen, 1976). L'affection portée par la souris mutante apparaît plutôt comme si c'était un désordre couplé à un trouble de la coordination des mouvements volontaires; ce qui n'est pas le cas pour la dystonie qui est définie comme étant essentiellement un trouble du tonus musculaire particulièrement marqué dans le maintien d'attitude, dans des mouvements involontaires (Rondot et al., 1988).

De plus, contrairement au mode de transmission, uniquement autosomal récessif, de la maladie chez la souris et des manifestations résultantes (voir plus haut), la dystonie est une affection sporadique ou héréditaire (autosomale récessive ou dominante) qui se manifeste avant l'âge de 9 ans chez l'humain et se caractérise par un spasme de torsion. La posture de l'individu affecté devient le résultat d'un spasme musculaire qui amène lentement l'axe corporel ou les membres à prendre une attitude défectueuse comme l'athétose⁷, donnant l'impression d'une épreuve de force, avec des déformations anatomiques importantes comme la flexion du tronc, l'inclinaison du thorax, l'extension du cou, la flexion et la pronation du poignet et de l'articulation métacarpophalangienne, l'extension des doigts, les varus équins et autres (Rondot et al., 1988). Les caractéristiques de la dystonie humaine sont plutôt similaires à ce qui est retrouvé chez d'autres modèles animaux comme le rat dystonique ou le hamster dystonique (Lorden et al., 1984, 1988; Löscher and Fredow 1992; McKeon et al., 1986; Hornykiewicz et al 1986; Nobrega et al., 1996); nous y reviendrons.

Le syndrome porté par la souris *Dystonia musculorum* est pleinement développé chez la mutante de 3 à 4 semaines d'âge. À ce moment, elle a une démarche qui devient pénible, et bouge en tournant autour d'elle et en se tordant le tronc. La réponse aux stimuli douloureux a un délai plus élevé et est moins brusque que chez la souris normale.

L'animal affecté a de la difficulté à manipuler la nourriture solide, à contrôler ses membres durant la nage et à s'engager dans une activité exploratoire (Lalonde et al., 1993 a) à cause de la

⁷déplacement qui se fait sous forme de spasme et non de mouvement incessant.

sévérité du désordre des membres. Elle est même incapable de se nettoyer adéquatement à tel point que les infections chroniques entraînent la perte de ses yeux (Duchen et al., 1963; 1964). Toutefois, Duchon et al. (1964) ont observé que mis dans la même cage qu'un animal normal, la souris mutante bénéficiait des traitements hygiéniques de celui - ci, ce qui améliorerait sa longévité. Enfin, plusieurs souris *Dystonia musculorum* meurent au moment du sevrage, probablement par déshydratation, infections terminales, ou simplement par la manifestation de la condition létale de l'affection (Duchen et al., 1963; 1964).

II.3/ Changements neuropathologiques

Les lésions neuronales de la mutante *Dystonia musculorum* sont généralement observées dans la moelle épinière, la medulla oblongata et le lobe antérieur du vermis (Sotelo et Guenet, 1988). Les lésions médullaires impliquent une dégénérescence axonale confinée dans la voie de la colonne dorsale, dans les fibres trigéminales sensorielles et dans les fibres spinocérébrales entrant au cervelet par les pédoncules cérébraux supérieurs et inférieurs (Sotelo et Guenet, 1988). Les circuits spinocérébelleux et les fibres moussues marquent les atteintes du lobe antérieur vermien.

Les anomalies les plus caractéristiques examinées chez la mutante *Dystonia musculorum* concernent surtout la dégénérescence des fibres nerveuses dans les nerfs périphériques, dans la racine sensorielle du ganglion de la moelle et des nerfs crâniens, dans la moelle épinière et dans le tronc cérébral. Les fibres nerveuses affectées ont un profil irrégulier, ou démontrent une forme fusiforme gonflée le long de leurs circuits. Les fibres nerveuses anormales, trouvées dans les structures précitées chez le jeune animal, sont grandement réduites en nombre et en gaines de myéline à mesure que l'animal prend de l'âge. La microscopie optique démontre que la dégénérescence axonale prend la forme tumescence argyrophylique, qui peut être rencontrée même avant le début des anomalies cliniquement détectables. Durant la progression de la maladie, les axones sont grandement turgescents dans les nerfs périphériques ainsi que dans les cornes sensorielles et dans les voies ascendantes de la

moelle épinière, du tronc cérébral jusqu'au thalamus (Duchen, 1976). La microscopie électronique démontre que le contenu de certaines tumescences est constitué en prédominance de neurofilaments, tandis que d'autres contiennent principalement des agrégats de neurotubules, des vésicules mitochondriales lisses ou des corps denses de membranes liées. Les fibres myélinisées et non myélinisées sont toutes affectées. Les débris des cellules de Schwann, la nature des phagocytes chez l'animal adulte affecté sont caractéristiques d'une dégénérescence de type wallerienne (Janota, 1972); toujours chez la mutante, la quantité des cellules de Schwann est très élevée, et leurs mitoses sont précoces. Ces cellules sont branchées avidement à l'intérieur de groupes d'axones non myélinisés ou juste dans des masses de collagène (Janota, 1972).

II.3.1/ La moelle épinière

La dégénérescence axonale est topographique. Elle entraîne des processus de dégénérescence maximale dans les fibres sensorielles primaires. Les processus sont modérés dans quelques voies ascendantes particulièrement dans les voies spinocérébelleuses ventrales et dorsales, mais pratiquement absentes entre les axones des voies pyramidales descendantes (Sotelo et Guenet, 1988; Duchon et al., 1963, 1964). Les colonnes dorsales démontrent peu de dégénérescences des fibres nerveuses, mais elles apparaissent quand même plus petites que celles de la souris normale, peu importe l'âge de cette dernière.

La tumescence axonale est également présente dans les colonnes ventro-laterales et ventrales de la matière blanche, et progresse à travers le tronc cérébral, jusqu'au thalamus (Duchen et al., 1963, 1964). Les cellules nerveuses de la matière grise apparaissent normales même si la substance gélatineuse de la corne dorsale se retrouve rétractée. Les fibres anormales sont présentes dans la matière grise, particulièrement entre les cellules de la corne ventrale et de la commissure ventrale. Les ganglions spinaux sont à tous les niveaux, également affectés ainsi que les ganglions sensoriels des nerfs crâniens V, VII, IX, et X qui sont dégénérés. Dans la moelle épinière et le tronc cérébral, la

dégénérescence des axones et des gaines de myéline est accompagnée d'une croissance de glioses⁸ fibrillaires des astrocytes (Duchen, 1976). La perte des fibres sensorielles (proximales et distales de la racine) est progressive alors que les fibres motrices demeurent intactes. À 6 semaines d'âge, il ne reste que très peu de fibres alors qu'à l'âge de 2 semaines, le nombre de fibres apparaissait normal, mais avec beaucoup de tumescences. Les fibres sensorielles sont spécifiquement affectées (voir Sotelo et Guenet, 1988 pour plus de détails).

Tous les animaux affectés démontrent une dégénérescence des fibres nerveuses dans le hile et entre les cellules nerveuses du ganglion de la racine dorsale. Celles-ci apparaissent atrophiées par rapport à ce qui est observé chez l'animal normal (Janota, 1972). La dégénérescence des ganglions de la racine dorsale se retrouve à toutes les étapes de la maladie, alors que les fibres tumescentes ne sont pas retrouvées chez le jeune mutant. Il semble aussi apparaître un manque relatif des cellules satellites dans les ganglions de la mutante (Messer et Strominger 1980). Certaines cellules nerveuses présentent des évidences de chromatolyse et une perte de la substance de Nissl. La dégénérescence est aussi retrouvée avec de la turgescence cellulaire au niveau des fibres entre les cellules du noyau de la racine mésencéphalique du cinquième nerf (homologue des cellules ganglionnaires de la racine sensorielle), alors que les cornes sensorielles et les ganglions des nerfs crâniens VIII, II et I semblent intacts (Duchen et al., 1963).

II.3.2/ Le tronc cérébral

Les deux changements pathologiques majeurs sont la dégénérescence axonale et les énormes axones varicosés. La dégénérescence axonale part du bord spinomédullaire jusqu'au mésencéphale caudal; le lemniscus latéral et les colliculis inférieurs y sont impliqués (Sotelo et Guenet, 1988). Au-dessus des régions du tronc cérébral, Messer et Strominger (1980) ont rapporté des lésions centrales

⁸prolifération réactive de la glie.

dans les systèmes non sensoriels; notamment la présence des formes tordues et excentrées des noyaux neuronaux dans 50-75% des grands neurones du noyau rouge, et l'existence de débris neuronaux sombres, retrouvés à l'intérieur du striatum du cerveau de la souris mutante *dt^{ALB}*. Dans les parties caudales du tronc cérébral, Sotelo et Guenet (1988) ont observé des affections des branches ascendantes des fibres sensorielles primaires (voies de la colonne dorsale), des dégénérescences mineures de l'olive inférieure et de la formation réticulaire, ainsi que des atteintes des fibres sensorielles trigéminales (les noyaux de la voie spinale, les noyaux de la voie sensorielle principale et le noyau moteur).

II.3.3/ Le cervelet

Alors que Duchon et al. (1963; 1964) rapportent quelques tumescences des fibres nerveuses dans la ligne granulaire du cervelet et dans le cortex cérébral, Sotelo et Guenet, (1988) mentionnent une perte progressive des fibres moussues dans le lobe antérieur, mais qu'ils ont observées uniquement en microscopie électronique. Les fibres moussues du système spinocérébral ont une dégénérescence caractéristique. Elle se fait suivant un processus rapide, en formant des glomérules⁹. Les études ultra structurales dans le lobe antérieur du vermis confirment des processus dégénératifs confinés dans les sous classes des fibres moussues (Sotelo et Guenet, 1988).

⁹formation pelotonnée, nerveuse, ayant une forme sphérique tel un globule.

II.3.4/ L'innervation motrice

Chez les jeunes animaux mutants, l'innervation paraît normale, contrairement aux plus âgés (1 mois et plus) chez qui Duchen et al. (1963) ont observé une dénervation partielle du muscle. Les fibres nerveuses terminales sont ramifiées et se trouvent à innover plusieurs fibres musculaires au lieu d'une seule comme dans la situation normale. Cette dénervation partielle est aussi évidente à cause de l'atrophie constatée de certains groupes de fibres musculaires et de l'hypertrophie des autres.

II.3.4/ L'innervation sensorielle périphérique

Chez le jeune mutant, les fibres nerveuses sont présentes dans les structures comme la peau et ses accessoires (ongles, poils, pores...), autour des articulations et dans les corpuscules de Pacini avec une densité apparemment normale, même si la dégénérescence est évidente dans les cornes dorsales et les ganglions (Duchen et al., 1964). À plus de 3 semaines d'âge, la souris mutante a une réduction du nombre de fibres nerveuses fonctionnelles, avec une prédominance dans les fibres sensorielles. La peau, les dents, les articulations, et autres accessoires deviennent ainsi dépourvus de fibres nerveuses.

Les corpuscules de Pacini apparaissent progressivement atrophiés et leur nombre total est réduit; les fuseaux neuromusculaires dans les membres et le tronc sont réduits en nombre et en diamètre par rapport à la souris normale, même chez la jeune souris mutante (Duchen et al., 1964). Ils démontrent des changements constants, à savoir, qu'ils deviennent atrophiés, particulièrement dans leur région équatoriale. En microscopie électronique, les fuseaux neuromusculaires présentent des indices de pertes axonales comme par exemple, la présence de tubes de Schwann vidés de leurs contenus (Duchen 1976). Les tendons organes perdent aussi leurs innervations.

II.3.5/ Les nerfs périphériques

À l'âge de 7 jours, des changements sont déjà identifiables, et c'est pendant la troisième semaine de vie que la dégénérescence est plus prononcée. Ainsi, les nerfs du tronc deviennent plus petits que ceux de l'animal normal. Ces nerfs apparaissent plus cellulaires avec plus de collagène entre les fibres nerveuses. La quantité des fibres myélinisées est réduite de façon marquée par rapport au type sauvage du même âge, dans toutes les générations. Cependant Duchen et al., (1963) n'ont rapporté aucun indice de dégénérescence axonale.

II.4/ Considérations neurochimiques

Les changements neurochimiques rapportés chez la souris mutante incluent globalement :

- * une réduction (50%) dans la capacité de biosynthèse du GABA (acide γ -aminobutyrique) ainsi que du niveau de recapture des cellules nerveuses du striatum et de la substance noire sans une perturbation concomitante dans l'hypothalamus (Messer et Gordon, 1979). À partir de ces résultats, les auteurs ont postulé l'existence d'une inhibition endogène du transport du glutamate;
- * La réduction significative de la concentration en acides aminés glutamate, aspartate, glycine et GABA dans le vermis cérébral, alors que dans le cortex cérébral, la taurine, la tyrosine, le glutamate et le GABA sont significativement élevés suivant un profil rencontré dans l'AF (Messer, 1982; Huxtable et al., 1979);
- * La perturbation du système noradrénergique dans le cervelet de la mutante. En effet, l'activité de la tyrosine hydroxylase (TH) et les niveaux endogènes de la dopamine (DA) et de ses métabolites acide homovanillique (HVA), acide déshydroxyphenylacétique (DOPAC), ainsi que de la noradrénaline (NA) et un de ses principaux métabolite, le MHPG mesurés dans les cerveaux des souris normales et mutantes ont démontré des niveaux similaires dans le néostriatum mais pas dans le cervelet (Riker et al., 1981). Ces auteurs ont notamment observé des changements importants, à savoir, une activité de la TH et un niveau de MHPG respectivement plus élevés de 38% et 42-66% sans d'autres changements concomitants au niveau de la NA. Ils ont interprété ces changements

comme étant une augmentation du métabolisme de la NA dans le cervelet de la mutante, due soit à la haute densité des terminaisons noradrénergiques, à partir d'une possible hyperarborisation des fibres du cervelet qui proviennent du locus coeruleus (LC) pendant la morphogenèse; soit à un recyclage (turnover) augmenté du neurotransmetteur.

* Une réduction des sites de recapture de la dopamine dans le VTA et la moitié dorsale du néostriatum caudal (Strazielle et al., 1998).

III Le Système Dopaminergique

Dans le cerveau des rongeurs, les neurones dopaminergiques définissent trois voies principales: la voie nigrostriatale; la voie mésolimbique et la voie tuberoinfundibulaire.

La voie nigrostriatale regroupe les corps cellulaires situés dans le mésencéphale, provenant du locus niger pour se projeter vers le striatum; la voie mésolimbique regroupe quant à elle, les projections cellulaires qui partent des autres régions du mésencéphale pour se diriger vers les tubercules olfactifs, les noyaux accumbens et les régions limbiques du voisinage; et la voie tuberoinfundibulaire qui constitue un système séparé, intra hypothalamique, consiste en des neurones qui projettent à partir des corps cellulaires des noyaux arqués vers la couche externe de l'éminence médiane de l'hypothalamus.

En dépit de sa grande distribution, majoritairement localisée dans la substance noire (SN) *pars compacta*, l'aire tegmentaire ventrale, et dans l'hypothalamus (Hyp), la DA est l'une des principales catécholamines du SNC impliquée dans la régulation d'une variété de fonctions ainsi que dans de nombreux désordres psychiatriques et/ou comportementaux (Jaber et al, 1996; Vadasz et al, 1992). La DA est notamment impliquée dans l'activité locomotrice, la sécrétion neuroendocrine, la cognition, l'apprentissage et les états affectifs.

Biosynthétisée à partir de la tyrosine, la dopamine (DA) suit la même voie de synthèse que les autres catécholamine, à savoir la noradrénaline (NA) et la sérotonine (5-HT). Les deux premières étapes de synthèse, notamment la conversion de la tyrosine en L-DOPA (L-dihydroxyphénylalanine) par la TH, puis de la L-DOPA en DA par la DOPA décarboxylase, se déroulent dans le cytosol. À ce niveau la dopamine est alors emmagasinée dans des vésicules synaptiques (Trimble et al., 1991). La DOPA-décarboxylase est une enzyme peu spécifique, qui par exemple, dans d'autres neurones peut

décarboxyler le 5-hydroxytryptophane pour donner de la sérotonine. Dans les neurones noradrénergiques, la DA est transportée dans des vésicules où elle subit une hydroxylation pour donner la NA. Dans les neurones adrénérgiques, la NA reçoit un groupe méthyl par l'intermédiaire de la PNMT (phényléthanolamine-N-méthyltransférase) pour aboutir à l'étape finale qui est la formation de l'adrénaline (Trimble et al., 1991).

Toutes ces étapes de biosynthèse sont suivies de la phase de libération des neurotransmetteurs, au cours de laquelle, chacune des substances contenues dans les vésicules présynaptiques est expulsée dans l'espace synaptique par un processus d'exocytose lié à un mouvement d'ions Ca^{2+} . La destinée de la DA libérée dans l'espace synaptique est multiple. En effet, pendant qu'une portion se perd par diffusion dans le milieu extracellulaire, et que l'autre est recapturée dans le neurone où elle est en grande partie dégradée par la monoaminoxidase (MAO) intracellulaire ou restockée dans les vésicules présynaptiques, la partie la plus importante de la relâche se fixe sur des récepteurs spécifiques postsynaptiques et/ou présynaptiques pour y induire la transduction du signal neuronal. La portion de la DA ainsi fixée aux récepteurs va induire l'activation de ces derniers, suivant un mécanisme de fonctionnement entraînant toujours l'implication des systèmes complexes dont les plus étudiés sont: le système de l'adénylate cyclase encore appelé système lié aux protéines G et le système de la polyphosphoinositide.

Le système de l'adénylate cyclase implique l'activation d'un récepteur membranaire (l'adénylate cyclase) qui va hydrolyser l'adénosine triphosphate (ATP) pour former de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) considéré comme étant le "second messenger" qui à son tour, va activer des protéines kinases intracellulaires ou membranaires ou encore des canaux ioniques pour déclencher une réponse dont la nature dépend des effecteurs impliqués (Lefkowitz and Caron, 1988). L'excès d'AMPc est dégradé en AMP5' inactive par une phosphodiésterase (Creese et al., 1983).

Dans sa topologie, l'adénylate cyclase dispose d'une sous unité catalytique, qui elle-même est sous la dépendance de protéines régulatrices, dites Gs (stimulation), et Gi (inhibition) qui ne sont activées qu'après liaison à la guanosine triphosphate ou GTP. Ces protéines régulatrices contiennent trois sous unités α , β , et γ . La sous unité α est celle qui est impliquée dans la liaison au GTP. La stimulation du récepteur entraîne une modification allostérique de la protéine G, permettant au GTP de se lier à la sous unité. Ainsi, une fois que le neuromédiateur s'est fixé au récepteur extracellulaire, ce dernier subit une transconformation et entre en interaction avec la protéine G, siège d'échange GTP-GDP. Le complexe protéine G-GTP interagit avec l'adénylate cyclase. Ce contact active alors la cyclase à convertir l'ATP en AMPc qui va stimuler les effecteurs. La transmission du message cesse après l'hydrolyse du GTP en guanosine diphosphate (GDP) et le retour de la protéine G à l'état initial (Calne 1979).

La stimulation du récepteur extracellulaire peut dans d'autres cas activer l'enzyme phospholipase C qui va hydrolyser les polyphosphoinositides ou inositoles phosphates en IP_3 et DAG, deux autres seconds messagers qui auront un devenir différent. L' IP_3 va libérer le Ca^{2+} du réticulum endoplasmique, alors que le DAG reste au niveau de la membrane cellulaire où il active la protéine kinase C, ce qui provoque une entrée massive de Ca^{2+} dans la cellule. L'augmentation de la concentration calcique intracellulaire active la calmoduline, qui va former un complexe avec Ca^{2+} et activer diverses enzymes, provoquant finalement la réponse cellulaire. Les excès de DAG et d' IP_3 sont respectivement détruits par l'hydrolyse en glycérol et en acide acétique par une hydrolase et en IP_2 , IP et I par des estérases intracellulaires.

Enfin, les catécholamines et plus particulièrement la DA encore dans l'espace synaptique sont métabolisées par la MAO et/ou par la cathécol-o-méthyltransférase (COMT) en des produits divers, avec des amines, des aldéhydes et des alcools méthylés ou non, qui sont excrétés. Les produits les plus importants de la dégradation sont le HVA, la DOPAC, le 3-MT et la MHPG dont les dosages

permettent avec celui de la TH d'établir un profil métabolique de la DA et de la Noradrénaline (Jaber et al., 1996).

III.1/ *Les Récepteurs Dopaminergiques*

Compte tenu des connaissances actuelles, la DA médie ses effets à travers cinq différents récepteurs, rassemblés en deux groupes, en fonction de leurs ressemblances pharmacologiques: Les groupes des récepteurs D_1 et D_2 , définis en langue anglaise comme *D₁-like* et *D₂-like* (Jaber et al, 1996). Les sous types du groupe des récepteurs D_1 sont des membres de la grande famille des protéines G et fonctionnent grâce à la formation de l'AMPc, via la stimulation de l'adénylate cyclase (Creese et al, 1983; Di Chiara et al 1994; Keabian et Calne, 1979). Ce groupe de récepteurs dopaminergiques est majoritairement postsynaptique et comprend les sous types D_{1A} et D_{1B} usuellement appelés récepteurs D_1 et D_5 (Jaber et al., 1996).

Le groupe des récepteurs D_2 inclue les sous types D_{2A} , D_{2B} et D_{2C} respectivement connus comme récepteurs D_2 , D_3 , et D_4 . Le groupe des récepteurs D_2 est, contrairement au groupe des récepteurs D_1 , lié à l'inhibition ou alors ne stimule pas l'adénylate cyclase (Keabian et al 1984).

Dans le SNC, le mRNA du récepteur D_1 est retrouvé dans les aires connus sous contrôle dopaminergiques comme le striatum, le noyau accumbens et les tubercules olfactifs, ainsi que dans le système limbique, l'hypothalamus et le thalamus. Dans les autres régions qui possèdent de nombreux sites de liaison pour la DA, aucun mRNA des récepteurs D_1 n'est détecté (Jaber et al, 1996), ce qui suggère que dans ces aires, les récepteurs D_1 sont seulement présents sur des projections; c'est le cas dans le noyau entopédonculaire, le globus pallidus et la substance noire *pars reticulata* où les récepteurs D_1 originent des neurones GABAergiques striataux co-exprimant la substance P (Le Moine et al., 1991).

Les récepteurs D_5 ont, quant à eux, une distribution plutôt restreinte à l'hippocampe, aux noyaux mamillaires latéraux, et au noyau parafasciculaire du thalamus (Tiberi et al., 1991) où l'on retrouve une expression de D_1 mRNA plus importante.

En outre, les récepteurs D_2 sont majoritairement retrouvés dans le striatum, le tubercule olfactif et le noyau accumbens où ils sont exprimés par les neurones GABAergiques dopaminoceptifs, co-exprimant les enkephalines (Le Moine et al., 1990; Le Moine et Bloch, 1995). On les retrouve également dans la substance noire pars compacta, dans l'aire tegmentaire antérieure ainsi que dans la glande pituitaire où ils sont impliqués dans la régularisation de la fabrication et de la production du lait. Ces récepteurs D_2 sont à la fois pré et postsynaptiques.

D'autre part, la particularité des récepteurs D_3 , spécifiquement distribués dans les aires limbiques (les îlots de Calleja, la coquille du noyau accumbens et les tubercules olfactifs) (Sokoloff et al., 1990), est leur grande affinité pour les neuroleptiques.

Quant aux récepteurs D_4 , ils sont les moins exprimés et on retrouve de faibles niveaux de mRNA dans les noyaux gris centraux, en contraste avec les grandes expressions dans le cortex frontal, la médulla, les amygdales, l'hypothalamus et le mésencéphale (O' Malley et al., 1992).

Au total, l'abondance relative des récepteurs dopaminergiques dans le SNC suit le ratio de $D_1 > D_2 > D_3 > D_5 > D_4$ (Jaber et al., 1996).

