

Aix-Marseille Université
Ecole doctorale 62 – Sciences de la vie et de la santé
Institut de Neurosciences de la Timone – UMR 7289

Thèse présentée publiquement pour obtenir le grade universitaire de
DOCTORAT D'AIX MARSEILLE UNIVERSITE.

Spécialité : Neurosciences

Alix TIRAN-CAPPELLO

**Rôle du noyau subthalamique et de ses afférences hyperdirectes
provenant du cortex préfrontal dans le codage et la recherche de
récompense chez le rat.**

Thèse soutenue le 2 Octobre 2018

Membres du jury de la thèse :

Dr. Martine CADOR

Dr. Eric BURGUIÈRE

Dr. Lydia KERKERIAN-LE GOFF

Dr. Mark BEVAN

Dr. Christelle BAUNEZ

CNRS, Bordeaux

INSERM, Paris

CNRS, Marseille

Northwestern University, Chicago

CNRS, Marseille

Rapportrice

Rapporteur

Examinatrice

Examineur

Directrice de thèse

Remerciements

Je tiens avant toute chose à remercier Martine Cador et Éric Burguière pour avoir accepté d'être rapporteurs pour mon manuscrit de thèse. Je voudrais également remercier les membres de mon jury de thèse Lydia Kerkerian-Le Goff, Martine Cador, Éric Burguière et Mark Bevan d'avoir bien voulu évaluer mon travail. Enfin je tiens à remercier Christelle Baunez qui a m'a supervisé durant ma thèse, m'a montré de nombreuses choses et m'a aidé durant la rédaction de mon article et de mon manuscrit.

Je tiens à remercier Yann Pelloux, qui m'a montré les bases du comportement chez le rat la première fois que je suis arrivé ici, et pour avoir été aussi enthousiaste la première fois que nous avons parlé d'ICSS. Je voudrais aussi remercier Mickaël Degoulet pour la réserve secrète du R0, son aide pour les manuscrits et pour les nombreuses discussions plus ou moins constructives.

Je voudrais adresser un grand merci à tous les membres de l'équipe BAGAMORE que j'ai pu côtoyer et en particulier à Elodie Giorla, Emmanuel Breysse, Anne-Caroline Martel, Kévin Marche et aux autres membres des alcooliques pas si anonymes que ça de l'INT : Clara Bourelly, Claudio Simoncini, Margaux Duret, et Chloé Pasturel.

Une mention spéciale pour JB, merci pour le soutien moral, pour la moitié de cerveau qui complétait bien la mienne et l'humour d'une finesse d'une subtilité à toute épreuve qui n'a d'égal que la résistance de nos foies à la cirrhose.

Merci pour cette parenthèse (...)

Je tiens aussi à remercier tous mes amis de Lyon, qui sont parfois difficile à revoir à cause de la distance, mais à chaque fois c'est avec plaisir.

As we head to the USA, I would like to thank Antonello Bonci for kindly accepting me in his lab, Ross McDevitt who showed me everything he knew about optogenetics and patch clamp recordings in such a short amount of time. Mais également Saïd Kourrich pour son aide et ses précieux conseils.

Je voudrais aussi remercier les personnes de l'INT qui m'ont aidé dans ce travail, notamment les membres de l'équipe P3M : Frédéric Brocard, Jean-Charles Viemari, Cécile Brocard, Rémi Bos, Hélène Bras, Patrice Coulon, les membres de la CRISE et ainsi que Joëlle Dadoun.

Merci à ma deuxième famille des clubs d'aïkido de l'Institut Vallier et de Simiane avec lesquels j'ai passé énormément de temps et qui m'ont toujours énormément apporté et soutenu tout au long de ces années malgré les difficultés. Merci pour cette bulle d'oxygène qui dure depuis tout ce temps.

Et bien sûr, je veux remercier ma famille qui m'a soutenu et épaulé sans lesquels je ne serais jamais arrivé jusqu'ici, et tout particulièrement ma mère pour ses idées saugrenues mais toujours de bon conseil, mon père pour avoir réussi à transformer un taudis en un endroit agréable à vivre, et à une sale bête ayant prouvé que l'insuffisance hépatique, c'était réservé aux faibles.

Résumé

Le noyau subthalamique (NST) est une petite structure cérébrale appartenant aux ganglions de la base. Elle est historiquement connue pour son rôle moteur et car l'application de stimulation cérébrale à haute fréquence (SCP-HF, 130Hz) permet de réduire les symptômes moteurs de la maladie de Parkinson. Depuis les fonctions du NST ont été étendues à des processus associés à l'attention, la prise de décision, l'inhibition comportementale et le codage de la récompense. Une des propriétés intéressantes du NST, démontrée par notre équipe, indique que lorsque ce noyau est inactivé par lésion ou SCP-HF, cela induit chez le rat une augmentation de la motivation pour la nourriture sucrée et réduit la motivation pour la cocaïne. La compréhension de ces fonctions a permis progressivement d'identifier le rôle du NST dans les mécanismes de la motivation et de souligner le potentiel thérapeutique de la SCP-HF du NST pour le traitement de l'addiction aux drogues. La première question étudiée dans cette thèse vise à identifier chez le rat la contribution spécifique du NST dans les comportements de recherche de récompense (nourriture, cocaïne) et comment la SCP peut permettre de moduler ces comportements.

Ainsi lors d'une 1^{ère} étude, nous avons montré que des oscillations à basses fréquences se développent au sein du NST au cours de l'escalade de la prise de cocaïne, un modèle de la transition vers l'addiction. L'inactivation du NST par lésion ainsi que la SCP-HF permettent de prévenir l'augmentation progressive du nombre d'injections de cocaïne dans le modèle d'escalade. Enfin nous avons testé l'effet thérapeutique de ces mêmes manipulations, c'est-à-dire pour des rats ayant déjà subi le processus d'escalade, puis ayant eu une période d'abstinence. La lésion et la SCP-HF réduisent la consommation de cocaïne une fois réexposés au modèle d'escalade de la prise de cocaïne.