Toutefois, malgré cette diversité, les récepteurs dopaminergiques D_1 et D_2 sont les plus identifiés et aussi les plus étudiés dans le SNC des mammifères. Ces principaux récepteurs D_1 et D_2 , qui en apparence exercent un nombre de rôles fonctionnellement opposés, sont aussi les plus abondants dans le SNC où ils apparaissent largement exprimés par des neurones distincts (Jaber et

al, 1996). De même, les récepteurs D₁ sont les plus répandus et les plus exprimés de tous les autres récepteurs dopaminergiques (Freneau et al., 1991). Aussi, à cause de leurs implications directes ou indirectes dans les altérations de la transmission rapportées pour plusieurs disfonctions de la pensée ou des désordres de la motricité comme la maladie de Parkinson, la schizophrénie, les dyskinésies tardives et l'alcoolisme (Vadasz et al, 1992), les récepteurs D₁ et D₂ relèvent d'une grande importance dans la recherche des affections réceptorielles touchant les diverses formes pathologiques du SNC.

IV But de l'Étude

La souris *Dystonia musculorum* souffre d'une pathologie qui se manifeste physiologiquement par des troubles du contrôle de la motricité conduisant à une ataxie. Les études histopathologiques (Duchen et al., 1963, 1964; Duchen, 1976; Janota, 1972; Messer et Stominger, 1980; et Sotelo et Guenet, 1988) et neurochimiques (Riker et al., 1981; Messer et Gordon, 1979; Huxtable et al., 1979; Messer, 1982; Strazielle et al., 1998) réalisées sur cette souris mutante soutiennent une ataxie cérébelleuse de type Friedreich, malgré certaines considérations, parfois superflues qui tendent à confondre la souris mutante *Dystonia musculorum* (dt^J/dt^J) à un modèle de *dystonia musculorum deformans humaine*.

Cependant, parmi toutes les études réalisées sur la souris mutante (dt^J/dt^J), aucune ne s'est réellement focalisée sur l'exploration du système dopaminergique qui pourtant, relève d'une grande importance.

En effet, contrairement aux autres systèmes neuronaux chimiquement identifiés, la neurotransmission dopaminergique a longtemps été impliquée dans de nombreuses disfonctions de la pensée ou des désordres de la motricité comme la maladie de Parkinson, la schizophrénie, les dyskinésies tardives et l'alcoolisme (Vadasz et al, 1992).

Aussi, nous nous sommes fixés pour but, d'identifier les implications possibles du système dopaminergique dans les altérations du contrôle de la motricité observées chez la souris mutante (dt^J/dt^J).

Pour ce faire, nous avons jugé d'intérêt, l'étude de la distribution et de la densité des récepteurs dopaminergiques D_1 et D_2 en relation avec le contenu endogène en dopamine (DA) et ses principaux métabolites, à savoir, l'acide homovanillique (HVA), la 3-méthoxytyramine (3-MT) et l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC) dans les cerveaux antérieurs des souris de type sauvage et mutantes, en utilisant la technique de radioautographie quantitative et l'HPLC (chromatographie liquide à haute performance).

Les résultats obtenus feront spécifiquement l'objet de comparaisons multiples entre les régions examinées chez le groupe de souris de type sauvage *versus* le groupe de souris mutantes par une analyse simple de variance (T&ANOVAR) suivie d'un examen par le test de la distribution de Fisher (Fisher et Yates, 1957; Frank et Althoen, 1994).

Ainsi, en plus de valider la mutante (dt^J/dt^J) comme un modèle d'ataxie cérébelleuse possiblement de type Friedreich, cette étude permettra dans une certaine mesure, d'adopter des stratégies thérapeutiques plus rationnelles applicables aux ataxies dégénératives humaines.

CHAPITRE DEUX

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I Le Matériel Expérimental

I.1/ Les Animaux

Nous avons utilisé un total de 24 souris mâles en bonne santé, provenant des laboratoires Jackson (Bar Harbour, ME) dont 8 ont servi à l'étude radioautographique des récepteurs D₁ et D₂ (4 souris (dt^J/dt^J) et 4 normales). Les 16 souris restantes (8 souris (dt^J/dt^J) et 8 normales) ont servi au dosage de la dopamine endogène et ses métabolites par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Toutes les souris utilisées étaient réparties en deux groupes: Un groupe de souris témoins ou normales (+/+) composé de souris de type sauvage de souche B6C3FE-*a/a* et un groupe de souris mutantes (dt^J/dt^J) de souche B6C3FE-*a/a*-dt^J.

Les procédures utilisées suivaient strictement les normes du Canadian Council on Animal Care *Guide to the Care and Use of experimental Animal's*. Le protocole était approuvé par le Comité de déontologie pour l'expérimentation sur les animaux de l'Université de Montréal.

I.2/ Les Produits Chimiques

Les composés radioactifs [methoxy-³H]SCH23390 (activité spécifique ou a.s. 71.3 Ci/mmol), [methoxy-³H]raclopride HCl (a.s. 75.5 Ci/mmol), respectivement utilisés pour marquer les récepteurs D₁ et D₂ ont été achetés chez Du Pont (Boston, MA). La sérotonine (5-HT) HCl, la noradrénaline (NA) HCl, le 5-hydroxy-L-tryptophane (5-HTP), le 5-hydroxytryptophol (5-HTOL), l'acide 5-hydroxyindole-3-acétique (5-HIAA), la dopamine (DA) HCl, le 3-méthoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG), l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC), l'acide homovanillique (HVA), le 3-méthoxytyramine (3-MT), Phentolamine mésylate et le SKF38393 HCl ont été achetés chez Research Biochemicals Inc (Natick, MA). Les composés Tris-[hydroxyméthyl]-aminométhane, (±)sulpiride, adrénaline (AD) et pindolol ont été achetés chez Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO), alors que le sodium octyl sulfate provenait de Eastman Kodak (Rochester, NY). En outre, nous avons reçu avec beaucoup de satisfaction et de gratitude, le don généreux de kétanserine que nous a offert la firme Janssen Pharmaceuticals, Beerse, de Belgique.

1.3/ Les Appareils d'Analyse

1.3.1/ L'HPLC , ou chromatographie liquide à haute performance

Le système de chromatographie liquide avec détection électrochimique (Dewar et Reader, 1989; Lakhdar-Ghazal et al., 1986; Reader et Grondin 1987; Sauvé et Reader, 1988) utilisé possède un système d'injection constitué d'une pompe à double piston et d'un échantillonneur automatique AS-48 (Bio-rad; Richmond, CA) ainsi que d'une boucle d'échantillon fixe de 100 μ l située dans une valve d'injection 7010 (Rheodyne Co.; Cotati, CA). Les colonnes analytiques (100 x 4.6 mm) et protectrice (50 x 4.6 mm) étaient remplies de particules de 3 μ m de RP18 ou d'ODS (Adsorbosphère Catécholamine 3U). La phase mobile quant à elle, était constituée d'une solution tampon, de 0.1 M d'acide monochloroacétique contenant 800 mg/l d'acide éthylènediaminetétraacétique ou Na₂EDTA (Sigma Chemical Co.; St-Louis, MO), de 300 - 500 mg/l d'octyl sulfate de sodium ou OSS, et de 10% (v/v) de méthanol, ajustée à pH variant entre 3.30 et 3.35 à l'aide de NaOH 1N. Ce tampon est préalablement filtré à travers des pores de 0.22 μ m (type GS, Millipore Corporation; Bedford, MA) et dégazéifié sous vide avant usage. Le détecteur électrochimique utilisé était de modèle 400 (EG&G; Princeton Applied Research) dont le gain était de 20 ou 50 nA pleine échelle (full scale). L'électrode de travail, au carbone poli, était maintenue à un potentiel de 0.85 V par rapport à l'électrode de référence Ag/Ag Cl. La séparation des produits analysés était obtenue dans un intervalle de 45 à 50 min (Dewar et al., 1991, 1992; Molina-Holgado et al., 1994) en variant le débit (0.5-0.6 ml/min), la quantité d'OSS (200mg/l) et la température (35-40 °C; BAS LC22A contrôleur de température). Les pics obtenus suite à la séparation des composés étaient enregistrés et la surface sous les pics intégrés par un intégrateur de modèle 3392A Integrator (Biorad). Pour déterminer les surfaces sous les pics ainsi que les temps de rétention précis, nous avons injecté des standards faits de 0.5 ng de chaque composé analysé, pour chaque série, avec une excellente reproductibilité et des coefficients de variation en dessous de 5%.

1.3.2/ La Radioautographie

Nous avons utilisé un système d'analyse d'images de la firme MCID™ (Imaging Research,; Brocks University, Sainte-Catherines, ON) pour toutes nos lectures densitométriques (section II.3.2).

II Les Procédures Expérimentales

II.1/ L'Obtention des Échantillons

Les souris *Dystonia musculorum* et témoin ont été sacrifiées par décapitation à l'aide d'une paire de ciseaux. Leurs cerveaux ont été rapidement prélevés (45 secondes) et congelés dans du *N*-méthylbutane refroidie à - 40° C à l'aide d'azote liquide, puis stockés dans un congélateur à - 80° C jusqu'à ce qu'ils soient expérimentalement utilisés.

II.1.1/ La Dissection des Cerveaux

Les mesures par chromatographie ont été réalisées à partir d'échantillons provenant de 22 régions bien définies des cerveaux de souris de type sauvage (+/+) et de souris mutantes *Dystonia musculorum* (dt^l/dt^l) pour quantifier le contenu tissulaire de la DA et ses métabolites. Les cerveaux des souris témoins et mutantes ont été retirés du congélateur et déposés sur une plaque de verre refroidie. À l'aide d'un bistouri, nous avons sectionné les cerveaux en tranches transversales de 1-2 mm d'épaisseur sous un contrôle microscopique (Reader et Grondin, 1987; Dewar et al., 1991). Puis dans un sens rostro-caudal, nous avons disséqué les cortex cingulaire, frontal, pariétal, entorhinal-piriforme, visuel, ainsi que le bulbe olfactif, le septum, l'hippocampe, l'amygdale, le néostriatum (caudé-putamen) divisé en six parties, le noyau accumbens, l'hypothalamus, le thalamus, la substance noire, le tronc cérébral, le cervelet et l'aire tegmentale ventrale.

Les régions des cerveaux ont été disséquées suivant l'atlas de Franklin et Paxinos (1997). Le cortex cingulaire (Cin) incluait la partie la plus rostrale et médiale du cortex cérébral préfrontal, ou aires Cg1 et Cg2 (Fig. 1A). Le cortex frontal (Fro) correspondait aux cortex moteurs primaire (M1) et secondaire (M2) et aux aires du cortex sensoriel primaire (S1J, S1FL, S1HL). Les limites de dissection du Cin et Fro s'étendaient de la partie la plus rostrale du cerveau jusqu'à la commissure

antérieure (aca) (Fig. 1B, C). Le cortex pariétal (Par) correspondait aux aires corticales sensorielles primaire (S1BF) et secondaire (S2) (Fig. 1D, E), et le temporal (Tem) incluait le cortex auditif (Au) (Fig. 1F) et du cortex temporal d'association ou TeA (Fig. 1G). Les échantillons des aires entorhinal-piriform (Ent-Pir) étaient constitués du cortex ventral latéral à l'hypothalamus, situé entre l'aire préoptique et la partie la plus postérieure du cerveau antérieur. Les cortex visuels (Vis) était disséqués à partir du bloc le plus caudal des hémisphères (Fig. 1F, G) et comprenait à la fois les cortex visuels primaire et secondaire. Le bulbe olfactif (OB) était séparé des pôles frontaux, et constitué de la portion la plus rostro-ventrale des échantillons du cerveau antérieur. Le noyau accumbens, visible comme une structure ronde avec la aca comme ponçon (Fig. 1A) et le tubercule olfactif (Tu) étaient attentivement enlevés et séparés des autres régions pour éviter la contamination. Le septum (Spt) était l'aire située entre les ventricules latéral et ventral et le corps calleux; Ceci incluait à la fois les noyaux septaux médial (MS) et latéral (LS) (Fig. 1B). Le néostriatum (NS) ou division caudé-putamen étaient divisés en six portions. La aca (Fig. 1C) était utilisé comme division entre ses composés rostraux (rNS) et caudaux (cNS). le rNS (Fig. 1B, C) étaient subdivisés en quatre quadrants, à savoir les cadrans dorso-medial (rNSdm), dorso-latéral (rNSdl), ventro-médial (rNSvm) et ventro-latéral (rNSvl), alors que cNS (Fig. 1D) était disséqué en moitié dorsale (cNSd) et ventrale (cNSv). Le thalamus était fait de ses divisions antérieures et postérieures (Fig. 1E). L'amygdale (Amyg) incluait le tissu latéral aux ensembles de l'hypothalamus postérieur et antérieur, et ventrale à l'aspect caudal du néostriatum (Fig. 1E). L'hippocampe était enlevé du cerveau médian et excédant le cortex cérébral (Fig. 1E, F) basé sur ses apparences morphologiques distinctes. La substance noire (SN) et l'aire tegmentale ventrale (VTA), comprenaient les groupes cellulaires A9 et A10 (Dahlström et Fuxe, 1964) des neurones dopaminergiques; les deux régions étant disséquées en dehors comme un échantillon de tissu entier, situé aux portions ventro-laterale et médiale du mésencéphale (Fig. 1F, G). Le cervelet (CB) était séparé du tronc cérébral; Les échantillons incluait le cortex vermien et les

hémisphères, ainsi que les noyaux cérébelleux profonds (Fig. 1H). Finalement, le tronc cérébral (BS) était constitué des ponts, de la médulla et du tissu mésencéphalique restant sans les régions SN/VTA.

Figure 1. Dissection des cerveaux.

Les sections coronales sérielles provenant des cerveaux antérieurs et des tronc cérébraux des souris de type sauvage démontrent la localisation des régions échantillonnées pour les dosages par l'HPLC. Les illustrations constituent des images digitalisées des sections colorées au bleu de Crésyl, et les régions dessinées suivent la nomenclature de l'atlas stéréotaxique de Franklin et Paxinos (1997).

A) Les coupes obtenues de la portion la plus rostrale du cerveau au niveau du plan inter auriculaire (IA) 5.50 mm, présente l'aire 1 du cortex cingulaire (Cg1), les cortex moteurs primaire (M1) et secondaire (M2), la région somatosensorielle 1 pour la mâchoire (S1J), le cortex insulaire agranulaire (AI), le noyau accumbens (Acb), le claustrum (Cl) et le tubercule olfactif (Tu). La commissure antérieure (aca), le forceps mineur (fmi) du corps calleux, la fissure rhinale (rf) et le tractus olfactif latéral (lo) sont aussi indiqués dans la figure.

B) La coupe à IA 4.90 mm, présente les aires Cg1 et Cg2 du cortex cingulaire, les cortex moteurs M1 et M2, le cortex somatosensoriel (S1) et ses régions pour les membres antérieurs (S1FL), le cortex granulaire insulaire (GI), le AI et le cortex piriforme (Pir). Le néostriatum rostral (rNS) était subdivisés en quatre quadrants; les quadrant dorso-medial (rNSdm), dorso-latérale (rNSdl), ventro-médial (rNSvm) et ventro-latéral (rNSvl). Les autres régions indiquées à ce niveau sont le Cl, les divisions latérale (LS) et médiale (MS) du septum et le noyau du segment, ou membre, vertical de la bande diagonale (VDB).

C) Coupe au niveau (IA 3.94 mm) qui montre la portion médiale de la commissure antérieure (aca). Sa division latérale constitue la branche postérieure (acp). Les aires corticales sont le

cingulaire (Cg1, Cg2), motrice (M1, M2), somatosensorielle primaire pour les membres postérieurs (S1HL), antérieurs (S1FL), les vibrisses (S1BF), le cortex somatosensoriel secondaire (S2), le cortex insulaire agrulaire postérieur (AIP), le GI et le Pir. Le rNS ainsi que le noyau préoptique médian et l'aire préoptique latéral (LPO) sont aussi présentés.

D) Une coupe à l' hauteur du plan IA 3.20 mm, illustre le néostriatum caudal (cNS) subdivisé en moitiés dorsale (cNSd) et ventrale (cNSv), le globus pallidus latéral (GP), le noyau thalamique réticulaire (Rt), l'amygdale (Amyg), l'aire hypothalamique latérale (LH) et l'aire préoptique médiale (MPA). Les aires corticales sont Cg1, Cg2, M1, M2, S1HL, S1FL, S1BF, S2, AIP, GI et Pir. Le tractus optique (opt), la capsule interne (ic) et la commissure hippocampale ventrale (vhc) sont aussi identifiées ici.

E) La coupe à IA 1.98 mm présente l'hippocampe dorsale (dHip), l'amygdale (Amyg), le thalamus antérieur (Thal), le complexe nucléaire de l'habenula (Hb), la zona incerta (ZI) et l'hypothalamus postérieur (Hyp), qui était subdivisé ici en aire latérale (lHyp) et médiale (mHyp), et les corps mamillaires (MM). Pour l'hippocampe, les mesures provenaient grandement du cornu ammonis, à savoir CA1, CA2, CA3, et CA4, mais aussi du gyrus dentelé (DG). Les aires corticales sont les régions corticales somatosensorielles primaire pour le tronc (S1Tr), S1BF, S2, perirhinal (Prh) et Pir.

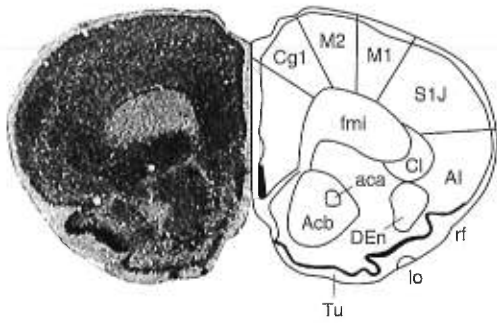
F) La coupe à travers le mésencéphale (IA 0.40 mm) illustre le colliculus supérieur (CS), la substance grise périaqueductale (PAG), le noyau raphé linearis (RLi), le noyau interpedunculaire (IPC), le noyau rouge (Rub), la substance noire (SN), et le pédoncule cérébral basal (cp) ainsi que de l'hippocampe ventrale (vHip) avec le CA1, le DG, le subiculum dorsal (S). Ventral et

médiale du cortex entorhinal latéral (Ent) on note la localisation du noyau amygdaloïde cortical postero-médial (PMCo). Les aires corticales illustrées sont les cortex rostrosplenial granulaire (RSG) et retrosplenial agranulaire (RSA), le cortex visuel (Vis), le cortex auditif (Au) et le cortex perirhinal (PRh).

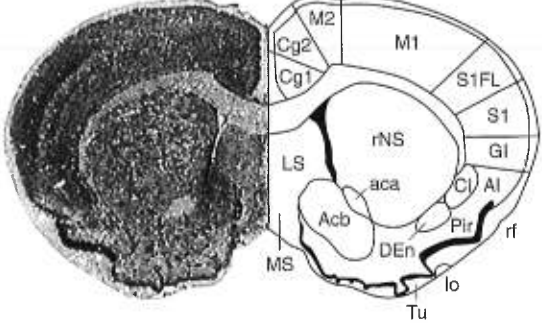
G) Cette coupe passe à travers le tronc cérébral (IA -0.08 mm) et montre le colliculus supérieur (CS), la substance grise périaqueductale (PAG), le noyau raphé dorsalis (DR), le noyau raphé médianus (MnR), le IPC et la SN. Ventrale aux aires Vis, l'aire associative du cortex temporal (TeA) est montrée ici, et l'Ent, en dessous de la rf dans la portion la plus basale des hémisphères. Dans le vHip, on dénote le CA1 et le subiculum (S).

H) Dans la coupe la plus caudale (-2.20 mm IA) de la série, comprenant le cervelet (CB) et la medulla oblongata, les aires des noyaux cérébelleux médial (Med) ou fastigial, antérieur interposé (Aint) et latéral (Lat), ou dentelé, ont été profilées. Les lobules cérébelleux indiqués sont le flocculus (Fl), le paraflocculus (PFl), le lobule ansiforme (Crus 1) et le lobule simple (Sim). On note aussi, le complexe des noyaux vestibulaires (Vest), le noyau du nerf facial (7) et le faisceau pyramidal (py).

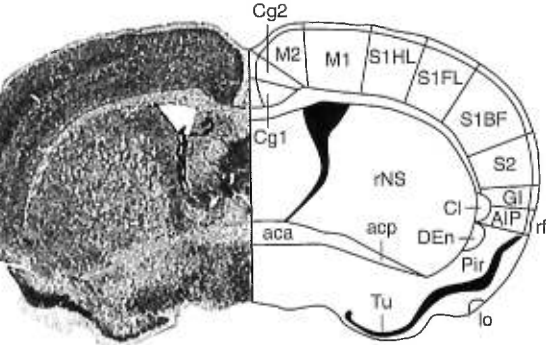
A IA 5.50 mm



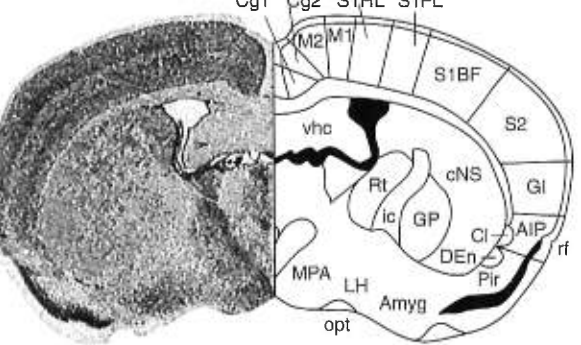
B IA 4.90 mm



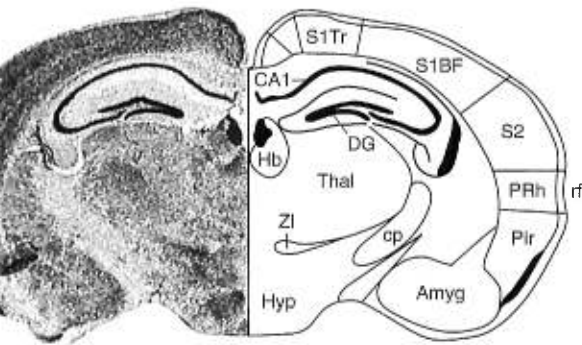
C IA 3.94 mm



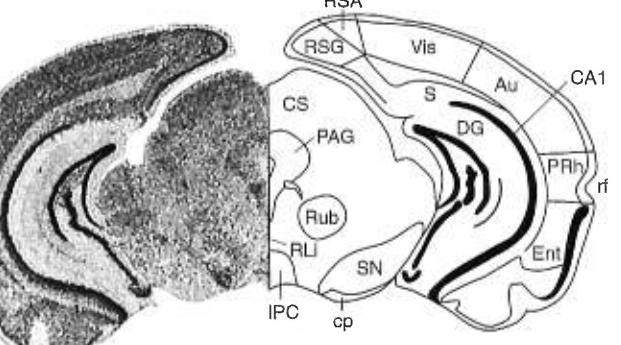
D IA 3.20 mm



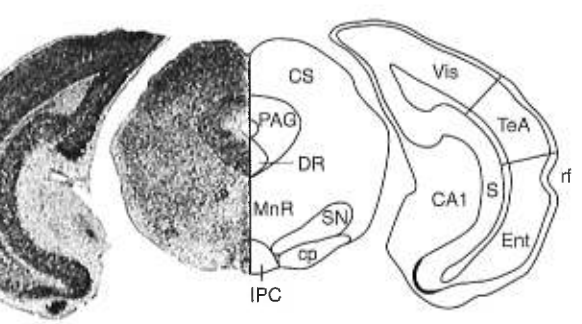
E IA 1.98 mm



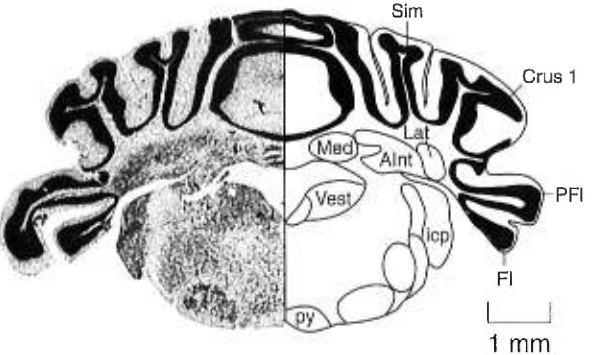
F IA 0.40 mm



G IA -0.08 mm



H IA -2.20 mm



II.1.2/ Les Coupes Histologiques

Pour la radioautographie, les cerveaux des souris mutantes *Dystonia musculorum* et témoins ont été sériellement coupés à l'aide d'un cryostat. Nous avons ainsi obtenu des coupes transversales de 20 µm d'épaisseur que nous avons recueillies sur des lames et recouvertes de 0.2% de gélatine / 0.033% de sulfate potassium chromium. Ces lames histologiques ont été portées à -80 °C jusqu'à usage. Sur chaque lame histologique on pouvait dénombrer 12-16 sections montées à intervalles de 500-600 µm correspondant à un cerveau entier de souris.