Lors d'une 2^e étude nous nous sommes intéressés à une caractéristique de l'addiction : la prise compulsive de drogue malgré la présence de conséquences négatives. Nous avons pu montrer dans un modèle de résistance à la punition que les oscillations décrites précédemment permettaient de prédire le caractère « compulsif » des rats. Enfin nous avons pu montrer que la SCP du NST permet d'assurer un contrôle bidirectionnel sur la compulsivité des rats car l'application d'une stimulation à basse fréquence (8Hz) permet de rendre des animaux résistants à la punition et à l'inverse l'application d'une stimulation à 30Hz permet de réduire la recherche compulsive de cocaïne.

Dans une 3^e étude, afin de mieux comprendre les effets de la SCP-HF du NST sur ces mécanismes nous avons utilisé l'optogénétique, qui permet d'altérer le fonctionnement du

NST tout en épargnant les fibres de passages et les structures voisines. A l'aide de ces outils, nous avons montré qu'il est possible d'assurer un contrôle bidirectionnel sur la motivation pour la nourriture, la stimulation du NST réduisant celle-ci alors qu'elle est augmentée par une inhibition. Nous avons été en mesure de montrer que l'inhibition optogénétique suffisait à réduire la motivation pour la cocaïne, renforçant encore l'idée d'une propriété spécifique du STN.

Enfin étant donné que le NST et le cortex préfrontal partagent de nombreuses fonctions, y compris en lien avec la motivation, et qu'il existe une connexion directe entre ces deux structures : la voie hyperdirecte, nous avons tenté de déterminer la contribution de la voie hyperdirecte dans les processus motivationnels. Nous avons utilisé différentes stratégies de modulation de cette voie pour tenter d'influencer différents comportements motivés.

L'ensemble de ces données souligne le rôle fondamental du NST dans le contrôle des processus motivationnels en lien avec la prise de nourriture ou l'addiction à la cocaïne et illustrent son potentiel pour des applications thérapeutiques.

Abstract

The subthalamic nucleus (STN) is a small homogenous glutamatergic structure of the basal ganglia. Historically known as a relay for motor information, STN is a well-established target for deep brain stimulation at high frequency (DBS-HF), a treatment for motor symptoms of Parkinson's disease. Since then STN Functions have been extended to processes associated with attention, decision-making, behavioral inhibition and treatment of reward-related information. One of the STN properties established by our team highlights that when the STN is inactivated either by lesion or DBS-HF, it increases rat motivation for sweet food while decreasing their motivation to work for cocaine. The discovery of these functions progressively enforced STN involvement in motivational processes and the therapeutic potential of STN DBS-HF for the treatment of addiction progressively emerged. The first question we examined during this thesis was to identify the specific contribution of the STN in reward research behaviors for food and cocaine, and how DBS allows altering those behaviors.

In a first study, we demonstrated that low frequency oscillations emerged within the STN across escalation of cocaine intake, a model of the transition to addiction. STN inactivation by lesion or DBS-HF prevents escalation of cocaine intake. We also tested therapeutic effect of these same manipulations on rats which already escalated their intake, and after an abstinence period, both lesion and DBS-HF reduce rat cocaine consumption when exposed again to escalation model.

In a second study, we examined one of the characteristics of drug addiction: the compulsive use despite negative outcomes. We were able to show in a model of resistance to punishment that previously described oscillations allow prediction of compulsive cocaine use in rat. Finally we showed that DBS in the STN allow bidirectional control on rat compulsivity, as low frequency stimulation (8Hz) induces the transition from sensitive to resistant to punishment behavior, in contrast 30Hz stimulation reduces compulsive cocaine seeking in rats.

In a 3rd study, to better understand the effect of STN DBS on these mechanisms, we used optogenetic manipulations to alter STN activity while sparing passing fibers and neighboring structures. With these tools we showed that optogenetic modulation allows bidirectional control on motivation for sweet food, as STN stimulation reduced it while it is increased by STN inhibition. We also showed that STN optogenetic inhibition is sufficient to reduce cocaine motivation, thus reinforcing the idea of a specific property of the STN.

Finally as the STN and prefrontal cortex share numerous functions including those related to motivation, and because there is a direct connection between these two structures: the hyperdirect pathway, we tried to determine the contribution of the hyperdirect pathway in motivational processes. We used various strategies to modulate the activity of the hyperdirect pathway and influence motivated behaviors.

Overall these data highlight the fundamental role of STN in the control of motivational processes related to sweet food or extensive cocaine use and further support the therapeutic potential of STN DBS for the treatment of drug abuse disorders.

Sommaire

Introduction	1
I. Rappels bibliographiques	4
A. <i>Le NST est une structure intégrée dans un réseau complexe : les ganglions de la base</i>	4
1) Organisation traditionnelle des ganglions de la base	4
a) Les différents composants du système des ganglions de la base	4
b) Organisation du réseau des GB	5
2) Structure, connectivité du NST	8
a) Afférences du NST	9
b) Efférences du NST	12
3) Activité du NST	14
a) Activité in-vitro du NST	14
b) Activité motrice du NST et rôle dans la maladie de Parkinson	15
c) Réponse des neurones du NST à une stimulation corticale :	17
4) Modalités de traitement de l'information par les GB	18
a) Une organisation en boucles parallèles	18
b) Un traitement de l'information global et intégré	20
c) Transfert d'information entre le striatum et la SNr, entre convergence et séparation : la théorie de la spirale	20
d) Rôle des ganglions de la base dans la sélection d'une réponse comportementale	22
5) Le NST, le contrôle inhibiteur et la prise de décision	23
a) Rôle du NST dans le contrôle de l'inhibition	23
b) Activité du NST dans la prise de décision	26
B. <i>Le NST intervient dans des processus limbiques et motivationnels</i>	28
1) Les méthodes expérimentales pour évaluer la motivation	29
a) Tester la motivation primaire	29
b) Tester la motivation secondaire	30
2) Théories de la motivation	31
3) Le système de la récompense	33
a) L'Aire Tegmentale Ventrale	34
b) Le Noyau accumbens	34
c) Le cortex préfrontal	35
d) Le pallidum ventral	36
4) Rôle du NST dans les processus motivationnels	37
a) Rôle du NST dans les processus motivationnels	37
b) Activité in-vivo	39
C. <i>Les bases neurobiologiques de la prise de drogues</i>	41
1) Drogues et neurotransmetteurs	41
a) Le système dopaminergique, un rôle central ?	41
b) Le système des opioïdes, lien avec la notion de « plaisir »	43
2) La motivation pour les drogues d'abus, une transition progressive vers l'addiction	46
a) Définition de l'addiction, exemple de la cocaïne	46
b) L'auto-administration de cocaïne	47
c) Escalade de la consommation : une transition vers l'addiction	48
d) Usage compulsif, une prise de drogue malgré des conséquences néfastes.	49
D. <i>Apport des techniques de neuromodulation pour l'étude des fonctions du NST</i>	52
1) La stimulation cérébrale profonde: utiliser des impulsions électriques pour moduler l'activité du cerveau et traiter des pathologies.	52
a) Des origines de la SCP-HF et ses multiples applications thérapeutiques	52
b) Un mécanisme d'action encore mal compris	53
c) La SCP a permis d'isoler des oscillations spécifiques dans le NST	54
2) L'optogénétique : l'utilisation de la lumière permet une modulation encore plus spécifique	55
a) Principe de la technique	55

b)	Limites et précautions	58
c)	NST et optogénétique	59
3)	La chémogénétique : une combinaison d'outils chimiques et génétiques pour altérer l'activité cellulaire	59
E.	<i>Problématiques soulevées par le rôle du NST dans les comportements motivés.</i>	64
II.	Résultats expérimentaux	65
A.	<i>Premier article : rôle des oscillations pathologiques du STN dans le développement de l'escalade de la prise de cocaïne</i>	65
1)	Résumé de l'étude	65
2)	Résumé de l'approche méthodologique	65
a)	Chirurgies	65
b)	Auto-administration	66
c)	Enregistrement et analyse de l'activité LFP	67
d)	Stimulation cérébrale profonde du NST	67
3)	Résultats	68
	ARTICLE N°1	69
B.	<i>Deuxième article : Oscillations du NST et usage compulsif de drogue</i>	91
1)	Résumé de l'étude	91
2)	Résumé de l'approche méthodologique	92
a)	Protocole d'auto-administration	92
b)	Enregistrement de l'activité LFP	94
3)	Résultats	95
	ARTICLE N°2	97
C.	<i>Troisième article : Analyse des conséquences de la modulation du NST par optogénétique, apports relatifs aux mécanismes de la stimulation cérébrale profonde.</i>	131
1)	Résumé de l'étude	131
2)	Approche méthodologique	131
a)	Animaux et procédures chirurgicales	131
b)	Vecteurs viraux	132
c)	Stimulation lumineuse in-vivo	133
d)	Procédures comportementales	133
e)	Electrophysiologie	134
3)	Résultats	134
	ARTICLE N°3	136
D.	<i>Le NST et le comportement d'autostimulation</i>	184
1)	Méthode	184
2)	Résultats	184
E.	<i>Analyse du rôle de la voie hyperdirecte dans les processus motivationnels, étude électrophysiologique et comportementale.</i>	186
1)	Conséquences de la modulation de la voie hyperdirecte par optogénétique sur l'activité neuronale du NST en lien avec le codage des récompenses	186
2)	Modulation de la voie hyperdirecte par chémogénétique (DREADDs) : une stratégie double pour maintenir la spécificité de la manipulation	188
a)	Stratégie mise en place	188
b)	Tests effectués	191
c)	Résultats obtenus	192
III.	Discussion générale	199
A.	<i>Le rôle des oscillations du NST.</i>	199
1)	Rôle pathologique des oscillations thêta et bêta	199

2) GB, oscillations et TOCS	201
3) Altération du NST, dopamine et LFP	202
4) Structures frontales, NST et compulsions	203
5) Rôle fonctionnel des oscillations bêta	203
B. <i>Le NST dans la motivation</i>	205
1) Rôle du NST dans la motivation pour la nourriture et la cocaïne	205
2) Et si la SCP du NST permettait de traiter l'anorexie plutôt que l'addiction ?	207
3) Modalités de traitement de l'information par le NST	208
4) ICSS et récompense	208
C. <i>La SCP, action thérapeutique et mécanismes</i>	211
1) Effet thérapeutique de SCP sur l'addiction à la cocaïne	211
2) Modéliser la SCP avec de l'optogénétique	213
3) Mécanisme de la SCP	214
D. <i>Quelle place pour la voie hyperdirecte ?</i>	215
1) Limites de l'approche méthodologique	215
2) Rôle fonctionnel de la voie hyperdirecte	217
IV. Conclusion et perspectives	219
V. Bibliographie	221

Abréviations :

5-CSRTT : 5-choice serial reaction time task
 6-OHDA: 6-hydroxydopamine
 ATV : aire tegmentale ventrale
 GABA : acide gamma-aminobutyrique
 BG : ganglions de la base
 CNO : clozapine-N-oxide
 DREADDs : designer receptors exclusively activated by designer drugs
 FR : fixed ratio (test de ratio fixe)
 GP : globus pallidus
 GPe : globus pallidus externe
 GPi : globus pallidus interne
 ICSS : intracranial self-stimulation (autostimulation intracrânienne)
 LFP : local field potential
 MPTP : 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine
 NAc : noyau accumbens
 NMDA : acide N-méthyl-D-aspartique
 NPP : noyau pédonculopontin
 NST : noyau subthalamique
 PR : progressive ratio (test de ratio progressif)
 PV : pallidum ventral
 SCP-HF : stimulation cérébrale profonde à haute fréquence
 SNc : substance noire pars compacta
 SNr : substance noire pars reticulata
 TOCs : troubles obsessionnels compulsifs

Introduction

Le noyau subthalamique (NST), également appelé corps de Luys, est une petite structure excitatrice appartenant aux ganglions de la base (GB). Il s'agit d'un ensemble de structures sous-corticales historiquement connues pour leur rôle dans la genèse et le contrôle de mouvements programmés. Les dysfonctions de ces structures sont reliées directement aux troubles observables pour un certain nombre de pathologies comme la chorée de Huntington ou la maladie de Parkinson.