II.2/ Le Dosage de la Dopamine Endogène et ses Métabolites

Pour la détermination des monoamines, les régions individuellement disséquées ont été rapidement pesées (20 - 100 mg poids net), puis placées dans des tubes contenant 40 volumes d'acide monochloroacétique froid 0.1N avec 2.15 mM de Na₂EDTA. Ces régions ont été individuellement homogénéisées à l'aide d'un Tissumizer™ (Tekmar Company; Clincinnati, OH) et centrifugées à 39,000 x g pendant 45 minutes à 4 °C. Les culots ont été dissouts toute la nuit pour la détermination des protéines (Lowry et al. 1951) alors que le surnageant a été filtré à travers des pores de 0.45 µm (GS, Millipore, Bedford, MA) et stocké à - 80 °C jusqu'à ce qu'il soit utilisé.

L'usage a lieu juste quelques jours après le stockage. Nous avons systématiquement analysé les échantillons témoins et mutants alternativement pour éviter les différences dues à la durée du stockage. Nous avons ainsi mesuré les niveaux tissulaires de la dopamine (DA) et de ses métabolites, à savoir l'acide 3,4-dihydroxyphenylacétique (DOPAC), l'acide homovanillique (HVA) et la 3-méthoxytyramine (3-MT).

II.3/ Radioliation et Radioautographie

II.3.1/ Incubation

Les procédures d'incubation et de développement des films destinés à l'analyse radioautographique étaient les mêmes pour tous les récepteurs étudiés, suivant des méthodes bien établies (Dawson et al., 1985; Köhler and Radestäter 1986; Radja et al., 1993; Reader et al., 1995). Cependant, la nature ainsi que la composition des ligands et tampons utilisés étaient différentes et dépendaient du type de récepteur à étudier. Les détails des différents contenus de chaque protocole expérimental sont regroupés dans le *Tableau 1*.

En ce qui concerne la procédure d'incubation proprement dite, nous avons utilisé un total de 16 lames (4 contenant d'incubation) pour la liaison totale et 8 lames (2 contenant d'incubation) pour la liaison non-spécifique. Disposées dans leurs contenants d'incubation, toutes les lames ont été pré-incubées dans une solution tampon (tampon de pré-incubation) pendant 15 minutes à 25 °C (température de la pièce), puis incubé pendant 60 minutes, toujours à la température de la pièce, dans le tampon d'incubation approprié. Nous avons par la suite lavé les lames quatre fois pendant 2 minutes dans une solution tampon dite de lavage, puis rincé à l'eau distillée pendant 15 secondes pour enlever les sels. Un séchage des lames à l'air froid sous la hotte faisait suite, puis elles étaient placées ainsi que leurs étalons de calibration ou standards dans une cassette. Les coupes de cerveaux des souris témoins étant représentées chacune sur trois lames dont deux pour la liaison totale et une lame pour la liaison non spécifique étaient suivies de celles des mutants, puis des lames standards ($[^3\text{H}]$ MicroscalesTM). La cassette ainsi constituée a été portée en chambre noire pour y apposer, au-dessus des lames, à l'intérieur de la cassette, un film sensible au tritium ($[^3\text{H}]$ HyperfilmTM). Toute la cassette a été enveloppée d'un sac noir et placée dans une chambre froide pour une durée de 5 à 6 semaines. 50 μl du radioligand ont été prélevés en triplicata ainsi que des échantillons composés de filtres passés sur

la table de manipulation après nettoyage, dans l'air et dans la hotte, puis déposés dans des petits vials de verre que l'on a remplis de liquide à scintillation (EconofluorTM, Du Pont) et portés au compteur β pour calculer la concentration exacte du ligand tritié utilisé pendant l'expérience et pour vérifier la contamination.

Après les 5 - 6 semaines d'exposition, les films ont été développés dans la chambre noire. Pour ce faire, nous avons préparé un certain nombre de solutions; entre autres, le révélateur (4 litres d'eau tridistillée chauffés à 52 °C auxquels une enveloppe de "Developer D-19" de Kodak est entièrement dissoute. La bouteille était aussitôt recouverte d'un sac noir pour protéger la solution de la lumière), qui est fait la veille de l'expérience; le bain d'arrêt (2 L d'eau Millipore plus 15 ml d'acide acétique glacial) et un fixateur (500 ml de Polymax EktafloTM dissout dans 1500 ml d'eau tridistillée).

Pour le développement, il a fallu d'abord refroidir le révélateur au réfrigérateur à 18 °C et l'utiliser pour révéler le film pendant 4 minutes. Ensuite le film a été placé dans le bain d'arrêt pendant 10 secondes puis dans le fixateur pour 4 autres minutes et enfin lavé à l'eau courante pendant 60 minutes ainsi qu'à l'eau distillée pour enlever les sels. Les films résultants ont été exposés à l'air ambiant pour le séchage. Aussi nous avons baptisé chaque animal contrôle par CDx, et les mutantes par Dx (x représentant la position de l'animal selon qu'il soit le premier ou le dernier sur la cassette) avant de nous débarrasser des lames.

Tableau 1: Répertoire des produits chimiques utilisés pour la radioliation.

RÉCEPTEURS		D₁	D₂
T A M P O N S	PRÉINCUBATION	Tris-HCl 50mM pH 7.40:120mM NaCl, 5mM KCl, 2mM CaCl ₂ , et 1mM MgCl ₂ .	Tris 50 mM à pH 7.40: 120mM Nacl et 5mM KCl.
	INCUBATION	Tampon de préincubation + 100 nM de ketanserine tartrate pour bloquer les sites 5-HT ₂	Tris 50 mM à pH 7.40: 120mM Nacl et 5mM KCl.
	LAVAGE	Tampon de préincubation froid	Tris 50 mM à pH 7.40: 120mM Nacl et 5mM KCl.
RADIOLIGANDS		[³ H]SCH23390 (a.s. ¹⁰ . 71.3 Ci/mmol; p.m. ¹¹ . 287.8; c.f. ¹² 5 nM)	[³ H]raclopride (a.s.75.5 Ci/mmol; p.m. 346.2; c.f. 20 nM).
NON SPÉCIFIQUE		(±) SKF38393 HCl (p.m. 523.5; c.f. 60 μM).	Sulpiride (p.m. 341.1; c.f 500 μM).

¹⁰ a.s = activité spécifique.¹¹ p.m. = poids moléculaire.¹²c.f. = concentration finale dans la solution d'incubation.

II.3.2/ Analyse Radioautographique

Les deux principales applications de la radioautographie sont de localiser et quantifier les sites de liaison. Le premier objectif est relié à la connaissance des régions anatomiques où s'est lié le ligand. Ceci peut être exécuté par des techniques anatomiques relativement simples et directes comme la comparaison des régions marquées avec un atlas, ou la coloration des coupes après exposition et la superposition de celles-ci avec les films radioautographiques ou les émulsions.

Le second aspect est de quantifier la densité des récepteurs. Pour cela, les densités optiques ou grains comptés doivent être converties en quantité molaire de ligand lié. Ceci est toujours accompli en référence à la courbe standard générée par la co-expression des sections de tissu avec une quantité connue de radioactivité. Cette procédure permet d'établir une relation entre les densités optiques (DO) mesurées et les quantités véritables de ligand fixé (Unnerstall et al., 1982).

L'équation générale pour calculer la quantité molaire de ligand lié peut être exprimé par:

$$\text{mmol / mg P} = \text{DO}_A \times [(\text{DPM / mg P}) / (\text{DO})\text{B}] \times [\text{mmol / (Ci)C}] \times [(\text{1Ci}) / (2.22 \times 10^{12} \text{ DPM})].$$

Où, DO_A est la densité optique au dessus des régions étudiées; le facteur B est la pente de la courbe standard, et le facteur C, l'activité spécifique (a.s.) du ligand (Unnerstall et al., 1982). En utilisant alternativement la calibration des standards (microscalesTM) commerciaux, de valeurs connues, toujours exprimés en nCi/mg, on peut convertir les quantités mesurées en des unités appropriées comme les femtomoles par milligramme (fmol/mg); puis, extrapolées les valeurs de DO à partir de la calibration de la courbe standard (Reader and Strazielle, 1998). Ainsi l'équation qui exprimera les valeurs de DO transformées en valeurs de liaisons molaires peut être exprimée en $[(\text{nCi/mg} \times 10^{-12}) / C]$, où la valeur de chaque concentration standard en nCi/mg est corrigée à cause de la perte par désintégration de la radioactivité du ligand entre le temps de la manufacture et le jour

d'exposition; Et C, l'activité spécifique du ligand radioactif, est aussi corrigée pour la raison précitée. Aussi, en considérant que les concentrations des protéines dans les sections du cerveau entier, sont déterminée comme étant 0.3 milligramme de protéine pour 1.0 milligramme de section de tissu, les concentrations molaires de ligand lié par milligramme de tissu poids sec peuvent être convertis en concentration molaires par milligramme de protéine (Unnerstall et al., 1982).

Les films résultant de l'incubation et du développement ont été portés à l'analyseur d'images pour effectuer de la densitométrie quantitative. Les régions anatomiques à analyser ont été sélectionnées en fonction de la localisation anatomique des sites dopaminergiques; et l'orientation sur les coupes s'est faite en se référant aux atlas stéréotaxique du cerveau de la souris de Lehman (1974) et de souris (Franklin et Paxinos, 1997) et des illustrations anatomiques du cerveau du rat (Paxinos et Watson 1982). Les échelles de calibration que nous avons utilisées pour convertir les niveaux de densité en femtomoles de tritium par milligramme de protéine (fmol/mg protéine) ont été obtenues à partir des quantités connues de tritium contenues dans les [³H]MicroscalesTM. Les densités reportées par le radioautographe ne représentaient que les liaisons spécifiques du ligand avec le récepteur. Celles-ci ont été obtenues par soustraction digitale résultant de la lecture de la liaison totale puis de la liaison non spécifique sur des coupes adjacentes (Ramm, 1990). C'est seulement sur l'image résultant de la soustraction digitale que toutes les lectures densitométriques sont effectuées. Enfin, plusieurs lectures (9-101) ont-elles été effectuées dans chaque région sélectionnée du cerveau de chaque animal, en se rassurant de prélever le carré d'un nombre plus un.

II.4/ *L'Évaluation Statistique*

Tous les résultats ont été compilés à partir de lectures multiples. Près de 9 à 101 valeurs (radioautographie) et 6 à 8 valeurs (chromatographie) ont été prélevées sur chaque structure chez chaque animal. Le résultat final du prélèvement est exprimé en moyenne \pm écart type. La signification statistique des différences entre les échantillons des mutantes *Dystonia musculorum* et témoins a été déterminée par l'utilisation du test de t (Student-t-test). Les comparaisons multiples entre les régions ont été faites par une analyse simple de variance (T&ANOVAR) suivie d'un examen par le test de la distribution de Fisher (Fisher et Yates, 1957; Frank et Althoen, 1994). Seules les différences avec une valeur de probabilité inférieure à au moins 0.05 ($P < 0.05$) ont été considérées statistiquement comme significatives.

CHAPITRE TROIS

RÉSULTATS

I Dosage des Monoamines

Les quantités de dopamine (DA) et de ses métabolites DOPAC, HVA et 3-MT mesurées dans les structures anatomiques des cerveaux antérieurs des souris mutantes et témoins sont rapportées dans les *tableaux 2 et 3*.

Dans les tranches de cerveau de la souris témoin, les plus grandes quantités de la DA et de ses métabolites étaient mesurées dans les subdivisions striatales (Fig. 2 et *tableau 2*) et dans le noyau accumbens (Acb) (*tableau 3*). Pour des raisons expérimentales, le néostriatum a été divisé en six portions dont quatre rostrales (rNSmd, rNSmv, rNSd, rNSlv) et deux caudales (cNSv cNSd). Les six subdivisions contenaient des quantités moyennes de près de 90.5 ng/mgp. Pour la DA, 21 ng/mgp. Pour la DOPAC, 13 ng/mgp. Pour l'HVA 13 et 9-10 ng/mgp. Pour 3-MT. Ces patrons de distribution étaient similaires à ceux rencontrés chez le rat.

Comme chez le rat, nous avons obtenu des gradients rostro-caudal (rNS > cNS) et ventro-dorsal (NSv > NSd) pour les différents composés; à savoir respectivement 37% pour la DA, 30.5% pour la DOPAC, 22.1% pour l'HVA, 27.6% pour la 3-MT pour l'axe rostro-caudale; et 22.5% pour la DA, 27.6% pour la DOPAC, 23.6% pour l'HVA et seulement 9% pour la 3-MT pour l'axe ventro-dorsal.

Les quantités de la DA et des métabolites dopaminergiques observées dans l'Acb étaient parallèles à celles observées dans la portion caudale du néostriatum.

Figure 2. Profil chromatographique de la DA et ses métabolites dans le striatum.

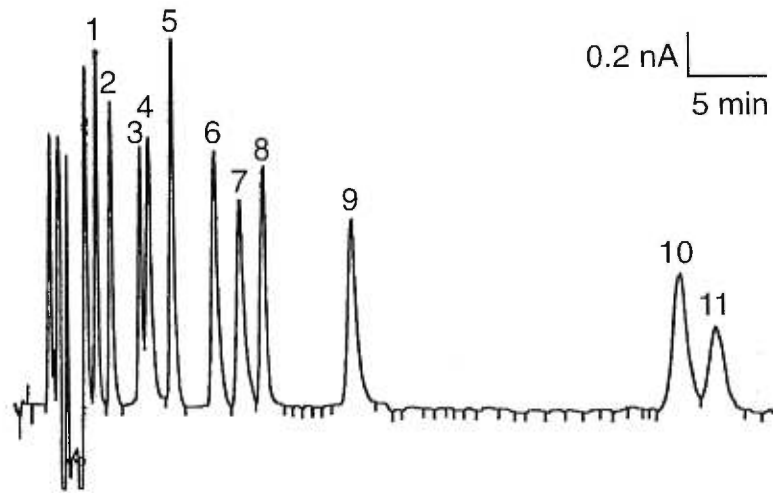
Les chromatogrammes présentent la séparation des différents pics d'une solution standard de monoamines contenant 0.5 ng de chacun des composés et les différents pics enregistrés du striatum.

La phase mobile était constituée de 0.1 M d'acide monochloroacétique (pH 3.3) contenant 800 mg/l de Na₂EDTA, 460 mg de sodium octyle sulfate et 10% de méthanol. Le flux était à 0.6 ml/min, et la température de la colonne maintenue à 38-42 ° C. Les substances étaient oxydées avec des électrodes de carbone vitré à un potentiel de +680 mV en fonction de l'électrode de référence en Ag/AgCl, et le détecteur électrochimique déterminé à un gain de 10 nA plein échelle (*full scale*).

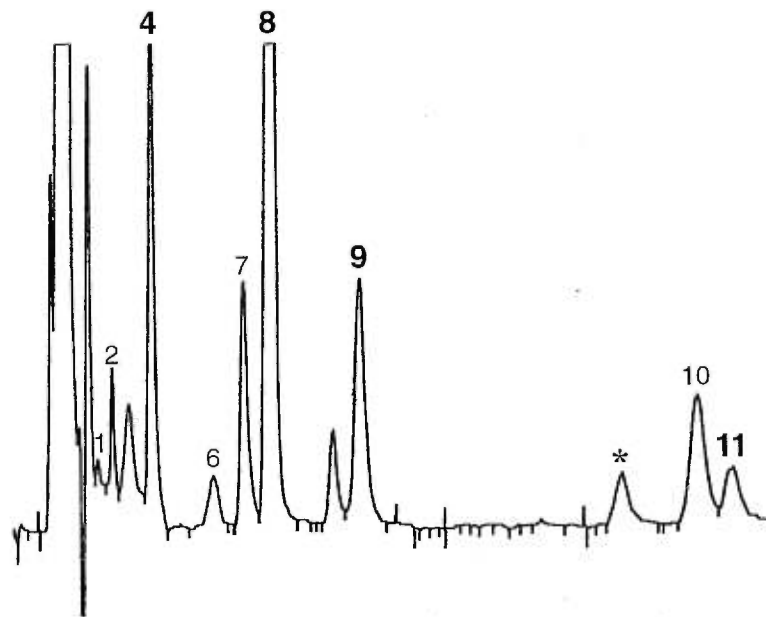
A) Le standard contenait 0.5 ng de 3-méthoxy-4-hydroxyphénylglycol (1), de la noradrénaline, ou NA (2), de l'adrénaline, (3), de l'acide 3,4-dihydroxyphenylacétique ou DOPAC (4), du 5-hydroxy-L-tryptophane ou 5-HTP (5), du 5-hydroxytryptophol ou 5-HTOL (6), de l'acide 5-hydroxyindole-3-acétique ou 5-HIAA (7), de la dopamine ou DA (8), de l'acide homovanillique ou HVA (9), de la sérotonine ou 5-HT (10) et du 3-méthoxytyramine ou 3-MT (11).

B) Dans l'échantillon du néostriatum, on note un haut niveau de DOPAC (pic 4), de dopamine (pic 8) et d'HVA (pic 9), ainsi que des quantités modérées de 3-MT (pic 11). Le pic marqué avec un astérisque est le L-tryptophane, mais cet acide aminé n'a pas été quantifié.

A STANDARD



B NEOSTRIATUM



En contraste, dans les aires corticales du cerveau de la souris normale (*tableau 2*), les niveaux tissulaires en DA variaient de 1 à 2 ng/mgp., sauf pour le cortex visuel où la DA était présente à des quantités encore plus faibles (< 0.3 ng/mg p.) que celles observées dans le CB (0.33 ± 0.16 ng/mg p.) et dans le BS (0.45 ± 0.08). Les niveaux de DA dans les cortex Par et Tem étaient plus élevés que ce qui a été rapporté dans plusieurs études des aires corticales équivalentes du cerveau de rat (Diop et al., 1988; Reader et Grondin, 1987; Reader et Dewar, 1989; et Reader et al., 1988), suggérant une possible différence de distribution dopaminergique corticale entre les espèces animales. La distribution dopaminergique corticale chez la souris normale, en tenant compte des régions les plus distribuées, impliquait l'ordre suivant: Par > Fro > Tem et Ent-Pir > Cin > Vis.

Par rapport aux distributions corticales, les structures comme l'Amyg et le Spt démontraient des quantités relativement élevées mais de loin plus faible que celles observées dans les structures striatales ou dans l'Acb. Le OB, l'hyp et la SN/VTA démontrent aussi de faibles quantité de DA et métabolites.

Comparé au cerveau de la souris normale, la souche de souris mutante démontrait des patrons corticaux non conservés qui suivaient la disposition Par > Ent-Pir > Tem > Fro > Cin > Vis. Toujours chez la souris mutante, les valeurs mesurées de DA et de ses métabolites semblaient, à l'exception du cortex frontal, augmenter discrètement dans la majorité des régions, mais de manière non significative. Dans les subdivisions striatales, les quantités de DOPAC démontraient une légère tendance à l'augmentation alors que les quantités de HVA et 3-MT tendaient à baisser. La DA tendait aussi à la diminution dans les portions dorsales du néostriatum dorsal. Les quantités de DA et métabolites dans les régions OB, Hip, Thal, Hyp, SN/VTA, BS et CB, démontraient de façon générale, une tendance à la baisse, à l'exception de l'Hyp (*tableau 3*) où l'on a observé une grande et discrète augmentation significative de la DA (+47.5%) ($P < 0.05$) accompagnée d'une tendance à

la hausse, mais non significative de la quantité de HVA alors que les autres métabolites demeuraient relativement stables. Dans les autres structures observées comme l'Acb, le spt ou l'Amyg où l'on a pu quantifier le 3-MT, ce métabolite démontrait une tendance générale à une légère diminution non significative.

En sommes, outre cette augmentation discrète de la DA dans l'Hyp, les circuits dopaminergiques semblaient avoir une distribution conservée chez la souche mutante.

Tableau 2. Distribution de la dopamine et ses métabolites dans les aires corticales et striatales des cerveaux de souris normales (+/+) et mutantes *Dystonia musculorum* (dt^J/dt^J).

Régions	Animaux	DA	DOPAC	HVA	3-MT
Cortex cérébral					
Cin	(+/+)	1.04 ± 0.16	1.10 ± 0.25	2.08 ± 0.31	n.d.
	(dt ^J /dt ^J)	1.29 ± 0.18	1.16 ± 0.27	2.10 ± 0.34	n.d.
Fro	(+/+)	1.64 ± 0.25	1.64 ± 0.24	1.92 ± 0.21	n.d.
	(dt ^J /dt ^J)	1.32 ± 0.23	1.41 ± 0.16	1.70 ± 0.17	n.d.
Par	(+/+)	2.00 ± 0.38	1.93 ± 0.34	1.92 ± 0.22	0.82 ± 0.13
	(dt ^J /dt ^J)	3.12 ± 0.42	1.67 ± 0.31	2.25 ± 0.33	0.72 ± 0.12
Tem	(+/+)	1.24 ± 0.32	1.36 ± 0.33	1.36 ± 0.34	n.d.
	(dt ^J /dt ^J)	1.36 ± 0.42	1.23 ± 0.27	1.23 ± 0.27	n.d.
Ent-Pir	(+/+)	1.24 ± 0.11	2.69 ± 0.49	1.92 ± 0.22	0.32 ± 0.08
	(dt ^J /dt ^J)	1.40 ± 0.17	2.54 ± 0.79	2.12 ± 0.43	0.53 ± 0.09
Vis	(+/+)	0.23 ± 0.03	0.66 ± 0.12	n.d.	n.d.
	(dt ^J /dt ^J)	0.28 ± 0.06	0.72 ± 0.13	n.d.	n.d.
Néostriatum					
rNSmd	(+/+)	77.46 ± 7.41	12.21 ± 1.76	10.24 ± 1.21	11.65 ± 1.82
	(dt ^J /dt ^J)	83.97 ± 13.63	16.22 ± 2.51	9.35 ± 1.40	9.29 ± 2.09
rNSmv	(+/+)	115.28 ± 9.52	26.01 ± 4.55	15.81 ± 2.18	10.08 ± 2.09
	(dt ^J /dt ^J)	117.77 ± 19.46	27.20 ± 4.29	13.25 ± 1.91	9.71 ± 1.70
rNSld	(+/+)	100.02 ± 12.92	25.14 ± 4.74	13.39 ± 1.69	9.73 ± 1.26
	(dt ^J /dt ^J)	95.99 ± 15.31	21.72 ± 4.42	10.48 ± 1.74	9.31 ± 1.89
rNSlv	(+/+)	112.22 ± 13.71	29.92 ± 5.22	15.16 ± 1.58	10.52 ± 1.74
	(dt ^J /dt ^J)	118.21 ± 17.95	31.31 ± 4.61	13.01 ± 1.93	9.76 ± 1.76
cNSd	(+/+)	60.01 ± 4.66	15.58 ± 3.21	9.03 ± 1.50	5.84 ± 1.19
	(dt ^J /dt ^J)	67.41 ± 13.49	15.31 ± 2.22	8.98 ± 1.36	6.67 ± 1.27
cNSv	(+/+)	70.15 ± 12.11	16.84 ± 2.43	12.07 ± 2.18	9.44 ± 2.02
	(dt ^J /dt ^J)	77.07 ± 13.94	21.80 ± 3.19	12.56 ± 1.88	9.36 ± 1.52

Les valeurs sont représentées en moyennes ± l'écart type (n = 6-8) (ng/mg p.); n.d. (non déterminé).