Les premiers éléments découverts concernant les fonctions du NST avaient rapport à son implication dans les processus moteurs et plus particulièrement dans les mouvements balliques, mais aussi la maladie de Parkinson. En effet il a été montré que qu'une activité électrophysiologique anormale se développe de manière spécifique dans le NST avec l'évolution de la pathologie et la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la substance noire (Mitchell et al., 1989; Fillion and Tremblay, 1991). Ces anomalies sont réduites, en même temps que les symptômes, par les traitements pharmacologiques de la maladie visant à restaurer les niveaux de dopamine (Fillion and Tremblay, 1991; Brown et al., 2001; Levy et al., 2002). Un second traitement est la stimulation cérébrale profonde à haute fréquence (SCP-HF) du NST qui, au niveau fonctionnel, s'apparente à une inactivation et permet également de réduire les symptômes (Benazzouz et al., 1993; Limousin et al., 1995).

En plus de leur rôle moteur, les ganglions de la base interviennent dans nombre de processus cognitifs et motivationnels, pour lesquels une contribution du NST a été mise en évidence. A ce titre, les études lésionnelles chez le rat ont montré que le NST intervient dans le contrôle de l'inhibition (Baunez and Robbins, 1997, 1999), la prise de décision et également la motivation (Baunez et al., 2001, 2002). Les études sur ce sujet ont permis de montrer qu'en plus d'augmenter la motivation pour la nourriture sucrée, l'inactivation du NST produit un effet opposé sur la motivation pour la cocaïne, cet effet dissociatif constitue une des propriétés spécifiques du NST (Baunez et al., 2005). Des résultats analogues ont pu être démontrés sous SCP-HF, renforçant ainsi la contribution du NST dans les mécanismes motivationnels (Rouaud et al., 2010).

Cette capacité du NST à intervenir dans un panel aussi large de processus physiologiques vient sans doute des connexions qu'il partage avec les autres structures

cérébrales. En plus d'être intégré au réseau des GB, il a été montré que le NST est impliqué dans un réseau sous influence directe du cortex préfrontal, grâce aux connexions directes qui forment la voie hyperdirecte (Nambu et al., 2002). De la même façon, le NST émet et reçoit des projections de nombreuses structures faisant partie du système de la récompense (Groenewegen and Berendse, 1990). Ces connexions fournissent également un substrat biologique pour expliquer que le NST intervienne dans des processus aussi diversifiés et notamment motivationnels.

En raison de toutes ces projections, toute intervention au niveau du NST se répercute sur les autres structures avec lesquelles il est connecté. Dès lors, isoler la contribution spécifique du NST devient difficile. A ce titre, de nouvelles techniques de neuromodulations réversibles telles que l'optogénétique et la chémogénétique, devraient permettre de contourner ces difficultés. La première correspond à l'utilisation d'outils génétiques permettant de sensibiliser les neurones à des influx lumineux et ainsi contrôler leur niveau d'activité (Deisseroth, 2015). La deuxième utilise des outils génétiques identiques pour rendre les neurones sensibles à un agent pharmacologique artificiel, ce qui permet d'altérer leur niveau d'activité (Roth, 2016). L'optogénétique et la chémogénétique, en raison de leur haute spécificité, permettent d'isoler la contribution fonctionnelle de structures cérébrales ou de populations neuronales, en s'affranchissant en partie de l'influence des réseaux dans lesquels elles sont incluses.

Durant ce travail de thèse, nous avons tenté de déterminer chez le rat de quelle manière le NST et le réseau dans lequel il est inclus participent à la régulation de processus en lien avec l'addiction ou la motivation.

- Ainsi la première question qui nous a intéressés durant ce travail de thèse consistait à identifier, au sein du NST, l'existence de signatures électrophysiologiques spécifiques associées au développement progressif de l'addiction à la cocaïne chez le rat, et consistait à manipuler l'activité du NST par lésion ou SCP-HF pour tenter d'infléchir ces comportements addictifs.
- Dans un deuxième temps, nous avons cherché à mettre en évidence des signatures électrophysiologiques pouvant être associées avec la recherche compulsive de cocaïne. Nous avons également utilisé la modulation du NST par SCP pour tenter de réduire ce comportement de recherche compulsive de drogue.

- La troisième problématique de cette thèse portait sur l'identification de la contribution spécifique du NST dans les processus motivationnels. Et plus particulièrement, il s'agissait de comprendre si la modulation spécifique du NST par optogénétique permet de reproduire l'influence de la SCP-HF sur la conduite de comportements motivés.
- Nous avons ensuite cherché à mettre en évidence la contribution du NST dans les comportements d'autostimulation intracrânienne.
- Enfin nous avons voulu déterminer quelle est la nature du contrôle exercé par le cortex sur les comportements motivés par l'intermédiaire de la voie hyperdirecte en modulant son activité au moyen de l'optogénétique et la chémogénétique.

Dans l'ensemble, ce projet contribue largement à illustrer et renforcer le rôle spécifique du NST dans les mécanismes qui favorisent la transition vers l'addiction et les comportements motivés pour la nourriture et la cocaïne. Par ailleurs, ce travail devrait servir de support pour identifier de nouveaux réseaux et mécanismes régulant la motivation. Dans une perspective beaucoup plus large, ce travail de thèse pourrait fournir des pistes thérapeutiques intéressantes pour les troubles addictifs et leur traitement par SCP-HF.