Tableau 3. Distribution de la dopamine et ses metabolites dans d'autres régions des cerveaux de souris normales (+/+) et mutantes *Dystonia musculorum* (dt^J/dt^J).

Régions animaux		DA	DOPAC	HVA	3-MT
OB	(+/+)	1.81 ± 0.42	2.29 ± 0.66	2.58 ± 0.20	0.71 ± 0.20
	(dt ^J /dt ^J)	1.63 ± 0.21	2.67 ± 0.28	2.05 ± 0.19	0.54 ± 0.63
Acb	(+/+)	70.37 ± 8.82	25.53 ± 4.96	10.36 ± 1.37	10.97 ± 0.96
	(dt ^J /dt ^J)	67.44 ± 9.05	23.26 ± 3.16	8.74 ± 1.23	7.82 ± 1.29
Spt	(+/+)	17.60 ± 2.90	6.46 ± 1.80	6.02 ± 1.04	3.34 ± 0.70
	(dt ^J /dt ^J)	17.20 ± 2.39	6.70 ± 1.22	4.55 ± 0.68	2.22 ± 0.23
Amyg	(+/+)	7.86 ± 0.97	5.42 ± 0.95	4.06 ± 0.48	1.77 ± 0.29
	(dt ^J /dt ^J)	10.08 ± 1.42	5.24 ± 1.03	3.72 ± 0.62	2.03 ± 0.27
Hip	(+/+)	0.72 ± 0.16	0.64 ± 0.48	1.16 ± 0.16	0.73 ± 0.13
	(dt ^J /dt ^J)	1.10 ± 0.18	1.03 ± 0.18	1.10 ± 0.14	0.51 ± 0.05
Thal	(+/+)	1.57 ± 0.37	2.01 ± 0.31	2.66 ± 0.31	0.61 ± 0.08
	(dt ^J /dt ^J)	2.25 ± 0.27	1.96 ± 0.38	2.93 ± 0.32	0.52 ± 0.06
Hyp	(+/+)	3.24 ± 0.32	3.39 ± 0.62	3.39 ± 0.25	0.60 ± 0.10
	(dt ^J /dt ^J)	4.78 ± 0.61*	3.88 ± 0.80	4.66 ± 0.42	0.70 ± 0.09
SN/VTA	(+/+)	3.05 ± 0.49	3.19 ± 0.47	3.90 ± 0.63	n.d.
	(dt ^J /dt ^J)	2.74 ± 0.43	3.01 ± 0.55	3.31 ± 0.42	n.d.
BS	(+/+)	0.45 ± 0.08	0.83 ± 0.14	1.00 ± 0.12	n.d.
	(dt ^J /dt ^J)	0.51 ± 0.06	0.99 ± 0.16	0.98 ± 0.17	n.d.
CB	(+/+)	0.33 ± 0.16	0.52 ± 0.12	0.20 ± 0.06	n.d.
	(dt ^J /dt ^J)	0.32 ± 0.07	0.37 ± 0.03	0.28 ± 0.05	n.d.

Les valeurs sont représentées en moyennes ± l'écart type (ng/mg p); (n = 6-8); n.d. (non déterminé).

La signification statistique des différences entre les souches de souris normales et mutantes a été déterminé par le test de t (Student t test); * P < 0.05.

II Distribution et Densité des Récepteurs Dopaminergiques

II-1 Récepteurs D₁

La distribution des récepteurs D₁ est illustrée dans les figures 3, 4, 5, 6 & 7 et les valeurs de leurs densités dans les structures anatomiques mesurées sont rapportées dans les *tableaux 4 et 5*.

Chez la souris normale, le néostriatum est de manière générale, la structure qui dispose du plus grand marquage au [³H]SCH23390, tant dans sa portion rostrale que dorsale (Fig. 3, 4 et 5). De plus, cette distribution au niveau striatale paraissait être en plaque tout en démontrant des gradients croissants rostro-caudal et latéro-médial discernable sur le autoradiogramme. Les quantités des récepteurs dans le néostriatum divisé en six portions pour des besoins expérimentales (voir section précédente), variaient entre 2156.6 ± 46.1 fmol/mgp dans le rNSlv et 1640.6 ± 16.1 dans le cNSd suivant le patron de distribution $rNSlv > rNSld > rNSmv > rNSmd > cNSv > cNSd$.

En dehors des aires striatales, l'Acb (Fig. 3), le Tu (Fig. 3 et 4) et la SN (Fig. 6) démontraient aussi des fortes intensités de marquage au [³H]SCH23390. Comparés aux autres structures intensément marquées par le [³H]SCH23390, on classait $NS > Tu > Acb > SN > IP$.

Les structures GP, Amyg et Spt, regroupées arbitrairement avec l'Acb, et le NS comme éléments des noyaux gris centraux, démontraient une distribution relativement modérée, parallèle à ce qui était observé dans les régions corticales où le marquage au [³H]SCH23390 était surtout modéré dans le Cin, le Fro et Pir (Fig. 3). On notait également des liaisons distinctes et homogènes dans le Cl (Fig. 3), Ent, EN, et Tem (Fig. 6). Des marquages évidents étaient observables dans les lignes profondes des aires corticales frontales et pariétales M1, M2, S1HL, S1FL, S1BF, et S2. Ces marquages étaient distincts et caractéristiques au néocortex (Fig. 4). Les valeurs des densités variaient entre 349.47 ± 13.74 fmol/mg p. dans le cortex EN et 113.25 ± 11.10 dans le cortex Par. La distribution des récepteurs D₁ suivait l'ordre $EN > Cl > Tem > Ent-Pir > Cin > Fro > Vis \sim Par$.

II Distribution et Densité des Récepteurs Dopaminergiques

II-1 Récepteurs D₁

La distribution des récepteurs D₁ est illustrée dans les figures 3, 4, 5, 6 & 7 et les valeurs de leurs densités dans les structures anatomiques mesurées sont rapportées dans les *tableaux 4 et 5*.

Chez la souris normale, le néostriatum est de manière générale, la structure qui dispose du plus grand marquage au [³H]SCH23390, tant dans sa portion rostrale que dorsale (Fig. 3, 4 et 5). De plus, cette distribution au niveau striatale paraissait être en plaque tout en démontrant des gradients croissants rostro-caudal et latéro-médial discernable sur le autoradiogramme. Les quantités des récepteurs dans le néostriatum divisé en six portions pour des besoins expérimentales (voir section précédente), variaient entre 2156.6 ± 46.1 fmol/mgp dans le rNSlv et 1640.6 ± 16.1 dans le cNSd suivant le patron de distribution $rNSlv > rNSld > rNSmv > rNSmd > cNSv > cNSd$.

En dehors des aires striatales, l'Acb (Fig. 3), le Tu (Fig. 3 et 4) et la SN (Fig. 6) démontraient aussi des fortes intensités de marquage au [³H]SCH23390. Comparés aux autres structures intensément marquées par le [³H]SCH23390, on classait $NS > Tu > Acb > SN > IP$.

Les structures GP, Amyg et Spt, regroupées arbitrairement avec l'Acb, et le NS comme éléments des noyaux gris centraux, démontraient une distribution relativement modérée, parallèle à ce qui était observé dans les régions corticales où le marquage au [³H]SCH23390 était surtout modéré dans le Cin, le Fro et Pir (Fig. 3). On notait également des liaisons distinctes et homogènes dans le Cl (Fig. 3), Ent, EN, et Tem (Fig. 6). Des marquages évidents étaient observables dans les lignes profondes des aires corticales frontales et pariétales M1, M2, S1HL, S1FL, S1BF, et S2. Ces marquages étaient distincts et caractéristiques au néocortex (Fig. 4). Les valeurs des densités variaient entre 349.47 ± 13.74 fmol/mg p. dans le cortex EN et 113.25 ± 11.10 dans le cortex Par. La distribution des récepteurs D₁ suivait l'ordre $EN > Cl > Tem > Ent-Pir > Cin > Fro > Vis \sim Par$.

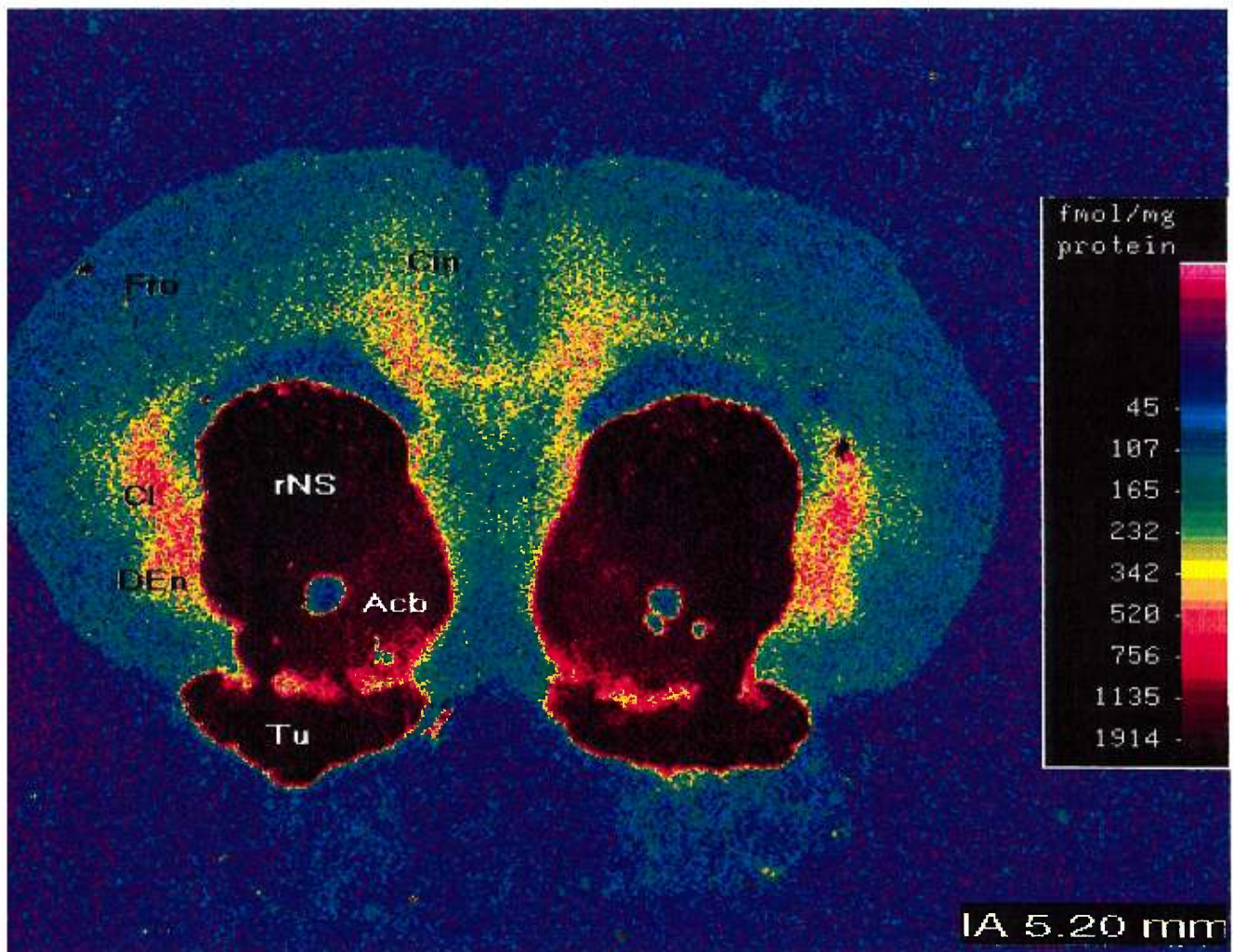


Figure 3. Distribution de la liaison du $[^3\text{H}]\text{SCH23390}$ aux récepteurs dopaminergiques D_1 dans une section du cerveau de la souris normale. L'autoradiogramme est d'une coupe rostrale du cerveau antérieur, à l' hauteur du plan interauriculaire (IA) 5.20 mm (Franklin and Paxinos, 1997), et passe à travers le néostriatum rostral (rNS), le tubercule olfactif (Tu) et le noyau accumbens (Acb), régions intensément marquées. La figure démontre aussi un marquage plus modéré dans les cortex cingulaire (Cin), frontal (Fro) et piriforme (Pir), ainsi que la liaison distincte et homogène du $[^3\text{H}]\text{SCH23390}$ aux récepteurs dopaminergiques D_1 dans le claustrum (Cl) et le noyau endopiriforme dorsal (DEn).

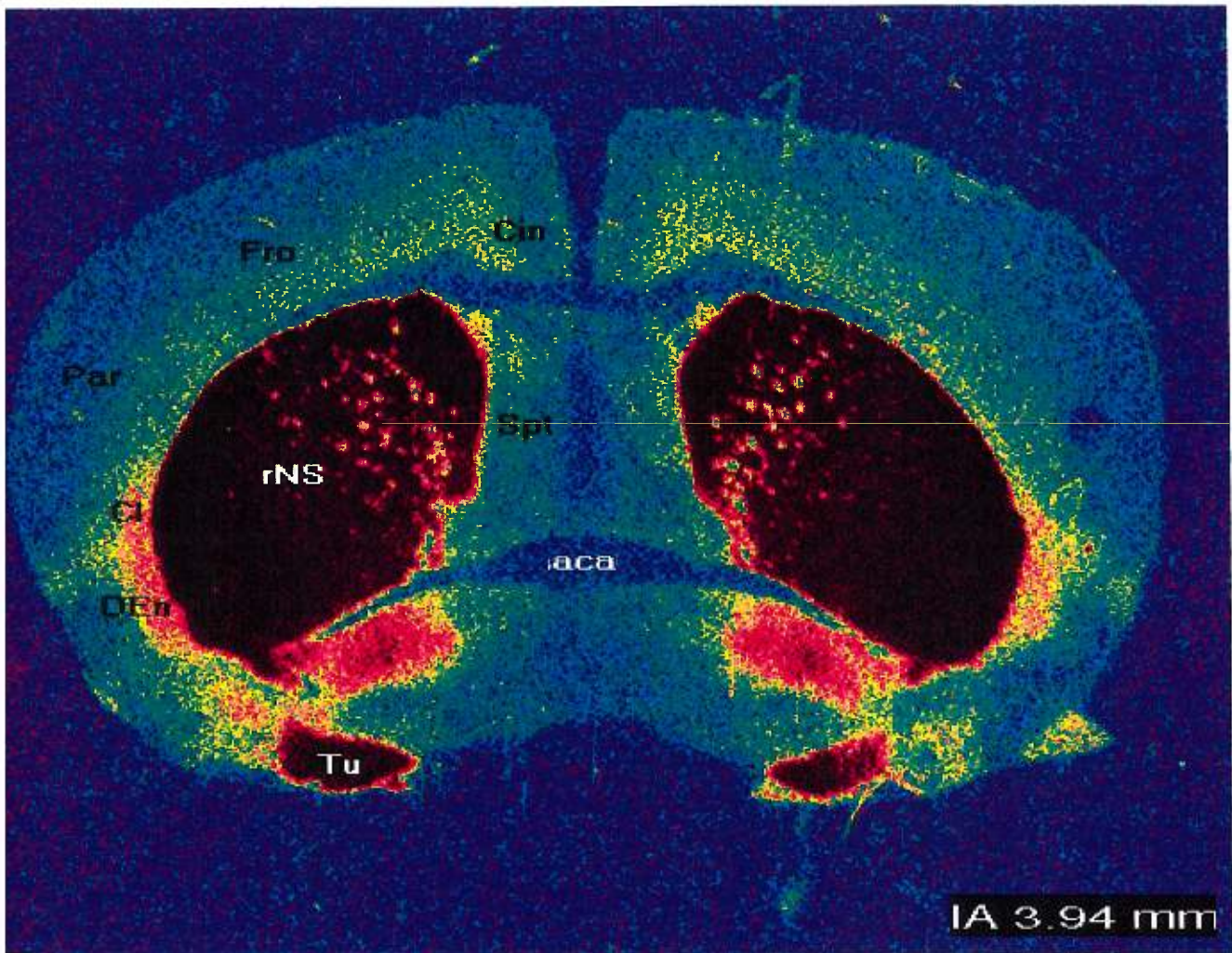


Figure 4. Au niveau de la commissure antérieure (aca), à l'hauteur du plan IA = 3.94 mm (Franklin and Paxinos, 1997), l'autoradiogramme montre le marquage des récepteurs dopaminergiques D₁ dans le tubercule olfactif (Tu), le néostriatum rostral (rNS) et le septum (Spt), ainsi que dans les aires corticales. Dans le rNS, le gradient croissant medio - latéral du marquage par le [³H]SCH23390 lié est bien discernable. Le marquage évident dans les couches profondes des aires M1 et M2 du cortex frontal (Fro) et des aires S1HL, S1FL, S1BF du cortex pariétal (Par), ainsi que dans l'aire S2, sont des caractéristiques distinctives de la distribution des récepteurs dopaminergiques D₁ dans le néocortex.

Pour des raisons expérimentales, nous avons arbitrairement défini les structures thalamiques, hypothalamiques et hippocampales comme faisant partie du diencephale et avons regroupé la substance noire et le noyau interpedonculaire dans le tronc cérébral. Aussi, en dehors des structures définies comme appartenant au tronc cérébral qui démontraient de grands marquages au [³H]SCH23390, les autres structures comme le thal, l'hyp (Fig. 6) démontraient des marquages clairsemés et hétérogènes par endroit. l'hypothalamus par exemple, démontrait un gradient medio-lateral alors que dans l'hippocampe les structures marquées démontraient une distribution homogène parallèle aux densités corticales. Le CB (46.80 ± 5.86) présentait le plus faible marquage. Au total, ce restant du cerveau de la souris normale (*tableau 5*) présentait la classification suivante: Hippocampe > Hypothalamus > Thalamus > cervelet. D'autre part, la région du VTA démontrait un marquage extrêmement clairsemé (Fig. 6) et la quantification des récepteurs D₁ dans cette région était proche de la densité de référence ou background (résultat non montré).

En comparaison avec le marquage du cerveau de la souris normale, la souris mutante présentait des quantités de récepteurs augmentées dans la portion rostrale et semblaient relativement stables dans la portion caudale. Ainsi, l'on observait une distribution suivant rNSlv > rNSld > rNSmd > rNSmv > cNSv > cNSd. D'autres tendances à l'augmentation ont été observées dans les aires corticales et du Tu, le CB, et la SN. Quelques baisses ont été aussi enregistrées notamment dans les régions lHy, IP, et dans toutes les structures de l'hippocampe.

Toutefois, tous ces changements étaient non significatifs sauf dans les portions dorsales du striatum rostral (rNSmd et rNSld) où l'on a observé une augmentation homogène (+16%) (* $p < 0.05$) des récepteurs D₁; ainsi que dans le thalamus où cette augmentation des récepteurs D₁ était de (+27%) (** $P < 0.01$). Les différents changements obtenus représentent des altérations au niveau de la densité des récepteurs et non des anomalies dues à l'affinité au [³H]SCH23390 (Reader et al., 1989).

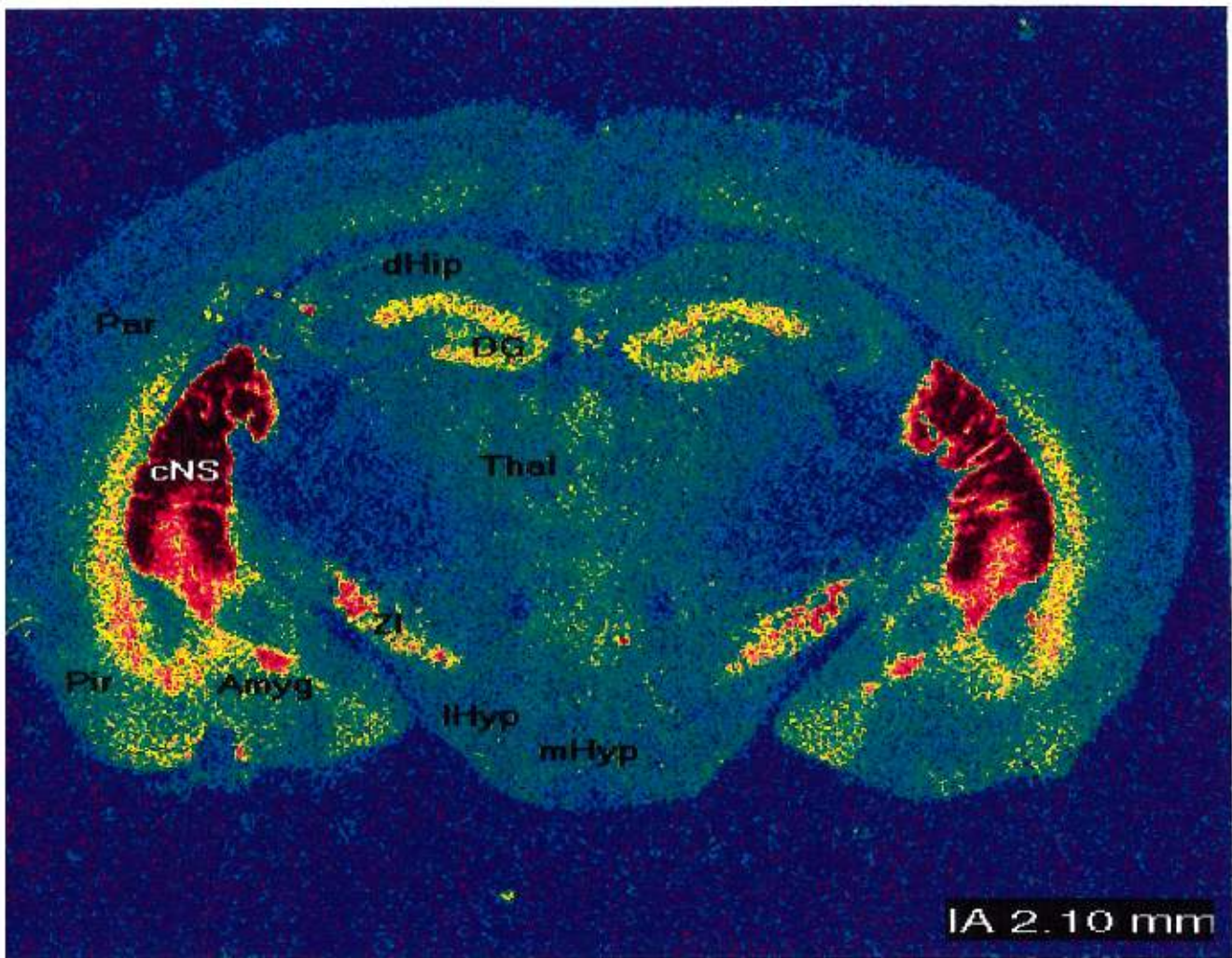


Figure 5. L'autoradiogramme d'une coupe au niveau du plan IA = 2.10 mm (Franklin and Paxinos, 1997) illustre la distribution des récepteurs dopaminergiques D_1 dans l'hippocampe dorsal (dHip), le thalamus (Thal), l'hypothalamus médian (mHyp) et latéral (IHyp), et l'amygdale (Amyg). Les plus grandes densités de marquage sont observées dans la zona incerta (ZI) et dans le néostriatum caudal (cNS), divisé en deux composantes à savoir: une partie ventrale (cNSv) et une partie dorsale (cNSd). Toutefois, le marquage dans la ZI n'a pas été quantifié dans cette étude. Dans le dHip, le marquage modéré du gyrus dentelé (DG) est légèrement plus important que dans les autres divisions de cette structure. Dans le Thal et l'Hyp, le marquage des récepteurs dopaminergiques D_1 par le [3H]SCH23390 était hétérogène, mais clairsemé.

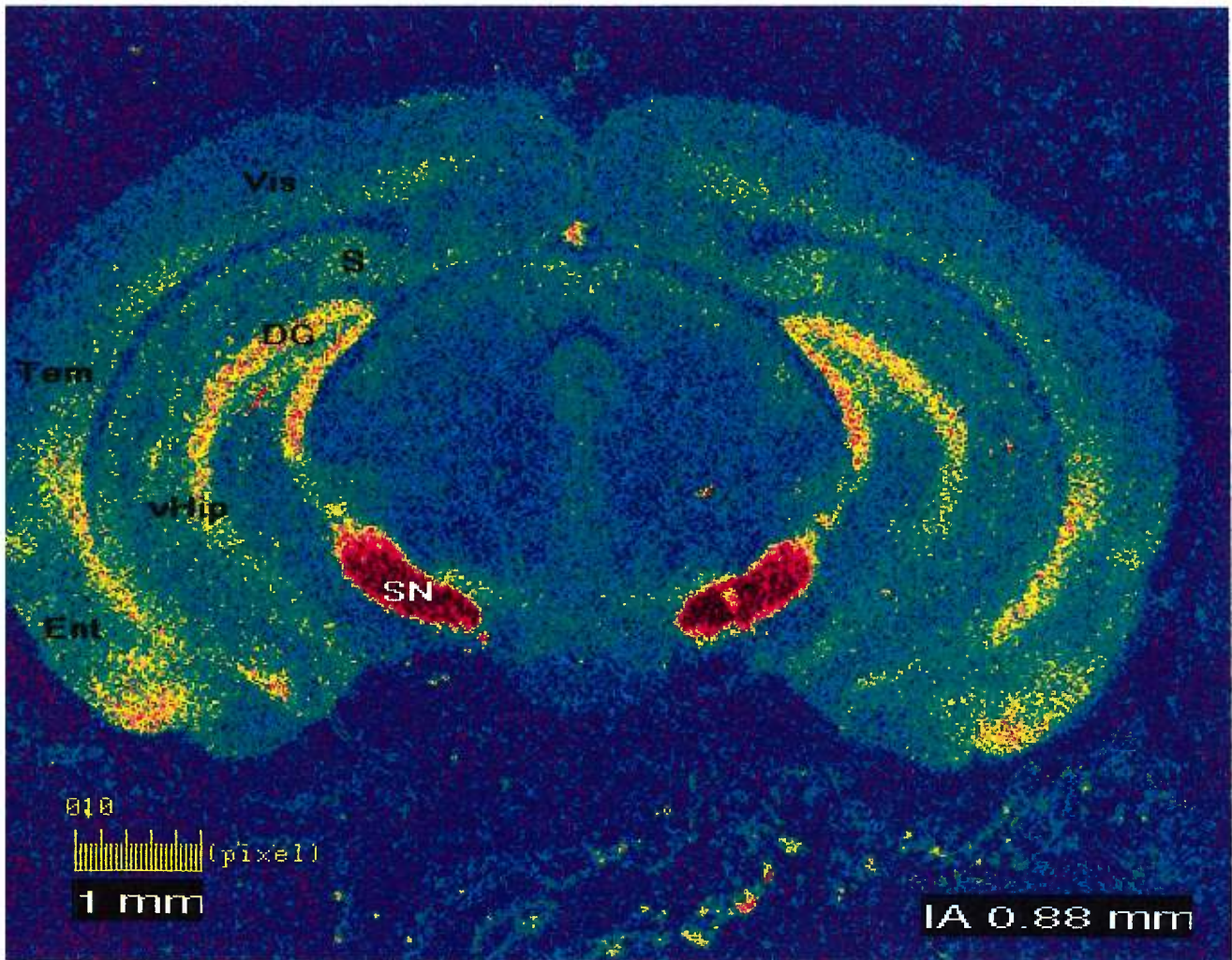


Figure 6. L'hippocampe ventral (vHip) et le mésencéphale sont illustrés dans cet autoradiogramme d'une coupe au niveau du plan AI = 0.88 mm (Franklin and Paxinos, 1997). On note un marquage intense dans la substance noire (SN) et dans l'aire tegmentaire ventrale (VTA), tandis que dans les corps mammillaires (MM) de la région hypothalamique postérieure la liaison est beaucoup plus faible. Dans le cortex entorhinal (Ent), le marquage par le $[^3\text{H}]$ SCH23390 est plus important que dans les structures avoisinantes, notamment le noyau amygalien cortical postéromédial (PMCo) et l'aire visuelle (Vis), mais est à peu près le même que dans le cortex temporal (Tem).

Figure 7. Distribution des récepteurs dopaminergiques D₁, marqués par le [³H]SCH23390, dans les coupes du cerveau de la souris normale.

A) L'autoradiogramme d'une coupe du cerveau antérieur au niveau du plan IA 5.20 mm (Franklin and Paxinos, 1997) à travers le rNS, le Tu et l'Acb, régions intensément marquées, démontre aussi un marquage modéré dans les cortex Cin, Fro et Pir, ainsi que des liaisons distinctes dans le Cl et le DEn.

B) Au niveau de la commissure antérieure (IA = 3.94 mm) l'autoradiogramme montre le Tu, le rNS, le Spt et les aires corticales. Dans le rNS, le gradient croissant medio - latéral du marquage par le [³H]SCH23390 est discernable. Le marquage est aussi évident dans les couches profondes des aires M1 et M2 du cortex Fro, et dans les aires S1HL, S1FL, S1BF du cortex Par, ainsi que dans l'aire S2, sont les caractéristiques distinctives du néocortex.

C) L'autoradiogramme d'une coupe au niveau du plan IA = 2.10 mm illustre les structures dHip, Thal, Hyp, et Amyg. Les plus grandes densités de marquage ont été observées dans la ZI et dans le cNS, divisé ici en deux composantes: une partie ventrale (cNSv) et une partie dorsale (cNSd). Toutefois, le marquage dans la ZI n'a pas été quantifié. Dans le dHip, le marquage modéré du DG est légèrement plus élevé que dans les autres divisions de cette structure. Dans le Thal et l'Hyp, le marquage par le [³H]SCH23390 était hétérogène mais clairsemé.

D) Le vHip et le cerveau médian sont présentés dans cet autoradiogramme d'une coupe au niveau du plan AI = 0.88 mm. On note le marquage intense dans la SN et le VTA. Dans le cortex Ent, le marquage des récepteurs dopaminergiques D₁ par le [³H]SCH23390 est plus élevé que dans les structures avoisinantes, comme PMCo et l'aire Vis, mais à peu près le même que dans le cortex Tem.

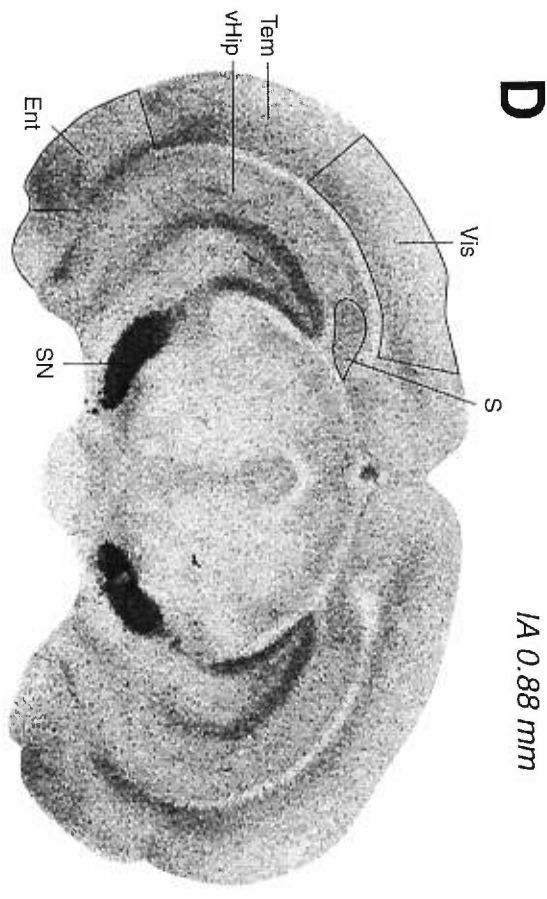
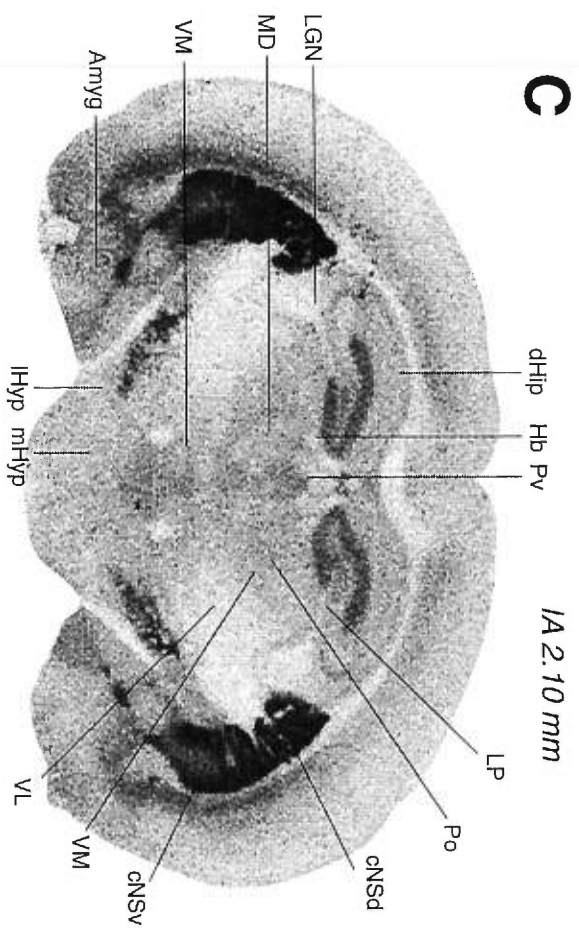
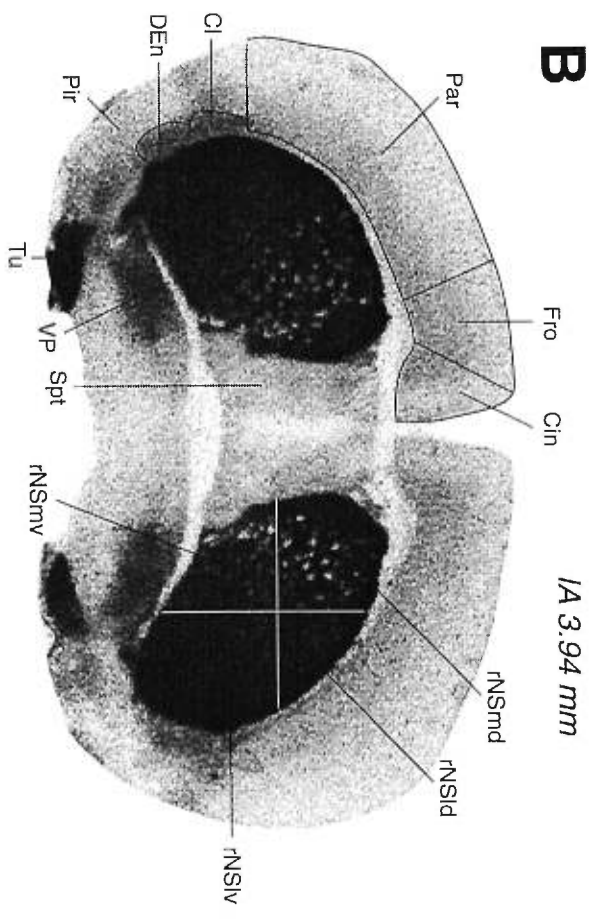
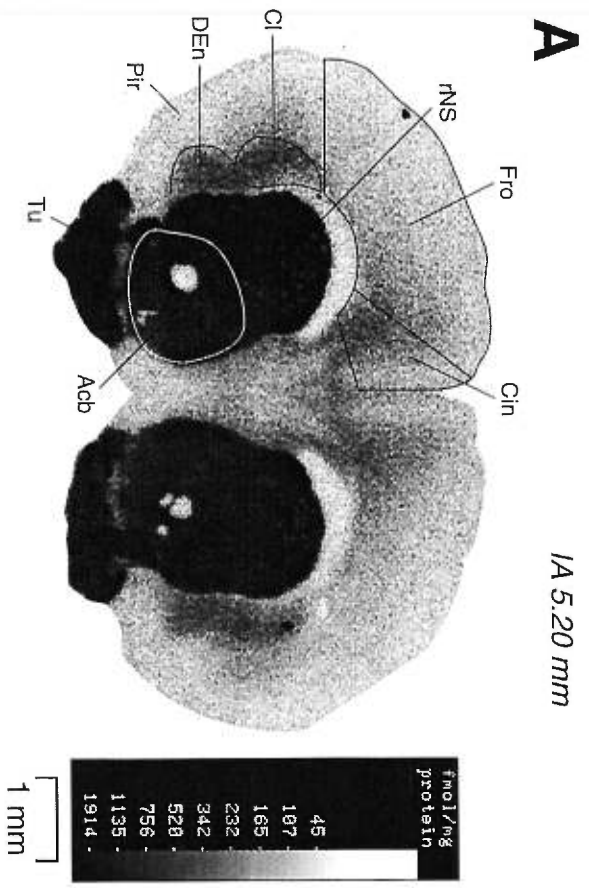


Tableau 4. Densité des récepteurs D₁ marqués avec du [³H]SCH23390 dans le cortex, les noyaux gris centraux et le tubercule olfactif des cerveaux de souris normales (+/+) et mutantes *Dystonia musculorum* (dt^J/dt^J).

<i>Structure</i>	<i>Région</i>	(+/+) (fmol/mg protein)	(dt ^J /dt ^J) (fmol/mg protein)
Cortex			
Cingulaire	Cin	167.74 ± 24.00	191.43 ± 13.08
Frontal	Fro	116.27 ± 8.05	121.06 ± 8.56
Parietal	Par	113.25 ± 11.10	129.88 ± 5.09
Temporal	Tem	208.90 ± 14.20	190.88 ± 17.35
Entorhinal-Piriform	Ent-Pir	182.71 ± 8.90	210.65 ± 11.98
Visual	Vis	114.50 ± 16.37	116.12 ± 11.01
Endopiriform	EN	349.47 ± 13.74	335.37 ± 10.00
Clastrum	Cl	251.77 ± 35.3	259.36 ± 11.2
Noyaux gris centraux			
<i>Neostriatum</i>			
<i>division rostrale</i>			
medio-dorsale	rNSmd	1781.1 ± 20.8	2064.4 ± 80.4 *
medio-ventrale	rNSmv	1806.3 ± 67.0	1938.8 ± 85.4
latéro-dorsale	rNSld	2012.6 ± 64.6	2335.8 ± 80.3 *
latéro-ventrale	rNSlv	2156.6 ± 46.1	2355.4 ± 116.3
<i>division caudale</i>			
dorsale	cNSd	1640.6 ± 16.1	1568.9 ± 100.6
ventrale	cNSv	1742.8 ± 66.5	1744.0 ± 128.9
Noyau accumbens	Acb	1143.0 ± 21.4	1102.8 ± 135.4
Septum	Spt	127.16 ± 15.4	157.21 ± 16.3
Globus pallidus	GP	273.88 ± 5.14	282.12 ± 19.3
Amygdale	Amyg	310.06 ± 63.5	329.89 ± 25.9
Système olfactif			
Tubercule olfactif	Tu	1522.0 ± 62.6	1619.2 ± 91.2

Les valeurs sont représentées en moyennes ± l'écart type; (n = 4); exprimées en femtomoles par milligramme de protéine (fmol/mg p). La signification statistique des différences entre les souches de souris normales et mutantes a été déterminé par le test de t (Student t test); * P < 0.05.

Tableau 5. Densités des récepteurs Dopaminergiques D₁ dans le cerveau median, le tronc cerebral et le cervelet des cerveaux de souris normales (+/+) et mutantes *Dystonia musculorum* (dt^J/dt^J).

<i>Structure</i>	<i>Region</i>	(+/+) (fmol/mg protein)	(dt ^J /dt ^J) (fmol/mg protein)
Diencephale			
Thalamus			
Thalamus total	Thal	93.06 ± 5.84	118.48 ± 2.0**
Hypothalamus			
medial	mHyp	106.41 ± 5.30	105.10 ± 8.31
lateral	lHyp	92.78 ± 6.51	81.27 ± 3.07
Hippocampus			
dorsal	dHip	141.53 ± 8.76	137.29 ± 7.96
Dentate gyrus	DG	164.55 ± 12.00	157.98 ± 4.76
ventral	vHip	148.10 ± 22.54	128.97 ± 5.16
Subiculum	S	129.79 ± 13.90	109.40 ± 10.79
Tronc cerebral			
Substantia nigra	SN	1000.9 ± 113.3	1005.9 ± 23.1
Interpeduncular nucleus	IP	543.80 ± 43.03	497.32 ± 40.91
Cervelet			
Cervelet total	CB	46.80 ± 5.86	57.07 ± 1.87

Les valeurs sont représentées en moyennes ± l'écart type; (n = 4); exprimées en femtomoles par milligramme de protéine (fmol/mg p). La signification statistique des différences entre les souches de souris normales et mutantes a été déterminé par le test de t (Student t test); ** P < 0.01.

II-2 Récepteurs D₂

La distribution des récepteurs D₂ (Fig. 8, 9, 10, 11 et 12) était densifiée dans le *tableau 6* où nous avons arbitrairement défini les structures striatales et l'accumbens comme éléments des noyaux gris centraux et le Tu en élément système olfactif.

Dans le striatum (Fig. 8, 9 et 10) de la souris sauvage, le [³H]raclopride démontrait un marquage intense relativement hétérogène et en plaque, en accord avec ce qui a été rapporté chez d'autres espèces (Boyson et al., 1986; Nobrega et al., 1996; et Camps et al., 1990). Les densités prélevées variaient entre 429.07 ± 29.21 dans le rNSlv et 292.82 ± 11.19 dans le rNSmv démontrant des gradients croissants caudo-rostral, ventro-dorsal et latero-médial dans le néostriatum rostral (Fig. 8 et 9). Dans la partie caudale du néostriatum (Fig. 10), on notait un gradient croissant ventro-caudal.

Au total, le patron de distribution du [³H]raclopride suivait rNSlv ~ cNSv > rNSld > cNSd > rNSmd > rNSmv.

Les autres marquages du [³H]raclopride concernaient les régions du Tu et de l'Acb (Fig. 8) mais en quantités relativement faibles (*tableau 6*). D'autres structures comme le sept (Fig. 9), le thal, le GP (Fig. 10), l'Hip et l'Hyp présentaient un marquage clairsemé mais qui constituaient aussi des récepteurs dopaminergique de type D₂ que nous n'avons malheureusement pas quantifié. Au total, les régions quantifiées présentaient le patron: NS > Tu > Acb

Chez la souris mutante, la distribution des récepteurs dopaminergiques D₂ suivait les mêmes patrons que ceux de la souris normale. D'autre part, en comparaison avec ce qui a été observé chez les souris normales, les récepteurs D₂ démontraient une tendance générale à augmenter dans toutes les régions du cerveau de la souris mutante. Toutes ces augmentations étaient non significatives, excepté dans les portions médio - latérale (+32%) (P < 0.01) et latero - dorsale (+17%) (P < 0.05) du striatum rostrale. Les différents changements obtenus représentent des altérations au niveau de la

densité des récepteurs et non des anomalies dûes à l'affinité au [³H]raclopride (Reader et al., 1992).

Toutefois, la densité des récepteurs D₂ était de 4 à 7 fois moins importante que la densité des récepteurs D₁ dans les mêmes régions (voir tableau 7), en accord avec ce qui a été rapporté pour d'autres espèces animales (Boyson et al., 1986; Dawson et al., 1986; Nunes et al., 1994; et Nobrega et al., 1996). Le rapport le plus important chez la souris normale a été observé dans le Tu (7.70) alors que la plus faible, dans le cNSv (4.12). Chez la souris mutante, ces rapports tendaient généralement à diminuer, mais sans entraîner des changements significatifs.

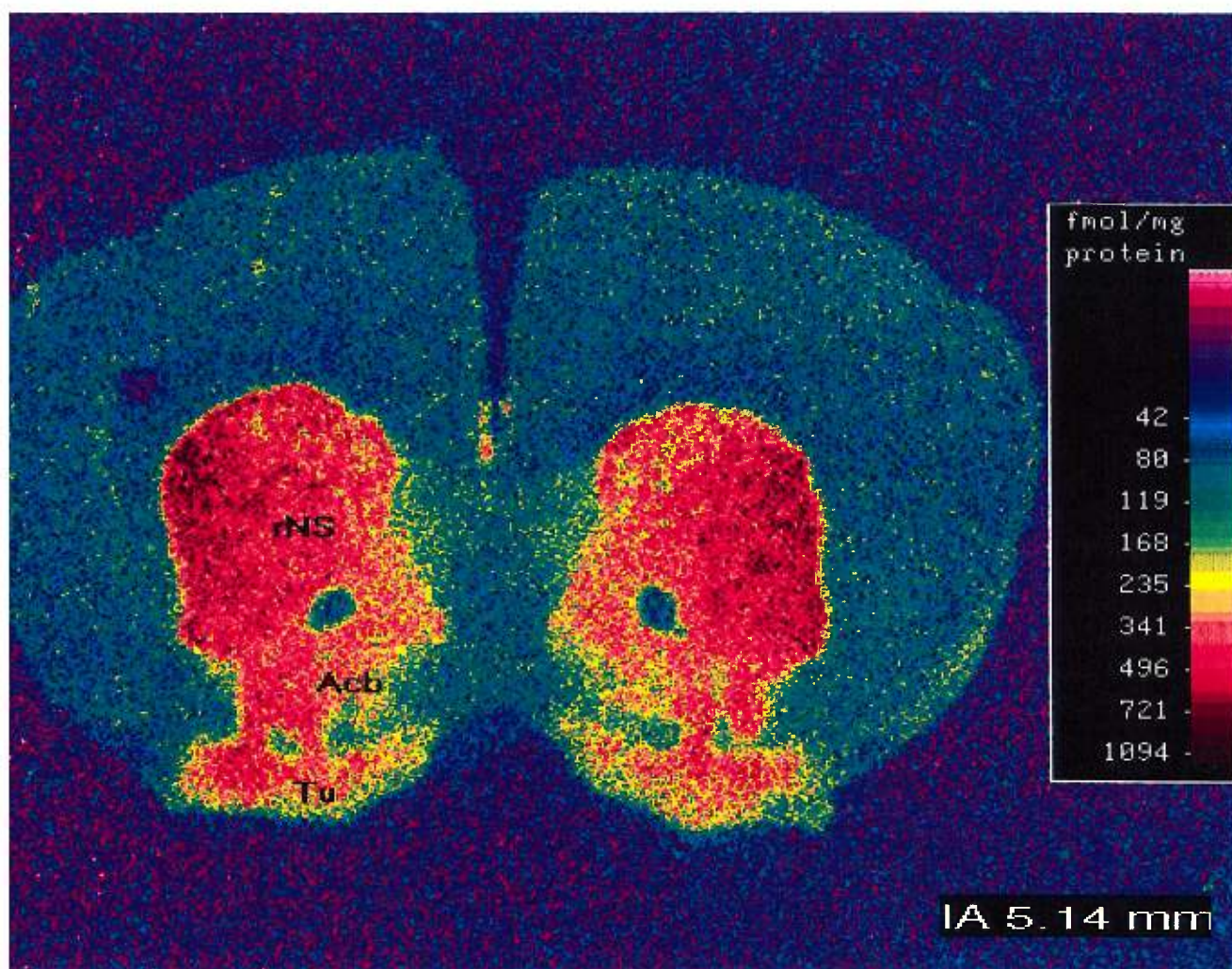


Figure 8. Distribution de la liaison du [^3H]raclopride aux récepteurs dopaminergiques D_2 dans une coupe de cerveau chez la souris normale. L'autoradiogramme est d'une coupe rostrale du cerveau antérieur au niveau du plan IA 5.14 mm (Franklin and Paxinos, 1997), et illustre le marquage des récepteurs D_2 dans le néostriatum rostral (rNS), le tubercule olfactif (Tu) et le noyau accumbens (Acb).