I. Rappels bibliographiques

A. Le NST est une structure intégrée dans un réseau complexe : les ganglions de la base

1) Organisation traditionnelle des ganglions de la base

a) Les différents composants du système des ganglions de la base

Les ganglions de la base (GB) sont un ensemble de structures cérébrales recevant et traitant des informations sensorimotrices, cognitives ou limbiques. Ainsi les fonctions des ganglions de la base englobent notamment l'apprentissage moteur, la prise de décision ou encore le développement d'automatismes et d'habitudes. La vision classique postule que les ganglions de la base forment un réseau recevant des afférences du cortex et revoyant des retours vers le cortex par l'intermédiaire du thalamus en formant un ensemble de boucles cortico-baso-thalamo-corticales (Albin et al., 1989; Parent and Hazrati, 1995a; Mink, 1996). Les composants de ce système complexe sont le cortex, le striatum, le globus pallidus avec les segments interne (GPi) et externe (GPe)¹, le noyau subthalamique (NST) ainsi que les deux parties de la substance noire : compacte (SNc) et réticulée (SNr) (Figure 1). Les entrées de ce système s'effectuent majoritairement via le néocortex, en particulier via les neurones glutamatergiques de la couche 5 (Gerfen and Bolam, 2017). Tandis que les sorties s'effectuent principalement au niveau du GPi et de la SNr qui émettent des projections GABAergiques jusqu'au niveau des noyaux thalamiques (Gerfen and Bolam, 2017). En retour les structures thalamiques émettent des projections vers le cortex, le striatum, et le colliculus supérieur. En particulier, ces retours sont dirigés vers les zones corticales d'où sont originaires les faisceaux des cordons postérieurs responsables de la transmission des informations liées à la motricité fine et aux mouvements volontaires au niveau de la moelle épinière.

¹ Il existe une différence anatomique majeure entre rongeurs et primates pour ce qui concerne la structure du globus pallidus. Chez le primate, le GPi est adjacent au GPe, tandis que chez le rongeur l'équivalent fonctionnel du GPi est traditionnellement appelé noyau entopédonculaire (EP) et se trouve inclus dans les faisceaux de fibres de la capsule interne. Toutefois, dans ce manuscrit il sera fait mention uniquement de GPe et GPi étant donné que les ouvrages de références adoptent désormais cette terminologie et abandonnent progressivement la nomenclature « entopédonculaire » (Paxinos and Watson, 2005; Steiner and Tseng, 2017).

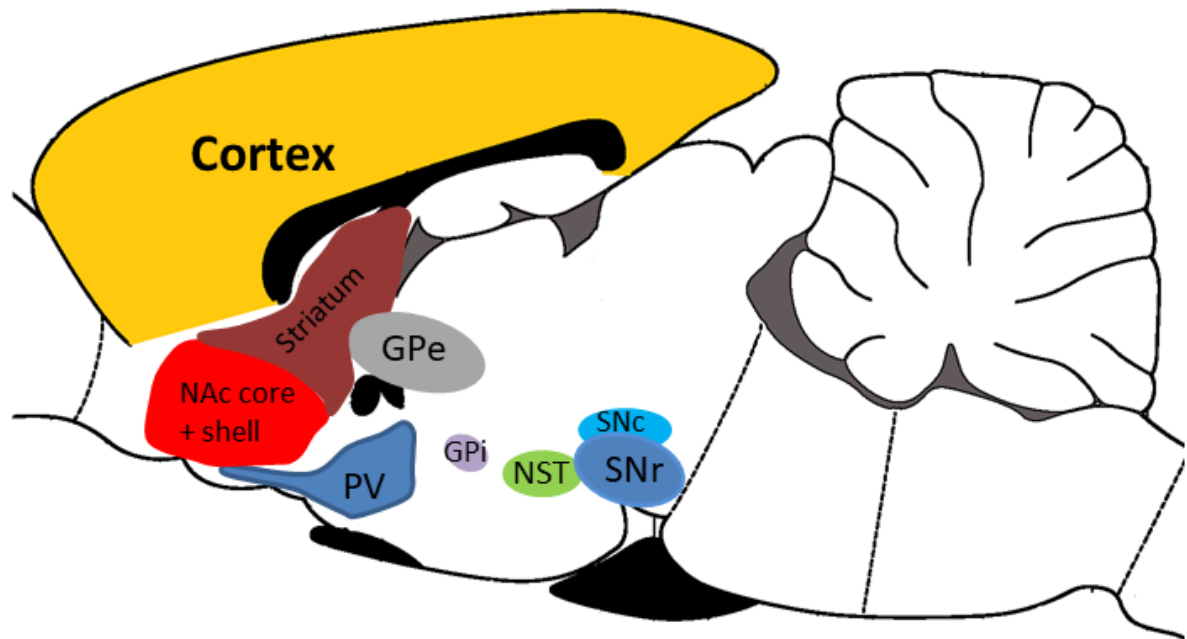


Figure 1: Organisation structurelle des ganglions de la base. NAc : Noyau Accumbens (Core et shell). GPe : Globus pallidus externe, GPi : Globus Pallidus interne, PV : Pallidum ventral, NST : noyau subthalamique, SNr : substantia nigra pars reticulata (substance noire réticulée), SNc : substantia nigra pars compacta (substance noire compacte).

b) Organisation du réseau des GB

Les premiers modèles d'organisation des GB sont basés sur le fonctionnement des boucles motrices, où le striatum est historiquement la principale structure d'entrée des ganglions de la base (Albin et al., 1989). Cette structure est elle-même subdivisée en noyau caudé, putamen chez le primate (striatum chez le rat) et noyau accumbens. Les projections des neurones striataux forment les deux voies principales décrites dans l'organisation des ganglions de la base : la voie directe et la voie indirecte (Albin et al., 1989; Alexander and Crutcher, 1990; Graybiel, 1990; Gerfen, 1992).

La voie directe correspond à une projection directe depuis le striatum vers les structures de sorties des ganglions de la base : le GPi et la SNr. Ces neurones striataux sont identifiables par différents marqueurs protéiques, dont le plus marquant est l'expression de récepteurs à la dopamine de type D1 (Gerfen et al., 1990, 1995) mais qui co-expriment des peptides comme la substance P et la dynorphine). Il s'agit de neurones GABAergiques (appelés neurones moyens épineux) qui vont assurer une action inhibitrice sur les structures de sortie. L'inhibition de la SNr et du GPi qui ont elles-même des projections inhibitrices vers

le thalamus aboutit à une activation de la projection thalamo-corticale. Cette dernière voie est de type excitatrice, utilisant le glutamate comme neurotransmetteur. Elle favorise l'exécution motrice par l'excitation de structures corticales impliquées dans l'initiation des réponses motrices.

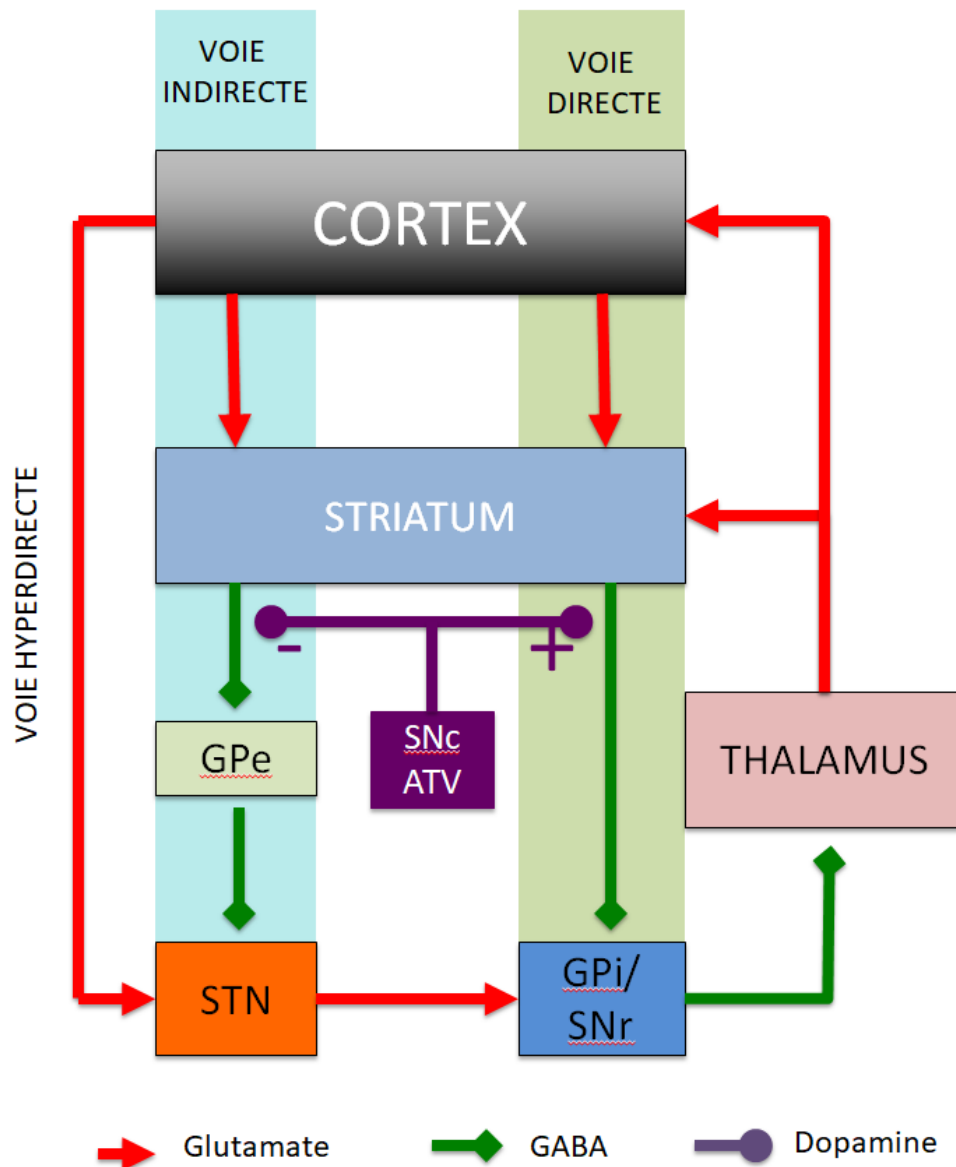


Figure 2 : Modèle de d'organisation des ganglions de la base. Les projections striatales définissent les deux voies directe et indirecte sous influence dopaminergique issue de la SNc/ATV. En plus de cette organisation traditionnelle, la voie hyperdirecte relie directement le cortex au NST.

La voie indirecte agit sur les structures de sortie des ganglions de la base via deux structures de relais successives, le premier relais étant le GPe qui va à son tour projeter sur un second relais : le NST. Les neurones striataux de la voie indirecte sont également des neurones moyens épineux GABAergiques mais ils expriment préférentiellement les récepteurs à la dopamine de type D2 (Gerfen et al., 1990, 1995), ainsi qu'un autre peptide la Met-enképhaline. Ils exercent une action inhibitrice sur le GPe, qui est une structure dont les neurones de projection sont également GABAergiques, et qui assure une action inhibitrice sur le NST. L'activation de la voie indirecte résulte donc en une activation du NST. Ce dernier émet des projections vers les structures de sortie GPi et SNr, et comme il s'agit de la seule structure de relais au sein des ganglions de la base qui exprime le glutamate, il constitue une source majeure d'excitation à l'intérieur de ce réseau. L'activation du NST conduit donc à l'activation des structures de sortie des GB qui en retour vont inhiber les voies thalamo-corticales responsables de l'initiation des commandes motrices.

Les voies directes et indirectes ont donc un effet opposé sur les structures de sorties des GB (Alexander et al., 1990; DeLong, 1990; Kravitz et al., 2010). De façon intéressante, la régulation de ces voies dépend fortement d'une afférence dopaminergique issue de la SNc (et de l'ATV pour les régions limbiques) (Albin et al., 1989; Alexander et al., 1990). La dopamine favorise l'activation des neurones de la voie directe par l'activation des récepteurs D1 et à l'inverse favorise l'inhibition de la voie indirecte via l'action des récepteurs D2 (Kebabian and Calne, 1979; Gerfen et al., 1995). L'action de la dopamine aboutit donc aux mêmes effets sur les structures de sortie quelle que soit la voie considérée.