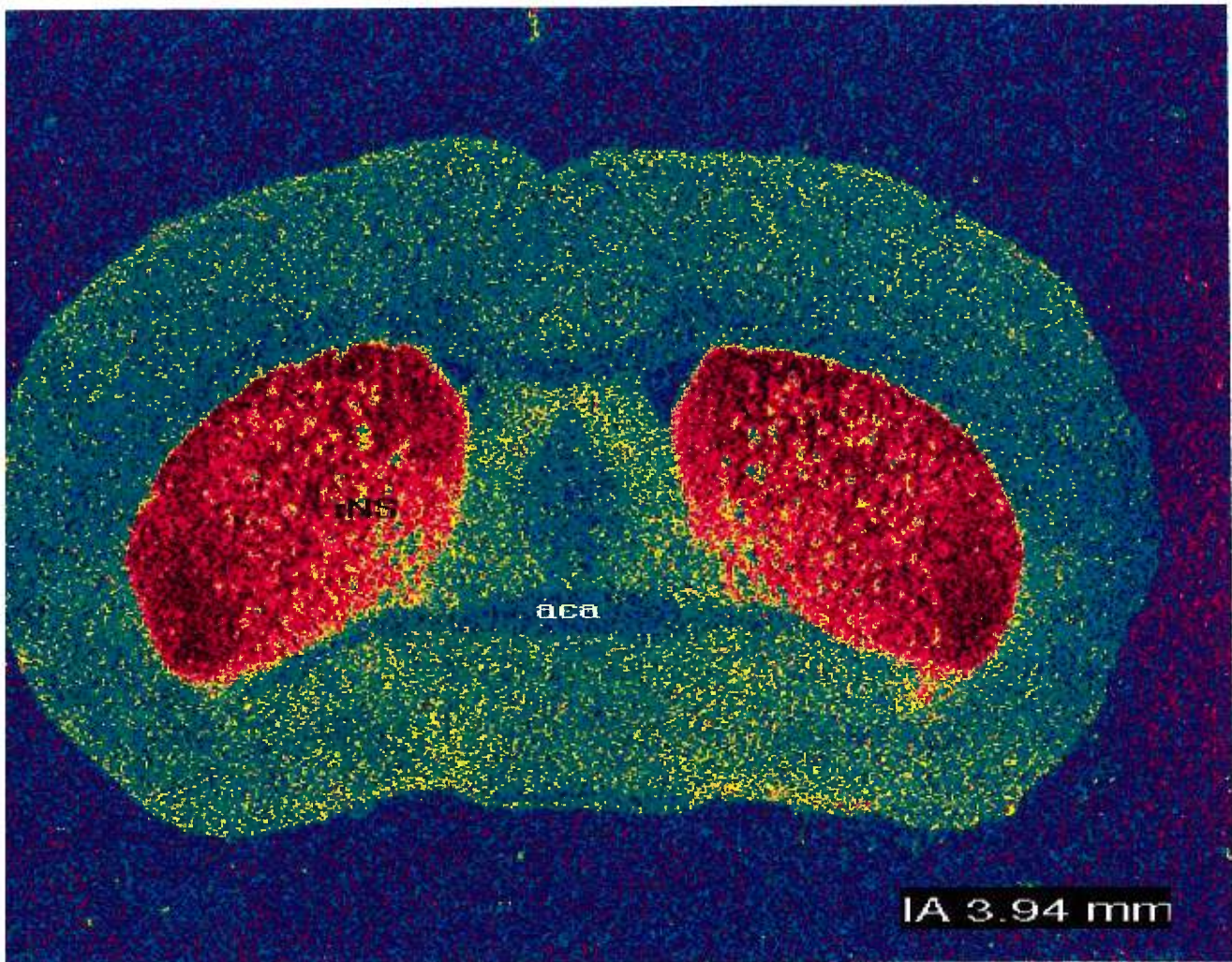


Figure 9. Au niveau de la commissure antérieure (aca), à l' hauteur du plan IA = 3.94 mm (Franklin and Paxinos, 1997), l' autoradiogramme démontre un marquage intense dans le néostriatum rostral (rNS), mais aussi dans le septum (Spt) et le pallidum ventral (non quantifié). On remarque aussi dans le rNS, un gradient croissant médio - latéral dans la liaison du [³H]raclopride aux récepteurs dopaminergiques D₂, et qui est distinctif de cette structure.

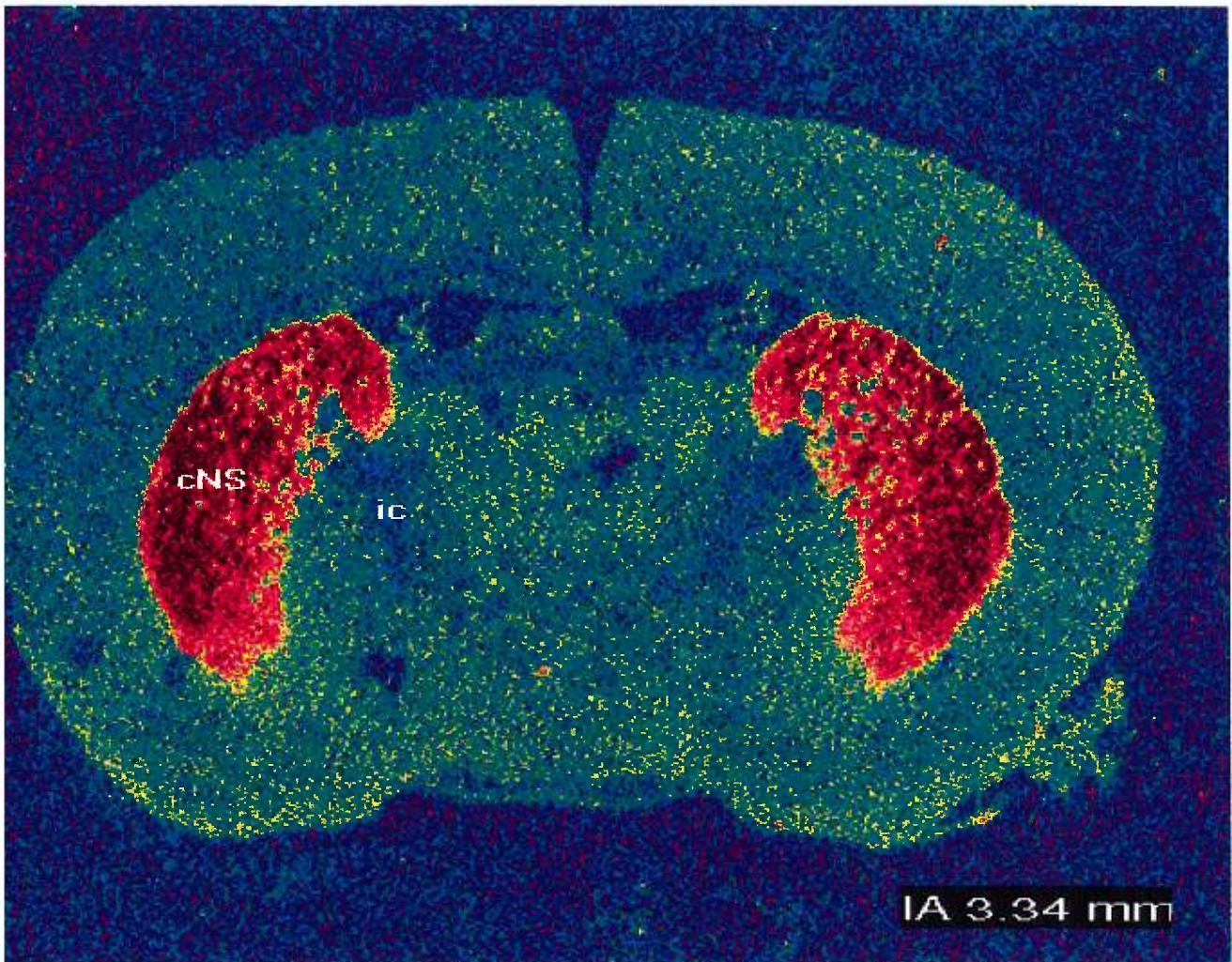


Figure 10. L'autoradiogramme d'une coupe au niveau de la capsule interne (ic), à l' hauteur du plan IA = 3.34 mm (Franklin and Paxinos, 1997) illustre le néostriatum caudal (cNS), divisé en une moitié dorsale (cNSd) et une moitié ventrale (cNSv). Il y avait aussi quelques sites de marquage clairsemés dans le thalamus (Thal) et le globus pallidus (GP), non quantifiés dans cette étude.

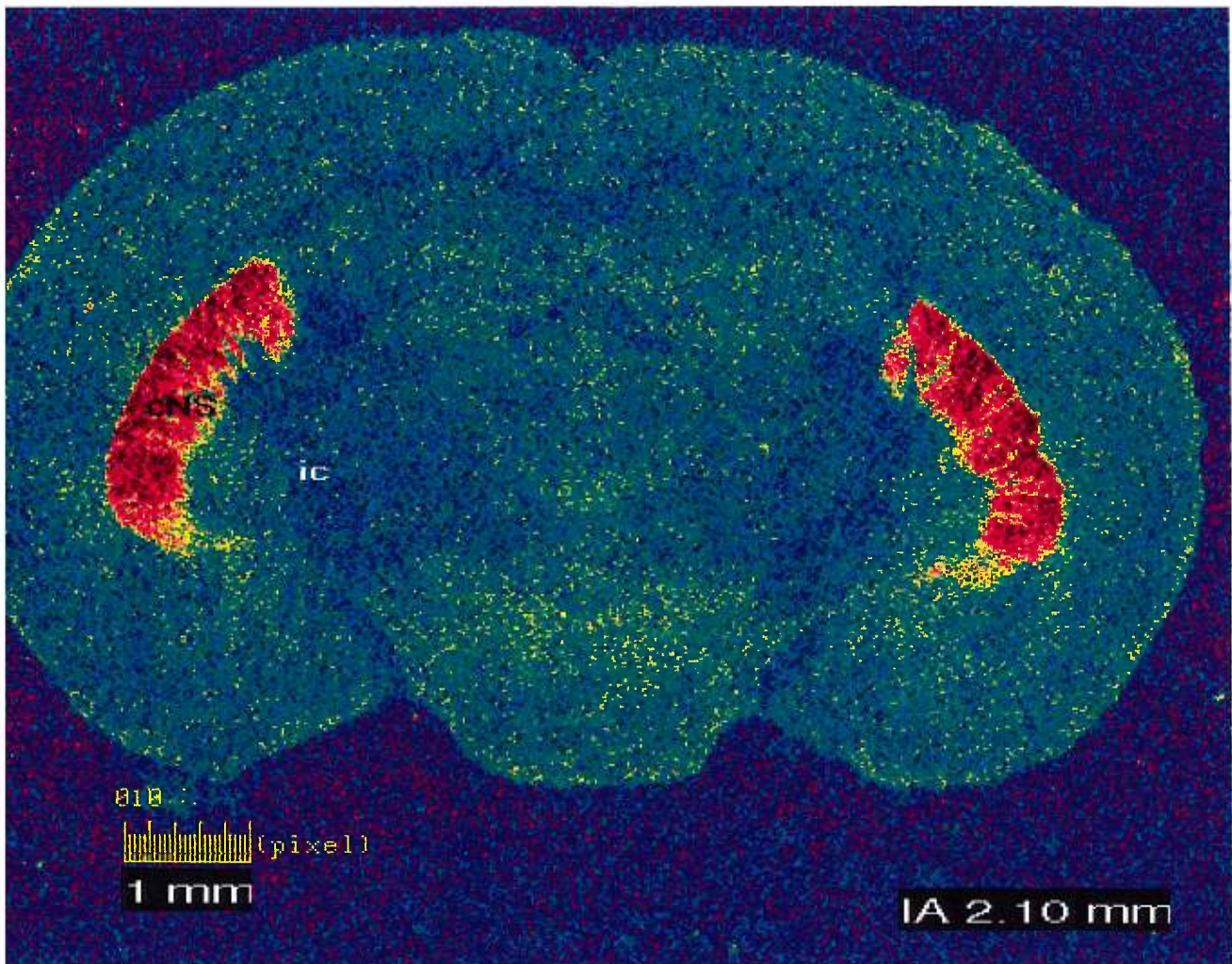


Figure 11. L'hippocampe dorsal (dHip) et le cerveau médian sont présentés dans l'autoradiogramme obtenu d'une coupe au niveau du plan IA = 2.10 mm. (Franklin and Paxinos, 1997). On note l'intense marquage des récepteurs dopaminergiques D₂ par le [³H]raclopride dans les parties les plus caudales du néostriatum, ainsi qu'un marquage très clairsemé dans le thalamus (Thal), le dHip et l'hypothalamus (Hyp); ces dernières structures n'ont pas été quantifiés lors de cette étude.

ic = capsule interne.

Figure 12. Distribution des récepteurs dopaminergiques D_2 , marqués par le [3H]raclopride, dans les coupes de cerveau de la souris normale.

A) L'autoradiogramme d'une coupe du cerveau antérieur au niveau du plan IA 5.14 mm (Franklin and Paxinos, 1997) illustre le marquage des récepteurs dopaminergiques D_2 dans le rNS, le Tu et l'Acb.

B) Au niveau de la commissure antérieure (IA = 3.94 mm) l'autoradiogramme démontre un marquage dans le rNS, mais aussi dans le Spt et le pallidum ventral (non quantifié). On note dans le rNS, un gradient croissant médio - latéral des récepteurs dopaminergiques D_2 , marqués par le [3H]raclopride.

C) L'autoradiogramme d'une coupe au niveau du plan IA = 3.34 mm illustre le cNS, divisé en moitiés dorsale (cNSd) et ventrale (cNSv). Il y avait aussi quelque marquage clairsemé dans le Thal et le GP (non quantifiés).

D) Le dHip et le cerveau médian sont présentés dans l'autoradiogramme obtenu d'une coupe au niveau du plan IA = 2.10 mm. On note le marquage intense des récepteurs dopaminergiques D_2 par le [3H]raclopride dans les parties les plus caudales du néostriatum, et un marquage très clairsemé dans le Thal, le dHip et le Hyp (non quantifiés).

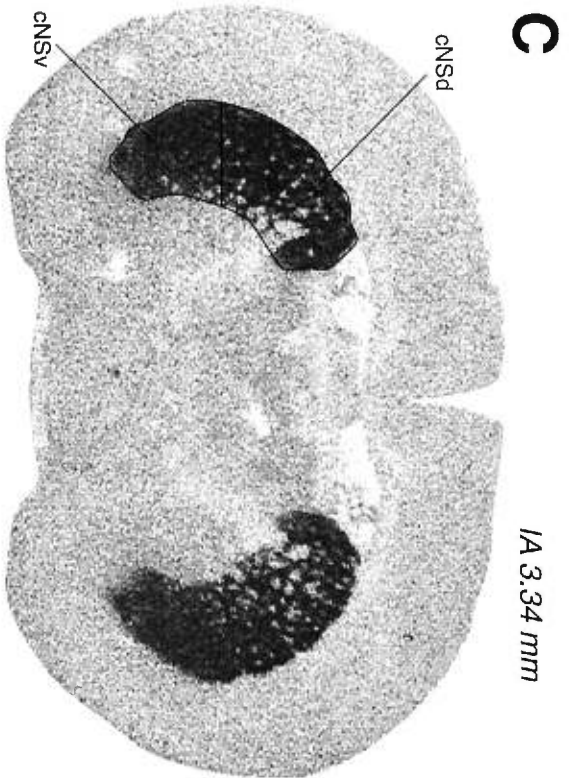
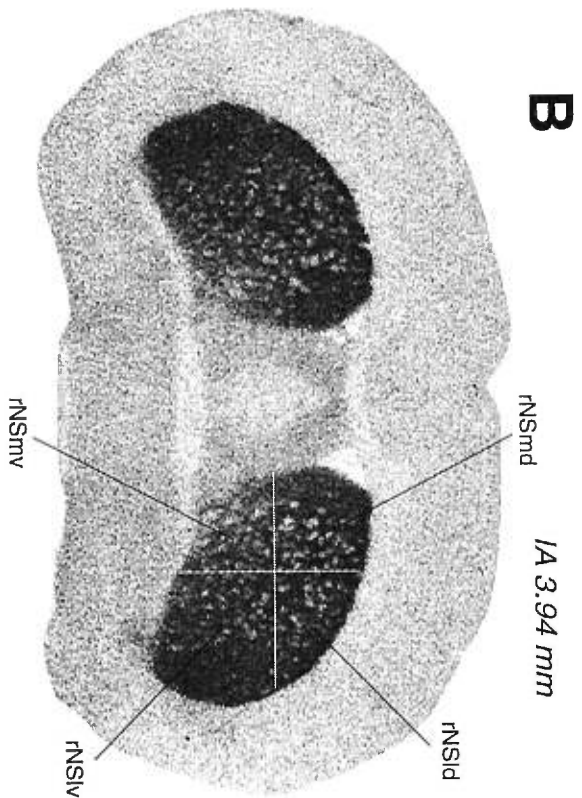
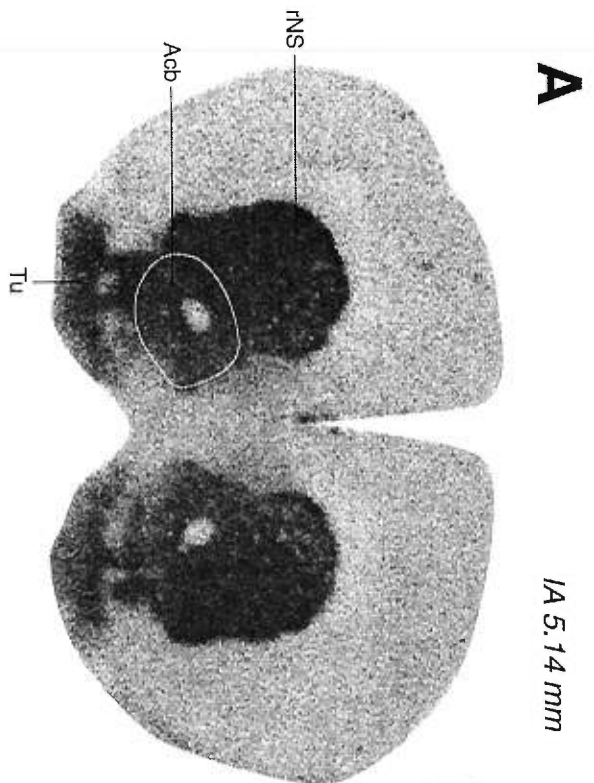


Tableau 6: Densité des récepteurs D₂ dans les régions des noyaux gris centraux et du système olfactif des cerveaux de souris normales (+/+) et mutantes *Dystonia musculorum* (dt^J/dt^J).

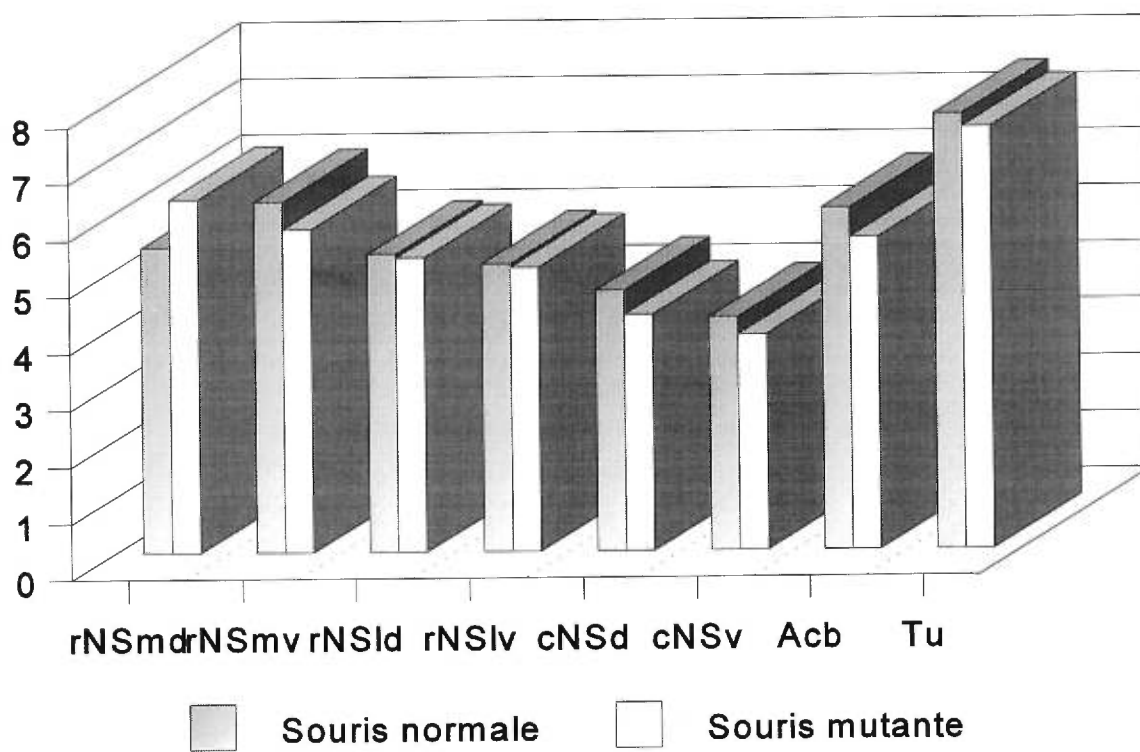
<i>Structure</i>	<i>Région</i>	(+/+) (fmol/mg protein)	(dt ^J /dt ^J) (fmol/mg protein)
Noyaux gris centraux			
<i>Neostriatum</i>			
<i>division rostrale</i>			
medio-dorsale	rNSmd	312.21 ± 12.58	333.74 ± 18.33
medio-ventrale	rNSmv	292.82 ± 11.19	386.24 ± 9.83**
latéro-dorsale	rNSld	383.08 ± 16.28	449.48 ± 10.38*
latéro-ventrale	rNSlv	429.07 ± 29.21	470.22 ± 20.01
<i>division caudale</i>			
dorsale	cNSd	359.69 ± 16.87	378.21 ± 15.96
ventrale	cNSv	422.93 ± 6.21	456.36 ± 14.36
Noyaux accumbens	Acb	193.19 ± 16.26	198.60 ± 101.25
Système olfactif			
Tubercule olfactif	Tu	205.43 ± 24.61	218.51 ± 18.30

Les valeurs sont représentées en moyennes ± l'écart type; (n = 4); exprimées en femtomoles par milligramme de protéine (fmol/mg p). La signification statistique des différences entre les souches de souris normales et mutantes a été déterminé par le test de t (Student t test); *P < 0.05**; P < 0.01

Tableau 7: Proportions relatives des récepteurs D₁ et D₂ dans le neostriatum, le noyau accumbens et le tubercule olfactif des cerveaux de souris normales (+/+) et mutantes *Dystonia musculorum* (dt^J/dt^J).

Structures	Regions	(+/+) D ₁ /D ₂	(dt ^J /dt ^J) D ₁ /D ₂
Neostriatum			
<i>division rostrale</i>			
medio-dorsale	rNSmd	5.46 ± 0.20	6.25 ± 0.46
medio-ventrale	rNSmv	6.20 ± 0.33	5.71 ± 0.28
latéro-dorsale	rNSld	5.27 ± 0.22	5.20 ± 0.27
latéro-ventrale	rNSlv	5.08 ± 0.29	5.02 ± 0.25
<i>division caudale</i>			
dorsale	cNSd	4.60 ± 0.26	4.17 ± 0.34
ventrale	cNSv	4.12 ± 0.00	3.81 ± 0.20
Noyau accumbens			
Noyau accumbens	Acb	6.04 ± 0.52	5.52 ± 0.58
Systeme olfactif			
Tubercule olfactif	Tu	7.70 ± 0.85	7.47 ± 0.29

Représentation graphique du tableau 7



CHAPITRE QUATRE
DISCUSSION

La présente étude radioautographique est à notre avis, la première qui a été réalisée pour cartographier et quantifier les récepteurs dopaminergiques en relation avec les contenus endogènes en DA et ses principaux métabolites DOPAC, 3-MT et HVA chez la souris mutante *Dystonia musculorum*.