Plus récemment une nouvelle voie a été intégrée dans le schéma de fonctionnement des ganglions de la base. Il s'agit d'une voie dite « hyperdirecte » qui correspond à une projection des neurones corticaux excitateurs vers le NST (Maurice et al., 1998a; Nambu et al., 2002). Les projections corticales sont de nature glutamatergiques de même que les neurones du NST, et vont donc activer les structures de sortie GPi et SNr. A ce titre ces connexions cortico-subthalamo-pallidales de la voie hyperdirecte constituent une source majeure d'excitation dans le circuit des GB. Cette voie hyperdirecte permet également de positionner le NST comme une structure d'entrée des GB.

2) Structure et connectivité du NST

Le noyau subthalamique (NST) est donc une petite structure excitatrice appartenant aux ganglions de la base. Ce noyau semble présenter une population neuronale homogène constituée de neurones glutamatergiques. Il existe cependant différents marqueurs cellulaires basés sur la famille des protéines fixant le calcium, par exemple les neurones dans les zones latérales semblent exprimer la Parvalbumine, alors que les neurones des zones médianes en sont dépourvus et expriment la Calrétinine (Hontanilla et al., 1997; Augood et al., 1999). En revanche ces marqueurs n'ont pour le moment pas été associés à des différences en terme d'activité électrophysiologique (Gouty-Colomer et al., 2018). En tant que structure glutamatergique, comme dit précédemment, il s'agit de la seule structure des ganglions de la base qui émette des projections excitatrices, et constitue à ce titre une source majeure d'excitation dans l'ensemble des boucles (Parent and Hazrati, 1995b). En revanche plusieurs études suggèrent l'existence d'une sous-population de neurones GABAergiques exprimant les marqueurs GAD ou GAT1 chez le primate humain (Benson et al., 1991) et non-humain (Lévesque and Parent, 2005). Chez l'homme, cette population semble représenter environ 7.5% des neurones du NST (Lévesque and Parent, 2005), chez le rongeur les études n'ont pas permis de déterminer l'importance de cette population bien que des traces ont pu être détectées (Oertel and Mugnaini, 1984; Yasumi et al., 1997). Historiquement le NST a été décrit comme un simple relais de la voie indirecte, recevant des afférences du GPe, et projetant à son tour vers les structures de sortie : GPi et SNr. De nouvelles données anatomiques ont progressivement contribué à lui attribuer un rôle plus important dans l'organisation fonctionnelle des ganglions de la base.

Par ailleurs les projections afférentes et efférentes du NST permettent l'identification de trois territoires fonctionnels selon l'hypothèse tripartite comme pour les autres structures des GB (Figure 3). On retrouve ainsi les zones motrices dans les parties les plus dorso-latérales du noyau. Les zones limbiques et associatives correspondent à une partie plus rostrale, plus précisément le territoire limbique est positionné sur la partie la plus médiale et la zone associative sur la partie la plus ventrale du noyau (Hamani et al., 2004).

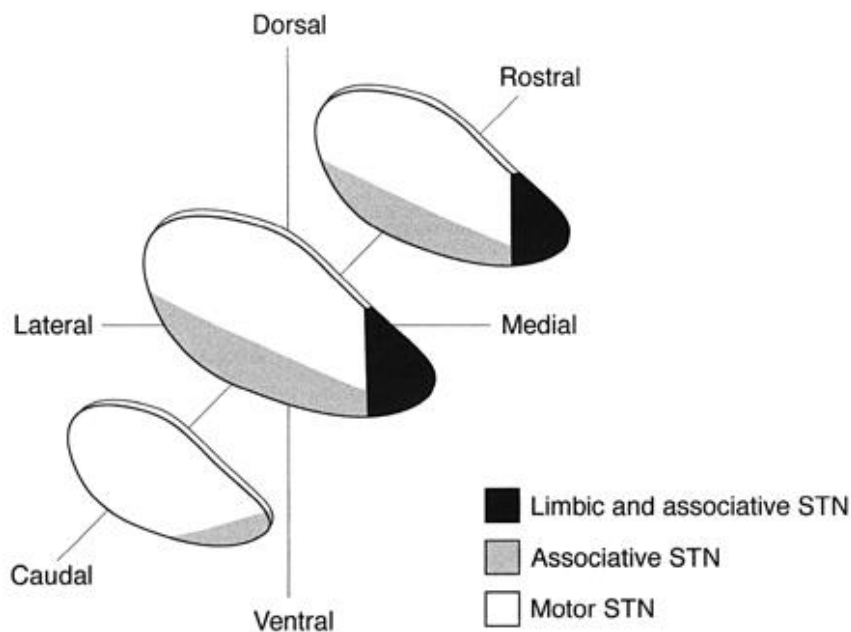


Figure 3 : Schéma de l'organisation intrinsèque du NST selon l'hypothèse tripartite de structuration des GB (D'après Parent et Hazrati, 1995b).

a) Afférences du NST

i) *Transmissions excitatrices dans le NST*

Le NST reçoit des afférences glutamatergiques depuis le cortex, le noyau parafasciculaire et centromédian du thalamus, le noyau pédoculopontin et le colliculus supérieur. Les entrées en provenance du cortex trouvent leur origine dans la couche V du côté ipsilatéral (Künzle and Akert, 1977; Monakow et al., 1978; Kitai and Deniau, 1981; Afsharpour, 1985a; Bevan et al., 1995). Les neurones projettent également via des fibres collatérales vers d'autres structures telles que le striatum, le thalamus, la zona incerta, la moelle épinière, le noyau pédonculopontin et le tronc cérébral (Kita and Kita, 2012). Par ailleurs les projections corticales sont organisées topographiquement, les aires motrices projettent vers la partie dorso-latérale du NST, les aires associatives et limbiques projettent vers des zones plus médiales de ce noyau (Monakow et al., 1978; Afsharpour, 1985a; Nambu et al., 1996; Haynes and Haber, 2013; Kita et al., 2014). Les neurones corticaux forment principalement des synapses sur les dendrites distales et les épines dendritiques, et modulent l'activité du NST via des récepteurs AMPA et NMDA (Bevan et al., 1995; Chu et al., 2015). Si la distinction entre les trois territoires fonctionnels est assez bien marquée chez le primate non humain, celle-ci est bien moins marquée chez le rongeur (Afsharpour, 1985a; Nambu et

al., 1996; Kita et al., 2014). Cependant, du fait de l'innervation massive, les neurones corticaux peuvent innerver plusieurs neurones du NST, et ceux-ci ont des arbres dendritiques relativement étendus par rapport à la taille du NST (Afsharpour, 1985b; Bevan et al., 1995). Ces données suggèrent l'idée d'une convergence des informations corticales au niveau du NST.