I/ Considérations Méthodologiques

Nous avons procédé au dosage des monoamines à l'aide de l'HPLC; cartographié et quantifié la densité des récepteurs par la technique de radioautographie quantitative (Young et Kuhar, 1979).

Les résultats obtenus à partir de l'HPLC ont permis d'établir des coefficients de corrélation dont l'importance était liée à la présence de la DA dans les tissus. En effet, dans les aires où les quantités de DA étaient faibles et où il y avait une innervation noradrénergique, on pouvait se demander si la DA mesurée était le neurotransmetteur ou simplement un précurseur contenu dans les neurones noradrénergiques.

Afin d'établir une relation entre le contenu tissulaire de la DA et des métabolites dopaminergiques mesurés, nous avons représenté graphiquement (graphiques non présentés) les concentrations tissulaires de chaque métabolite en fonction des concentrations de la DA que nous avons mesuré dans les tissus du SNC des souris de souche normale et mutante. De ces représentations, nous avons déterminé les différents coefficients de corrélation (r).

Ainsi, pour les souris de souche contrôle, les représentations de [DOPAC] vs [DA], [HVA] vs [DA] et [3-MT] vs [DA] étaient linéaires et les coefficients de corrélations obtenus étaient respectivement 0.969, 0.980 et 0.940.

Chez la souche mutante, ces représentations étaient aussi linéaires et les coefficients de corrélations pris dans le même ordre que pour la souche normale étaient respectivement de 0.978, 0.967, 0.977.

Tels qu'observés, nos résultats démontraient fortement que nous avons mesuré le neurotransmetteur lui-même et non le précurseur de la noradrénaline. De plus, les coefficients de corrélation obtenus entre la NA et chacune des composantes métaboliques dopaminergiques, y compris la DA elle-même (résultats non présentés) n'étaient pas proche de 1 et les courbes n'étaient pas non plus linéaires.

Le choix des ligands utilisés pour la radioliation a été influencé par leur disponibilité, fiabilité, coût et efficacité. Ainsi, avec la disponibilité des benzazepines sélectifs aux récepteurs D₁ qui agissent soit en antagoniste comme le [³H]SCH23390 (Billard et al., 1984; et Reader et al., 1989), ou en agoniste comme le SKF-38393 (O'Boyle et Waddington, 1984), il était possible d'étudier biochimiquement ce sous type de récepteur et d'examiner sa distribution dans le SNC par radioautographie quantitative. De même, l'antagoniste benzamide [³H]raclopride, connu pour sa haute et sélective affinité pour le sous type de récepteur D₂ (Köhler et al., 1985; Köhler et Radestäter 1986), et sa faible capacité pour la liaison non spécifique, a été choisi pour cette catégorie de récepteur (Hall et Weddel, 1986; Dewar et al., 1989; et Reader et al., 1992).

Généralement, la technique de radioautographie démontre avec consistance une hétérogénéité de la répartition des récepteurs D₁ dans les cerveaux de rongeurs (Boyson et al., 1986; Dawson et al., 1986; Camps et al., 1990; Morelli et al., 1990; Qian et al., 1992; et Nobrega et al., 1996), alors que

la distribution des récepteurs D_2 est relativement hétérogène et est grandement associée au néostriatum, au complexe olfactif et à l'accumbens (Dawson et al., 1986).

Toutefois, la distribution des récepteurs D_1 et D_2 est très similaire à ce qui a été décrit chez les autres mammifères, dans la région des noyaux gris centraux (Boyson et al., 1986; Dawson et al., 1986; Nunes et al., 1994; et Nobrega et al., 1996); ce qui suggère une préservation de la distribution dopaminergique dans cette région chez les espèces animales.

II/ Les Changements Obtenus

Les résultats obtenus dans la présente étude démontrent que le [3 H]SCH23390 et le [3 H]raclopride, déjà utilisés pour la caractérisation des récepteurs D_1 et D_2 dans les cerveaux d'une variété d'espèces incluant le rat, le lapin, le porc, le hamster, le primate non-humain et l'humain (Billard et al., 1984; Camps et al., 1990; Dawson et al., 1986; De Keyser et al., 1988; Hall et al., 1988; Madras et al., 1988; Nobrega et al., 1996; Reader et al., 1988, 1989, 1992) peut être volontier employé dans l'étude des récepteurs de la souris mutante neurologique dt^J/dt^J .

Au total, la topologie des récepteurs D_1 et D_2 et leur distribution chez la souris de type sauvage et le mutant dt^J/dt^J était similaire à ce qui a été décrit chez les autres espèces de rongeurs (Boyson et al., 1986; Dawson et al., 1986; Camps et al., 1990). Cependant, il existe quelques divergences entre nos résultats et ceux obtenus précédemment par Camps et al. (1990) dans une étude radioautographique des récepteurs D_1 et D_2 chez la souris. En effet, cet auteur et ses collaborateurs ont trouvé par exemple que la liaison au [3 H]SCH23390 était plus grande dans la SN que dans l'Acb (Camps et al., 1990), alors que dans la présente étude, le marquage dans l'Acb est près de 10% plus

grand que dans la SN. De même, la quantité de marquage au [³H]SCH23390 était en général plus faible que ce que nous avons trouvé. Ces divergences peuvent être attribuées aux différences spécifiques, ou à la procédure de marquage employée. En effet, il est possible que la concentration de 1 nM de [³H]SCH23390 utilisée par Camps et son équipe (1990) ne soit pas suffisante pour atteindre la saturation de tous les sites, entraînant une sous-estimation des récepteurs, particulièrement dans le cerveau antérieur hors du néostriatum, où ils ont été trouvés en quantités très faibles. Dans notre étude, une concentration de 5 nM de [³H]SCH23390 a été utilisée et celle-ci a non seulement permis d'obtenir une grande et plus réaliste estimation des sites liées, mais en plus, a révélée du marquage en dehors des structures des noyaux gris centraux, en accord avec la consistance de la distribution des récepteurs dopaminergique connue dans les cerveaux des mammifères, comme démontré dans des études de radioliation sur homogenat (Dewar et al., 1990; Diop et al., 1988; Reader et al., 1988, 1989).

Un commentaire similaire peut être utilisé pour le marquage des récepteurs D₂ avec du [³H]CV 205-502, qui a révélé des densité de liaison plus élevées dans le Tu que dans le NS (Camps et al., 1990), alors que dans notre étude la liaison spécifique du [³H]raclopride au sites récepteurs D₂ était plus grande dans le NS que dans le Tu, et cela a été observé pour toutes les six divisions striatales examinées (Tableau 6). Dans ce cas la discordance peut être attribuée à la souche de souris, ou à la nature et à la concentration des différents ligands utilisés. Dans la présente étude, la concentration de 10 nM de [³H]raclopride utilisée est au dessus des valeurs de K_d qui ont été estimées pour les tissus des cerveaux de rat et de lapin, en utilisant les mêmes procédures d'incubation (Dewar et al., 1989, 1990; Köhler et Radestäter, 1986; Lidow et al., 1989; Reader et al., 1990). De même, d'autres études sur la distribution des récepteurs D₂ dans les cerveaux de rat et de primate en utilisant soit le [³H]YM-09151-2 ou le [³H]spiroperidol, ont rapporté des topologies dans le SNC, similaires à ce que notre

étude a révélé (Madras et al., 1988; Morelli et al., 1990; Nobrega et al., 1996; Nunes et al., 1994; Radja et al., 1993; Richfield et al., 1987).

Toutefois, tel qu'observé, les niveaux endogènes de la DA et ses métabolites étaient hétérogènes à travers les cerveaux des souris de type sauvage et des mutantes. Les métabolites de la DA corrélaient grandement avec les contenus tissulaires en DA chez les deux types de souris. Cependant, il n'y avait pas de différences significatives entre le type sauvage et le type mutant dt^J/dt^J dans le contenu tissulaire en DA et métabolites dans la plus grande partie des structures cérébrales examinées, excepté un taux plus élevé (+ 47.5 %; $P < 0.05$) chez la mutante dt^J/dt^J du contenu en DA dans l'Hyp, une région qui contient un grand nombre de neurones dopaminergiques (Moore, 1987). Cependant, ce niveau plus élevé de DA tissulaire n'était pas accompagné d'augmentations significatives des niveaux de métabolites DOPAC, HVA and 3-MT. De plus, cette augmentation en DA dans l'Hyp ne corrélait pas avec les densités des récepteurs D_1 (Tableau 4).

Dans les conditions normales, la relâche de la DA est couplée à la vitesse de sa synthèse et de son métabolisme dans les dendrites et les boutons terminaux des neurones dopaminergiques (Moore, 1987). Les mécanismes qui augmentent ou abaissent l'activité des neurones dopaminergiques n'altèrent généralement pas l'état d'équilibre des concentrations de la DA; mais plutôt, produisent une augmentation ou une baisse concomitante respectivement dans les vitesses de synthèse, du recyclage, et du métabolisme de cette amine. Et à cet effet, il a été démontré que le 3-MT pouvait servir comme un indice fiable pour évaluer la relâche synaptique (Wood et Altar, 1988). Aussi, comme les niveaux de 3-MT dans le cerveau de la souris mutante dt^J/dt^J était les mêmes que ceux de la souris de type sauvage, il est plausible d'argumenter en faveur d'une relâche normale de la DA (Tableaux 2 et 3).

Par ailleurs, la quantification des récepteurs D_1 et D_2 (Tableaux 4 à 6) démontrait en général des augmentations chez la souris mutante dt^J/dt^J comparée aux densités quantifiées chez la souris de type sauvage. En effet, chez la souris mutante dt^J/dt^J , les récepteurs D_1 augmentaient dans le thalamus (+27%) ($P < 0.01$), les quadrants latero-dorsal (+16%) ($P < 0.05$) et médio-dorsal (+16%) ($P < 0.05$) du néostriatum. Les récepteurs D_2 augmentaient dans les quadrants médio-ventral (+32%) ($P < 0.01$) et latero-dorsal (+17%) ($P < 0.05$) de la partie rostrale du néostriatum qui, apparaît dans cette étude comme la structure démontrant le plus de changements.

De manière intéressante, il a été récemment démontré (Strazielle et al., 1998) qu'il y a une décroissance de 28 % dans la densité des transporteurs dopaminergiques, ou sites de recapture dans le néostriatum caudal de la souris mutante dt^J/dt^J . Cependant, les niveaux tissulaires en DA (Tableaux 2 et 3) ainsi que les densités des récepteurs D_1 et D_2 mesurées dans cette étude (Tableaux 4 à 6) ne relevaient pas de différences chez la souris de type sauvage. De plus, les changements documentés en ce qui concerne les récepteurs DA dans la présente étude étaient apparemment indépendants des niveaux tissulaires en DA, et les densités des transporteurs qui étaient conservées dans les autres divisions striatales (Strazielle et al., 1998).

Toutefois, le striatum est connu comme une structure entièrement modulaire, d'entrée et sortie (input-output) qui collecte des entrées en provenance du néocortex entier, des sites thalamiques, de l'amygdale ainsi que d'autres entrées plus spécialisées, provenant de plusieurs structures du cerveau comme l'hippocampe, le cortex olfactif, et autres (voir Gerfen, 1992). De même, le striatum exerce beaucoup d'influence sur le segment interne du globus pallidus via deux voies issues de deux populations séparées de neurones de projection striataux: une voie directe qui implique les récepteurs dopaminergiques D_1 et une voie indirecte via les récepteurs dopaminergiques D_2 (DeLong, 1993).

Dans la présente étude, aucun changement concernant les récepteurs dopaminergiques pallidus n'a été observé chez la mutante dt^J/dt^J pour impliquer une affection striatale. Ils ne démontraient pas non plus une évidence pathologique des circuits substance noire *pars compacta* - striatum qui utilisent la DA pour moduler les activités directes et indirectes striatum-globus pallidus, vu la stabilité de la DA et de ses métabolites dans les régions de la SN/VTA (Tableau 3). De plus, aucune autre évidence biochimique majeure d'un dysfonctionnement dopaminergique qui pourrait compromettre les neurones striataux ne pourrait être documenté, ni même l'évidence d'une dégénérescence dopaminergique n'a pu être rapportée, en accord avec les précédentes études anatomiques portées hors de la région du tronc cérébral de la souris mutante neurologique dt^J/dt^J (Duchen et al., 1963, 1964; Janota, 1972; Messer et Strominger, 1980; Sotelo et Guenet, 1988).

Ainsi, la conservation ou stabilité relative de tous les paramètres biochimiques de la DA mesurés indique l'intégrité du système dopaminergique dans le cerveau antérieur de la souris mutante dt^J/dt^J .

Toutefois, les modifications du métabolisme de la DA dans l'Hyp, tel le reflet d'une moindre augmentation des contenus en DA, ou d'une régulation à la hausse (up-regulation) localisée des récepteurs D_1 et D_2 , pourraient peut être soutenir quelques mécanismes d'adaptations compensatoires que la souris mutante dt^J/dt^J pourrait utiliser pour surmonter ses principaux déficits neurologiques, causés par les dégénérescences des cellules ganglionnaires des racines dorsales et de leurs fibres ascendantes correspondantes. Ainsi, cette modification dopaminergique dans l'Hyp soutiendrait plutôt une origine biochimique, liées à un possible déficit compensatoire central de la neurotransmission.

D'autre part, les résultats obtenus dans la présente étude diffèrent de ceux relevés chez le hamster dystonique (Nobrega et al., 1996) et le rat dystonique (Lorden et al., 1984), tous deux, validés comme des modèles de dystonie humaine. Ainsi, en plus d'être grandement différents, nos

résultats ne s'accordent pas au profil de distribution des récepteurs dopaminergique observé chez le hamster dystonique. En effet, des études radioautographiques utilisant le [³H]SCH23390 et [³H]YM-09151-2, réalisées chez le hamster dystonique (Nobrega et al., 1996), démontraient une atteinte considérable des récepteurs D₁ et D₂ dans la substance noire en plus d'une baisse significative de ces derniers dans les portions dorso-médiales du striatum, région postulée comme la plus couramment impliquée dans la dystonie humaine (Albin et al., 1989). De plus, le rat dystonique se distingue de la souris mutante dt^J/dt^J par l'absence évidente des lésions neuropathologiques centrales et périphériques (Lorden et al., 1984).

Aussi, les divergences obtenus entre les résultats de la présente étude et ceux révélés chez le rat dystonique et le hamster dystonique (Lorden et al., 1984; Nobrega et al., 1996) trouvent leurs majeures explications dans le fait que la pathologie portée par la souris mutante dt^J/dt^J est bien différente de celle dont est affecté le hamster dystonique ou le rat dystonique.

De ce fait, notre étude pourrait définitivement permettre d'insister sur l'utilisation inappropriée de la souris mutante *Dystonia musculorum* comme un modèle de dystonie humaine (atteinte des neurones dopaminergiques du striatum), postulée comme résultant d'un dérangement au niveau des noyaux gris centraux sans une conséquence d'anormalités biochimiques identifiées (Gasser et al., 1992; McGeer et McGeer, 1988).

Ainsi, le hamster dystonique et le rat dystonique semblent mimer la dystonie humaine alors que la souris mutante dt^J/dt^J, à cause de ses lésions primaires dans les fibres spinocerebeleuses ascendentes et la conservation de son système dopaminergique, ressemblent beaucoup plus à l'ataxie humaine de type Friedreich. Pour cela, la désignation *dystonia musculorum* peut induire en erreur et continuer à entretenir des confusions. Aussi, il serait plus intéressant de renommer ou de rebaptiser la mutante dt^J/dt^J par un nom plus descriptif de sa pathologie réelle. Pour cela, nous proposons des noms tels *Duchen's ataxic mice*, ou *sensory ataxic mice* ou *cerebellar ataxic mice*, ou *Friedreich's ataxic mice*.

En outre, les présents résultats couplés aux études précédentes incluant:

- Une réduction de la capacité de biosynthèse du GABA (acide γ -aminobutyrique);
- Une augmentation de la synthèse de la NA dans le cervelet;
- Une inhibition endogène du transport glutamatergique dans la récapture;
- Un déficit significatif de la concentration en acides aminés glutamate, aspartate, glycine et GABA dans le vermis cérébral et l'élévation des acides aminés taurine, tyrosine, glutamate et GABA dans le cortex cérébral (Messer, 1982; Huxtable et al., 1979);
- Une altération de la recapture de la dopamine;
- Et une intégrité histologique dans les structures cérébrale rostrale au tronc cérébral.

nous permettent de constater que tout comme l'ataxie de Friedreich, la pathologie portée par la mutante dt^J/dt^J serait probablement multifactorielle et multidimensionnelle. Et, l'impact de l'administration de l'amantadine, un agent favorisant la relâche de la dopamine qui a démontré contrairement au traitement L-DOPA, une amélioration des fonctions motrices chez des patients souffrant d'ataxie hérédodégénérative (Petersen et al., 1988; Botez et al., 1996) et chez la souris mutante *lurcher*, un modèle d'atrophie olivopontocérébelleuse (Lalonde et al., 1993 b), ne permettrait d'expliquer que quelques-unes de ses actions thérapeutiques sur la relâche dopaminergique; car les améliorations observées étaient significativement mineures chez les sujets souffrant d'ataxie de Friedreich.

Enfin, la radioautographie appliquée aux récepteurs noradrénergiques (résultats non présentés pour ce mémoire) a démontré une forte implication de ce système catécholaminergique dans le SNC.

3/ Conclusions

En conclusion, la présente étude a étendue nos connaissances en fournissant de nouvelles informations biochimiques sur la DA, ses métabolites et sur la topologie des récepteurs D₁ and D₂ chez la souris mutante *Dystonia muscularum* ou dt^J/dt^J, un modèle animale de l'ataxie de Friedreich et non de dystonie Humaine.

Toutefois, les résultats obtenus penchent en faveur d'une perturbation discrète de la neurotransmission dopaminergique, localisée au niveau de quelques structures des noyaux gris centraux. Cette perturbation n'était pas accompagnée d'une quelconque évidence de dérèglement au niveau des circuits dopaminergiques et suggèrent une intégrité de la fonction dopaminergique chez cette souris mutante.

Ces résultats n'écartent pas la possibilité de l'implication d'un autre système de neurotransmission connexe au système dopaminergique ou impliqué dans les affections motrices.

Aussi, l'exploration de certaines voies de neurotransmission comme les voies GABAergiques et surtout catécholaminergiques reste très conseillée.

Enfin, cette étude aura permis de comprendre qu'il existerait peut être plusieurs degrés d'implication de la fonction dopaminergique centrale, sans pour autant qu'elle soit altérée dans la pathologie exhibée par la souris *Dystonia musculorum*, un modèle approprié pour l'évaluation de l'AF; ce qui, probablement, permettrait d'entrevoir des approches thérapeutiques, plus rationnelles applicable aux ataxies dégénératives humaines.

RÉFÉRENCES

- Albin, R.L., Young, A.B., and Penney, J.B. (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *TINS* 12: 366-375.
- Babcock, M., de Silva, D., Oaks, R., Davis-Kaplan, S., Jiralerspong, S., Montermini, L., Pandolfo, M., and Kaplan, J. (1997) Regulation of mitochondrial iron accumulation by Yfh1p, a putative homolog of frataxin. *Science* 276:1709-1712.
- Barbeau, A. (1982) Friedreich's disease 1982: etiologic hypotheses a personal analysis. *Can. J. Neurol. Sci.* 9 (2): 243-263.
- Barbeau, A. (1981) Pathophysiologie des symptomes dans la maladie de Friedreich. Les ataxies hereditaires. *J. Genet. Hum.* 29 (3):197-202.
- Barbeau, A. (1980) Friedreich's ataxia 1980. An overview of the physiopathology. *Can. J. Neurol. Sci.* 7 (4): 455-468.
- Barbeau, A. (1979) Friedreich's ataxia 1979: an overview. *J. Can. Sci. Neurol.*, 6: 311-319.
- Barbeau, A., Butterworth, R.F., Ngo, T., Breton, G., Melancon, S., Shapcott, D., Geoffroy, G., and Lemieux, B. (1976) Pyruvate metabolism in Friedreich's ataxia. *Can. J. Neurol. Sci.* 3 (4):379-388.
- Barbeau, A., Melancon, S., Huxtable, R.J., and Lemieux, B. (1981) Taurine and Friedreich's ataxia: an update. *Adv. Exper. Med. Biol.* 139: 389-399.
- Barbeau, A., Patenaude, F., Nadon, G., Charbonneau, M., and Cloutier, T. (1982) A possible genetic pattern of taurine urinary excretion in Friedreich's Ataxia. *Can. J. Neurol. Sci.* 9(2): 209-215.
- Billard, W., Ruperto, V., Crosby, G., Iorio, L.C., and Barnett, A. (1984) Characterization of the binding of [³H]SCH23390, a selective D₁ receptor antagonist ligand, in rat striatum. *Life Sci.*, 35: 1885-1893.
- Blass, J.P., Kark R.A., and Menon, NK. (1976) Low activities of the pyruvate and oxoglutarate dehydrogenase complexes in five patients with Friedreich's ataxia. *New England Journal of Medicine.* 295(2): 62-67.
- Botez, M.I., Botez-Marquard, T., Élie, R., Pedraza, O.L., Goyette, K., and Lalonde, R. (1996). Amantadine hydrochloride treatment in heredodegenerative ataxias: a double blind study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 61: 259-264.
- Boyson, S. J., McGonigle, P., and Molinoff, P.B. (1986) Quantitative autoradiographic localization of the D₁ and D₂ subtypes of dopamine receptors in rat brain. *J. Neurosci.*, 6: 3177-3188.
- Brown, A., Neal Copeland G., Debra Gilbert J., Nancy Jenkins A., Rossant, J., and Kothary, R.. (1994) The genomic structure of an insertional mutation in dystonia musculorum locus. *Genomics* 20: 371-376.

- Bureau, M.A., Ngassam, P., Lemieux, B., and Trias, A. (1976) function studies in Friedreich's ataxia. *Can. J. Neurol. Sci.* 3(4): 343-347.
- Butterworth, R.F., and Giguere, J.F., (1984) Amino acids in autopsied human spinal cord. Selective changes in Friedreich's ataxia; *Neurochem. Pathol.* 2 (1): 7-17.
- Butterworth, R.F., and Giguere, J.F. (1982) Glutamic acid in spinal-cord gray matter in Friedreich's ataxia. *New Engl. J. Med.* 307 (14): 897.
- Butterworth, R.F., Izumi, K., Landreville, F., and Barbeau, A. (1977) Dosage de la pyruvate deshydrogenase musculaire dans deux modeles experimentaux d'ataxie. *Union Med. Canada.* 106 (4): 468-471.
- Butterworth, R.F., Shapcott, D., Melançon, S., Breton, G., Geoffroy, G., Lemieux, B., and Barbeau, A. (1976) Clinical laboratory findings in Friedreich's ataxia. *Can. J. Neurol. Sci.* 3(4): 355-359.
- Calne, D.B. (1979) Neurotransmitters, neuromodulators, and neurohormones. *Neurology.* 29 (11): 1517-1521.
- Camps, M., Kelly, P.H., and Palacios, J.M. (1990) Autoradiographic localization of dopamine D₁ and D₂ receptors in brain of several mammalian species. *J. Neural. Transm.(Gen.Sect.)*, 80: 105-127.
- Campuzano, V., Montermini, L., Moltò, M.D., Pianese, L., Cossée, M., Cavalcanti, F., Monros, E., Rodius, F., Duclos, F., Monticelli, A., Zara, F., Canizares, J., Koutnikova, H., Bidichandani, S.I., Gellera, C., Brice, A., Trouillas, P., De Michele, G., Filla, A., De Frutos, R., Palau, F., Patel, P.I., Di Donato, S., Mandel, J.L., Coccozza, S., Koenig, M., and Pandolfo, M. (1996) Friedreich's ataxia: autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science* 271: 1423-1427.
- Carvajal, J.J., Pook, M.A., dos Santos, M., Doudney, K., Hilermann, R., Minogues, S., Williamson, R., Hsuan, J.J., and Chamberlin S. (1996) The Friedreich's ataxia gene encodes a novel phosphatidylinositol-4-phosphate-5-kinase. *Nature Genet* 14: 157-162.
- Cossee, M., Campuzano, V., Koutnikova, H., Fischbeck, K., Mandel, J.L., Koenig, M., Bidichandani, S.I., Patel, P.I., Molte, M.D., Canizares, J., De Frutos, R., Pianese, L., Cavalcanti, F., Monticelli, A., Coccozza, S., Montermini, L. and Pandolfo, M. (1996) Frataxin fracas, Comments on (1997): *Nat Genet* 14(2):157-162 *Nature Genetics.* 15(4): 337-338.
- Creese, I., Sibley, D.R., Hamblin, M.W., and Leff, S.E. (1983) The classification of dopamine receptors: Relationship to radioligand binding. *Annu. Rev. Neurosci.* 6: 43-71.
- Dahlström, A., and Fuxe, K. (1964) Evidence for the existence of monoamine containing neurons in the central nervous system I: demonstration of monoamines in the cell bodies of brainstem neurons. *Acta Physiol. Scand.* 62 [Suppl 232]: 1-55.
- Davignon, J., Huang, Y.S., Wolf, J.P., and Barbeau, A. (1979) Fatty acid profile of major lipid classes in plasma lipoproteins of patients with Friedreich's ataxia: demonstration of a low linoleic acid content most evident in the cholesteryl-ester fraction. *Can. J. Neurol. Sci.* 6: 275-284.

- Davissou, M.T., (1990). The Jackson Laboratory Mouse Mutant Resource. *Lab. Anim.* 19: 23-29.
- Dawson, T.M., Gehlert, D.R., Yamamura, H.I., Barnett, A., and Wamsley, J.K. (1985) D-1 dopamine receptors in the rat brain: autoradiographic localization using [³H]SCH23390. *Eur. J. Pharmacol.* 108: 323-325.
- Dawson, T.M., Gehlert, D.R., McCabe, R.T., Barnett, A., and Wamsley, J.K. (1986) D-1 dopamine receptors in the rat brain: a quantitative autoradiographic analysis. *J. Neurosci.* 6: 2352-2365.
- De Keyser, J., Dierckx, R., Venderheyden, P., Ebinger, G., and Vauquelin, G. (1988) D₁ dopamine receptors in human putamen, frontal cortex and calf retina: differences in guanine nucleotide regulation of agonist binding and adenylate cyclase stimulation. *Brain Res.* 443: 77-84.
- DeLong, M.D. (1993) Overview of basal ganglia function. Role of the cerebellum and basal ganglia in voluntary movement. Editors Noriichi Mano, Ikuma Hamada, Mahlon, Delong R. *Experta medica, International Congress series 1024, Tokyo Metropolitan Institute of Neuroscience.* pp 65-70.
- Dewar, K.M., Grondin, L., Carli, M., Lima, L. and Reader, T.A. (1992) [³H]Paroxetine binding and serotonin content of rat cortical areas, hippocampus, neostriatum, ventral mesencephalic tegmentum and midbrain raphe nuclei following *p*-chlorophenylalanine and *p*-chlorophenylamphetamine treatment. *J. Neurochem.* 58: 250-257.
- Dewar, K.M., and Reader, T.A. (1989) Distribution of dopamine D₁ and D₂ receptors in rabbit cortical areas, hippocampus, and neostriatum in relation to dopamine contents. *Synapse* 4: 378-386.
- Dewar, K.M., Montreuil, B., Grondin, L., and Reader, T.A. (1989) Dopamine D₂ receptors labeled with [³H]raclopride in rat and rabbit brains: equilibrium binding, kinetics, distribution and selectivity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 250: 696-706.
- Dewar, K.M., Reader, T.A., Grondin, L., and Descarries, L. (1991) [³H]Paroxetine binding and serotonin content of rat and rabbit cortical areas, hippocampus, neostriatum, ventral mesencephalic tegmentum, and midbrain raphe nuclei region. *Synapse* 9: 14-26.
- Dewar, K.M., Soghomonian, J.-J., Bruno, J., Descarries, L., and Reader, T.A. (1990) Neonatal 6-hydroxydopamine denervation differentially changes dopamine D₁ and D₂ receptors in adult cerebral cortex and neostriatum. *Brain Res.* 536: 287-296.
- Di Chiara, G., Morelli, M., and Consolo, S. (1994) Modulatory functions of neurotransmitters in the striatum: ACh/dopamine/NMDA interactions. *TINS* 17: 228-233.
- Diop, L., Gottberg, E., Brière, R., Grondin, L., and Reader, T.A. (1988) Distribution of dopamine D₁ receptors in cortical areas, neostriatum, olfactory bulb and hippocampus in relation to endogenous dopamine contents. *Synapse* 2: 395-405.
- Duchen, L.W. (1976) *Dystonia musculorum* - An inherited disease of the nervous system in the mouse. In: *Advances in Neurology*, vol. 14 R.Eldridge and S. Fahn, eds. Raven Press, New York, pp. 353-365.

- Duchen, L.W., Falconer, D.S., and Strich, S.J. (1963) Dystonia musculorum. A hereditary neuropathy of mice affecting mainly sensory pathways. *J. Physiol. (Lond.)* 165: 7P-9P.
- Duchen, L. W., Strich, S.J., and Falconer, D. S. (1964) Clinical and pathological studies of an hereditary neuropathy in mice (*Dystonia musculorum*). *Brain* 87: 367-378.
- Duclos, F., Boschert, U., Sirugo, G., Mandel, J.-L., Hen, R., and Koenig, M. (1993) Gene in the region of Friedreich ataxia locus encodes a putative transmembrane protein expressed in the nervous system. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 109-113.
- Falconer, D.S., and Isaacson, J.H. (1964) *Mouse lett.*, 31:23.
- Fisher, R.A., and Yates, F. (1957) *Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research*. Oliver & Boyd, London.
- Frank, L., and Althoen, S.C. (1994) *Statistics: Concepts and Applications*. Cambridge University Press, New York.
- Franklin, K.B.J., and Paxinos, G. (1997) *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, San Diego, CA & London, U.K.
- Fremeau, R.J., Duncan, G.E., Fornaretto, M.G., Dearry, A., Gingrich, J.A., Breese, G.R., and Caron, M.G. (1991) Localization of D₁ dopamine receptor mRNA in brain supports a role in cognitive, affective, and neuroendocrine aspect of dopaminergic neurotransmission. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 88: 3772-3776.
- Friedreich, N. (1863a) Über Degenerative Atrophie der Spinalen Hinterstränge. *Virchows Arch. Pathol. Anat.* 26: 391-410.
- Friedreich, N. (1863b) Über Degenerative Atrophie der Spinalen Hinterstränge. *Virchows Arch. Pathol. Anat.* 26: 433-459.
- Gasser, T., Fahn, S., and Breakefield, X.O. (1992) The autosomal dominant dystonias. *Brain Pathol.* 2: 297-308.
- Geoffroy, G., Barbeau, A., Breton, G., Lemieux, B., Aube, M., Leger, C., and Bouchard, J.B. (1976) Clinical description and roentgenologic evaluation of patients with Friedreich's ataxia. *Can. J. Neurol. Sci.* 3: 279-286.
- Gerfen, C.R. (1992) The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *TINS* 15: 133-139.
- Greenfield, J.G. (1954) *The Spinocerebellar Degenerations*. Blackwell Scientific, Oxford.
- Hall, H., and Weddel, I. (1986) Comparison between the *in vitro* binding of two substituted benzamides and two butyrophenones to dopamine-D₂ receptors in the rat striatum. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 58: 368-373.

- Hall, H., Farde L., and Sedvall G. (1988) Human dopamine receptor subtypes - in vitro binding analysis using [³H]SCH23390 and ³H-raclopride. *J. Neural. Transm.* 73: 7-21.
- Hornykiewicz, O., Kish, S.J., Becker, L.E., Farley, I., and Shannak, K. (1986) Brain neurotransmitter in dystonia musculorum deformans. *N. Engl. J. Med.* 315: 347-353.
- Huang, K. (1989) The mechanism of protein kinase C activation. *TINS* 12: 425-432.
- Huang, Y.S., Nestruck, A.C., Barbeau, A., Bouchard, J.P., and Davignon, J. (1978) Plasma lipids and lipoproteins in Friedreich's ataxia: evidence for abnormal, composition of high density lipoproteins. *Can. J. Neurol. Sci.* 5: 149-156.
- Huxtable, R.J., Azari, J., Reisine, T., Johnson, P., Yamamura, H.I., and Barbeau, A. (1979) regional distribution of amino acids in Friedreich's ataxia. *Can. J. Neurol. Sci.* 6: 255-258.
- Jaber, M., Robinson, W. S., Missale, C., and Caron, M.G. (1996) Dopamine receptors and brain function. *Neuropharmacology* 35: 1503-1519.
- Janota, I. (1972) Ultrastructural studies of an hereditary sensory neuropathy in mice (*dystonia musculorum*). *Brain* 95: 529-536.
- Kebabian, J.W., Beaulieu, M., and Itoh, Y. (1984) Pharmacological and biochemical evidence for the existence of two categories of dopamine receptors. *Can. J. Neurol. Sci.* 11: 114-117.
- Kebabian W.J., and Calne, B.D. (1979) Multiple receptors for dopamine. *Nature* 277: 93-96.
- Kinnier -Wilson, S.A. (1954), *Neurology*. Revised by Bruce, A.N., 2nd ed. London, Butterworth. 1078-1091.
- Köhler, C., and Radestäter, A.C. (1986) Autoradiographic localization of D₂ receptors in monkey brain using the selective benzamide drug [³H]raclopride. *Neurosci. Lett.* 66: 85-90.
- Köhler, C., Hall, H., Ögren, S.-O., and Gawell, L. (1985) Specific in vitro and in vivo binding of ³H-raclopride: a potent substituted benzamide drug with high affinity for dopamine D-2 receptors in the rat brain. *Biochem. Pharmacol.*, 34: 2251-2259.
- Lakhdar-Ghazal, N., Grondin, L., Bengelloun, W.A., and Reader, T.A. (1986) Alpha-adrenoceptors and monoamine contents in the cerebral cortex of the rodent *Jaculus orientalis*: effects of acute cold exposure. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 25: 903-911.
- Lalonde, R., Joyal, C., Christian, and Botez, M.I. (1994) Exploration and motor coordination in dystonia musculorum mutant mice. *Physiol. Behav.* 56: 277-280.
- Lalonde, R., Joyal, C.C., and Coté, C. (1993a) Swimming activity in dystonia musculorum mutant mice. *Physiol. & Behav.* 54: 119-120.
- Lalonde, R., Joyal, C.C., Guastavino, J.M., Côté, C.I., and Botez, M.I. (1993b) Amantadine and ketamine-induced improvement of motor coordination in Lurcher mutant mice. *Restor. Neurol. Neurosci.*, 5: 367-370.

- Lamarche, J.B., Lemieux, B., and Liu, B.H. (1984) The neuropathology of 'typical' Friedreich's ataxia in Quebec. *Can. J. Neurol. Sci.* 11: 592-600.
- Lehman, A. (1974) *Atlas Stéréotaxique du Cerveau de la Souris*. Éditions du CNRS, Paris.
- Lefkowitz, R.J., and Caron, M.G. (1988) Adrenergic receptors. Models for the study of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. *J. Biol. Chem.* 263(11): 4993-4996.
- Lemieux, B., Barbeau, A., Beroniade, V., Shapcott, D., Breton, G., Geoffroy, G., and Melançon, S. (1976) Amino acid metabolism in Friedreich's ataxia. *Can. J. Neurol. Sci.* 3(4): 373-378.
- Le Moine, C., and Bloch, B. (1995) D₁ and D₂ dopamine receptor gene expression in the rat striatum: sensitive cRNA probes demonstrate prominent segregation of D₁ and D₂ mRNAs in distinct neuronal populations of the dorsal and ventral striatum. *J. Comp. Neurol.* 355 (3): 418-426.
- Le Moine, C., Normand, E., Guitteny, A.F., Fourque, B., Teoule, R., and Bloch, B. (1990) Dopamine receptor gene expression by enkephalin neurons in rat forebrain. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 87: 230-234.
- Le Moine, C., Normand, E., and Bloch, B. (1991) Phenotypical characterization of the rat striatal neurons expressing the D₁ dopamine receptor gene. *Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.* 88: 4205-4209.
- Lidow, M.S., Goldman-Rakic, P.S., Rakic, P., and Innis, R.B. (1989) Dopamine D₂ receptors in the cerebral cortex: distribution and pharmacological characterization with [³H]raclopride. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 6: 6412-6416.
- Lorden, F.J., Mckeon, T.W., Baker, H.J., Cox, N., and Walkley, S.U. (1984) Characterization of the rat mutant dystonic (*dt*): A new animal model of dystonia musculorum deformans. *J. Neurosci.* 4: 1925-1932.
- Lorden, F.J., Oltmans, G.A., Stratton, S., and Mays, L.E. (1988) Neuropharmacological correlates of motor syndrome of the genetically dystonic (*dt*) rat. *Adv. Neurol.* 50: 277-297.
- Löscher, W., and Fredow, G. (1992) Effects of pharmacological manipulation of dopaminergic and cholinergic neurotransmission in genetically dystonic hamster. *Eur. J. Pharmacol.* 213: 31-39.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. (1951) Protein measurements with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Madras, B.K., Fahey, M.A., Canfield, D.R., and Spealman, R.D. (1988) D₁ and D₂ dopamine receptors in caudate-putamen of nonhuman primates (*Macaca fascicularis*). *J. Neurochem.*, 51: 934-943.
- Manyam, B.V. (1991) Friedreich's disease. Division of Neurology, Southern Illinois University School of Medicine, Springfield, IL, USA.
- McGeer, E.G., and McGeer, P.L. (1988) The dystonias. *Can. J. Neurol. Sci.* 15: 447-483.

- McKeon T.W., Lorden J.F., Beals M., and Oltmans G.A. (1986) Alterations in noradrenergic projection to the cerebellum of the dystonia (*dt*) rat. *Brain Res.* 366: 89-97.
- Messer, A. (1982) Amino acid changes in the mouse mutant dystonia musculorum similar to those in Friedreich's ataxia. *Can. J. Neurol. Sci.*, 9: 185-188.
- Messer, A., and Gordon, D. (1979) Changes in whole tissue biosynthesis of γ -amino butyric acid (GABA) in basal ganglia of the dystonia (*dt^{alb}*) mouse. *Life Sci.* 25: 2217-2221.
- Messer, A., and Strominger, N. L. (1980) An allele of the mouse mutant dystonia musculorum exhibits lesions in red nucleus and striatum. *Neuroscience* 5: 543-549.
- Molina-Holgado, E., Dewar, K.M., Descaries, L. and Reader, T.A. (1994) Altered dopamine and serotonin metabolism in the dopamine-denervated and serotonin-hyperinnervated neostriatum of adult rat after neonatal 6-hydroxydopamine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 270: 713-721.
- Montermini, L., Kish, S.J., Jiralerspong, S., Lamarche, J.B., and Pandolfo M. (1997) Somatic mosaicism for Friedreich's ataxia GAA triplet repeat expansions in the central nervous system. *Neurology* 49(2): 606-10.
- Moore, K.E. (1987) Hypothalamic dopaminergic neuronal systems. In: Meltzer, H.Y., ed. *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*. New York: Raven Press.
- Morelli, M., Mennini, T., Cagnotto, A., Toffano, G., and Di Chiara, G. (1990) Quantitative autoradiographical analysis of the age-related modulation of central dopamine D₁ and D₂ receptors. *Neuroscience* 36: 403-410.
- Nobrega, J.N., Richter, A., Tozman, N., Jiwa, D., and Löscher, W. (1996) Quantitative autoradiography reveals regionally selective changes in dopamine D₁ and D₂ receptor binding in the genetically dystonic hamster. *Neuroscience* 71: 927-936.
- Nunes, G.P., Tufik, S., and Nobrega, J.N. (1994) Autoradiographic analysis of D1 and D2 dopaminergic receptors in rat brain after paradoxical sleep deprivation. *Brain Res. Bull.* 34: 453-456.
- O'Boyle, K.M., and Waddington, J.L. (1984) Selective and stereospecific interactions of R-SK&F38393 with [³H]piflutixol but not [³H]spiperone binding to striatal D1 and D2 dopamine receptors: Comparisons with SCH 23390. *Eur. J. Pharmacol.* 98: 433-436.
- O'Malley, K.L., Harmon, S., Tang, L., and Todd, R.D. (1992) The rat dopamine D4 receptor: sequence, gene structure, and demonstration of expression in the cardiovascular system. *Nature New Biologist* 4(2): 137-146.
- Oppenheimer, D.R. (1979) Brain lesions in Friedreich's ataxia. *Can. J. Neurol. Sci.* 6: 173-176.
- Paxinos, G., and Watson, C. (1982) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, New York.

- Petersen, P. L., Saad, J., and Nigro, M.A. (1988) The treatment of Friedreich's ataxia with amantadine hydrochloride. *Neurology*, 38: 1478-1480.
- Qian, Y., Hitzemann, B., and Hitzemann, R. (1992) D₁ and D₂ receptor distribution in the neuroleptic nonresponsive and neuroleptic responsive lines of mice, a quantitative receptor autoradiographic study. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 261: 341-348.
- Radja, F., E.I, Mansari, M., Soghomonian, J.-J., Dewar, K.M., Ferron, A., Reader, T.A., and Descarries, L. (1993) Changes of D₁ and D₂ receptors in adult rat neostriatum after neonatal dopamine denervation. Correlation of quantitative data from ligand binding autoradiography, in situ hybridization and iontophoresis. *Neuroscience* 57: 635-648.
- Ramm, P. (1990) Image analyzers for bioscience applications. *Comp. Med. Imag. Graphics.* 14 (5): 287-306.
- Reader, T.A., Boulianne, S., Molina-Holgado, E., and Dewar, K.M. (1990) Effects of monovalent cations on neostriatal D₂ receptors labeled with [³H]raclopride. *Biochem. Pharmacol.*, 40: 1739-1746.
- Reader, T.A., and Dewar, K.M. (1989) Endogenous homovanillic acid levels differ between rat and rabbit caudate, hippocampus and cortical regions. *Neurochem. Res.* 14: 1137-1141.
- Reader, T.A., and Grondin, L. (1987) Distribution of catecholamines, serotonin, and their major metabolites in the rat cingulate, piriform-entorhinal, somatosensory, and visual cortex: a biochemical survey using high-performance liquid chromatography. *Neurochem. Res.*, 12: 1087-1097.
- Reader, T.A., Brière, R., Gottberg, E., Diop, L., and Grondin, L. (1988) Specific [³H]SCH23390 binding to dopamine D₁ receptors in cerebral cortex of the rat: evidence for heterogeneities in affinity states and cortical distribution. *J. Neurochem.* 50: 451-463.
- Reader, T.A., Grondin, L., Montreuil, B., and Dewar, K.M. (1989) Dopamine D₁ receptors labelled with [³H]SCH23390 in rabbit cerebral cortex and neostriatum. Equilibrium binding, kinetics and selectivity. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 340: 617-625.
- Reader, T.A., Molina-Holgado, E., Lima, L., Boulianne, S., and Dewar, K.M. (1992) Specific [³H]Raclopride binding to neostriatal dopamine D₂ receptors: role of disulfide and sulfhydryl groups. *Neurochem. Res.* 17: 749-759.
- Reader, T.A., Radja, F., Dewar, K.M., and Descarries, L. (1995) Denervation, hyperinnervation and interactive regulation of dopamine and serotonin receptors. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 757: 293-310.
- Reader, T.A., and Strazielle, C. (1998) Quantitative autoradiography of monoamine uptake sites and receptors in rat and mouse brain, in *Neuromethods volume 32 General Techniques, In Vitro, Molecular*, (Bouton, A.A., Baker, G.B., and Bateson, A.N., eds.), Humana Press, Totowa, New Jersey (in press).

- Richfield, E.K., Young, A.B., and Penney, J.B. (1987) Comparative distribution of dopamine D-1 and D-2 receptors in the basal ganglia of turtles, pigeons, rats, cats and monkeys. *J. Comp. Neurol.*, 262: 446-463.
- Riker, D.K., Messer, A., and Roth, R. H. (1981) Increased noradrenergic metabolism in cerebellum of the mouse mutant *dystonia musculorum*. *J. Neurochem.* 37: 649-654.
- Robinson, N. (1966) Friedreich's ataxia: a histological and biochemical study. I. Enzyme of carbohydrate metabolism. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 6: 25-34.
- Robinson, N.(1968): Chemical changes in the spinal cord in Friedreich's ataxia and motor neuron disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 31: 330-333.
- Rodriguez-Budelli, M.M., Kark, R.A., Blass, J.P., and Spence, M.A. (1978) Action of physostigmine on inherited ataxias. *Adv. Neurol.* 21: 195-202.
- Rondot, P., Bathien, N., and Ziegler, M. (1988) *Les mouvements anormaux*. Préface de Scherrer, J. Édition Masson, Paris.
- Sauvé, Y., and Reader, T.A. (1988) Effects of α -methyl-*p*-tyrosine on monoamines and catecholamine receptors in rat cerebral cortex and neostriatum. *Neurochem. Res.* 13: 807-815.
- Sidman, R.L., Pearlstein, R., and Waymouth, C. (1965) Pink-eyed dilution (*p*) gene in rodents: increased pigmentation in tissue culture. *Develop. Biol.* 12(1): 93-116.
- Sokoloff, P., Giros, B., Martres, M.P., Bouthenet, M.L., and Schwartz, J.C. (1990) Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D_3) as a target of neuroleptics. *Nature* 347: 146-151.
- Sotelo, C., and Guenet, J.L. (1988) Pathologic changes in the CNS of *dystonia musculorum* mutant mouse: An animal model for human spinocerebellar ataxia. *Neuroscience* 25: 405-424.
- Strazielle, C., Lalonde, R., Amdiss, F., Botez, M.I., Hébert, C., and Reader, T.A. (1998) Distribution of dopamine transporters in basal ganglia of cerebellar ataxic mice by [125 I]RTI-121 quantitative autoradiography. *Neurochem. Int.* 32: 61-68.
- Stumpf, D.A., Parks, J.K., Eguren, L.A., and Haas, R. (1982) Friedreich's ataxia: III. Mitochondria malic enzyme deficiency. *Neurology* 32: 221-227.
- Stumpf, D.A., Parks, J.K., and Parker, W.D. (1983) Friedreich's ataxia: IV. Reduced mitochondria malic enzyme activity in heterozygotes. *Neurology* 33: 780-783.
- Tiberi, M., Jarvie, K.R., Silvia, C., Falardeau, P., Gingrich, J.A., Godinot, N., Bertrand, L., Yang-Feng, T.L., Fermeau, R.T. Jr., and Caron, M.G. (1991) Cloning, molecular characterization, and chromosomal assignment of a gene encoding a second D_1 dopamine receptor subtype: differential expression pattern in rat brain compared with the D_{1A} receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88: 7491-7495.

- Trimble, W.S., Linial, M., and Scheller, R.H. (1991) Cellular and molecular biology of the presynaptic nerve terminal. *Annu. Rev. Neurosci.* 14: 93-122.
- Unnerstall, J.R., Niehoff, D.L., Kuhar, M.J., and Palacios, J.M. (1982) Quantitative receptor autoradiography using ³H-Ultrafilm: application of multiple benzodiazepine receptors. *J. Neurosci. Methods* 6: 59-73.
- Vadasz, C., Laszlovsky, I., De Simone, P.A., and Fleischer, A. (1992) Genetic aspects of dopamine receptor binding in the mouse and rat brain: an overview. *J. Neurochem.* 59: 793-808.
- Wilson, R.B., and Roof, D.M. (1997) Respiratory deficiency due to loss of mitochondrial DNA in yeast lacking the frataxin homologue. *Nature Genetics* 16(4): 352-357.
- Wood, P.L., and Altar, C.A. (1988) Dopamine release in vivo from nigrostriatal, mesolimbic, and mesocortical neurons: utility of 3-methoxytyramine measurements. *Pharmacol. Rev.* 40(3): 163-187.
- Young, W.S., and Kuhar, M.J. (1979) A new method for receptor autoradiography: [³H]opioid receptors in rat brain. *Brain Res.* 179 (2): 255-270.