Le noyau parafasciculaire projette également de façon ipsilatérale et organisée topographiquement (Sugimoto and Hattori, 1983; Canteras et al., 1990; Groenewegen et al., 1990; Féger et al., 1994; Bevan et al., 1995). En particulier chez le rat, les zones médiales, centrales et latérales projettent sur les territoires correspondants du NST, tout en émettant des projections collatérales vers le striatum et le cortex (Groenewegen et al., 1990; Féger et al., 1994; Bevan et al., 1995). La littérature disponible suggère que les synapses formées sur le NST aboutissent à une activation des récepteurs AMPA et NMDA au niveau post-synaptique (Mouroux and Féger, 1993). Cette connexion semble fonctionnelle in-vivo car l'activation unilatérale du noyau parafasciculaire aboutit à une augmentation d'activité dans le NST ipsilatéral (Mouroux et al., 1995).

Enfin il a été montré, notamment chez le rat, que le NST reçoit dans sa partie dorsale des influx excitateurs depuis le colliculus supérieur, présumés glutamatergiques eux aussi (Coizet et al., 2009). Ces projections relaient des informations depuis la moitié inférieure du champ visuel. Toutefois les récepteurs post-synaptiques mis en jeu sont encore inconnus.

ii) Transmission GABAergique

La majeure partie des influx inhibiteurs qui arrivent au NST sont transmis par la voie indirecte et proviennent des projections ipsilatérales des neurones GABAergiques du GPe exprimant les marqueurs Parvalbumine, Nkx2-1 et LHX6 (Mastro et al., 2014; Abdi et al., 2015; Dodson et al., 2015). On estime qu'environ 70 à 80% des neurones du GPe innervent le NST (Bevan et al., 1998; Mallet et al., 2012; Mastro et al., 2014; Abdi et al., 2015). Ceux-ci sont organisés de telle sorte que chaque neurone du NST reçoit des informations de la part d'une petite fraction des neurones du GPe (Baufreton et al., 2009).

Ces afférences sont organisées de manière topographique. Ainsi, la partie rostrale du GPe, associative, projette au niveau de deux tiers médians du NST qui représente une zone un peu plus étendue que le territoire associatif. Alors que la partie centrale du GPe (sensorimotrice) projette sur les deux tiers rostraux du NST, recouvrant le territoire

sensorimoteur du NST (Carpenter et al., 1981; Parent and Hazrati, 1995b). La partie limbique du NST reçoit en revanche des afférences GABAergiques en provenance de la partie ventrale du GPe qui est plutôt appelée Pallidum Ventral (PV) et qui correspond au territoire limbique du pallidum. Les afférences du GPe vers le NST projettent vers un grand nombre de neurones qui peuvent être relativement distants spatialement, mais n'établissent qu'un nombre restreint de contacts synaptiques qui sont situés en majorité à proximité du soma et à la base des dendrites (Smith et al., 1990; Baufreton et al., 2009; Atherton et al., 2013). Ces axones exercent une action inhibitrice via des courants ioniques dépendants du GABA (Baufreton et al., 2001; Hallworth and Bevan, 2005; Fan et al., 2012).

Il doit être également noté que le noyau pédonculopontin envoie une projection GABAergique vers le NST bien que celle-ci soit plus modeste que celle en provenance du GPe/PV (Bevan and Bolam, 1995).

iii) Autres neuro-modulateurs de l'activité du NST

Les neurones cholinergiques du noyau pédonculopontin innervent intensément le NST, bien qu'il y ait peu d'études sur l'impact spécifique de ces projections (Bevan and Bolam, 1995). Le noyau pédonculopontin projette de façon bilatérale avec une préférence ipsilatérale via des neurones cholinergiques et non-cholinergiques qui semblent majoritaires (Kita and Kita, 2011). Cependant l'activation des récepteurs muscariniques augmente l'activité du NST et inhibe les synapses GABAergiques du GPe par un mécanisme dépendant des récepteurs M3 (Shen and Johnson, 2000). S'il n'existe pas de preuve directe concernant la nature de la neurotransmission, comme ces deux types de neurones expriment au niveau de leurs terminaisons de hauts niveaux de glutamate, il a été fortement envisagé que celui-ci soit utilisé.

Le NST reçoit aussi une modulation sérotoninergique majeure depuis le noyau dorsal du raphé (Lavoie and Parent, 1990; Parent et al., 2010; Wallman et al., 2011). Les synapses sérotoninergiques sont distribuées uniformément à l'intérieur du NST et sont disposées de façon asymétrique sur les dendrites distales et les épines dendritiques (Parent et al., 2010; Wallman et al., 2011). La sérotonine agit via les récepteurs 5HT-2C (couplés à la protéine Gq) et 5HT-4 (couplé Gs) pour activer les neurones du NST, et inhibe une sous population neuronale exprimant le récepteur 5HT-1A via un mécanisme dépendant de protéines Gi (Stanford et al., 2005; Xiang et al., 2005; Shen et al., 2007). La sérotonine a également pour

effet de réduire la probabilité de relargage de glutamate et de GABA via l'activation présynaptique de récepteurs 5HT-1B couplés à des protéines Gi (Shen and Johnson, 2008).

Le NST reçoit une neuro-modulation de la part des neurones dopaminergiques du mésencéphale chez le primate (François et al., 2000) et le rongeur (Hassani et al., 1997; Cragg et al., 2004). Ces projections sont également organisées de sorte qu'il y ait une correspondance assez bien conservée entre les territoires selon l'axe médio-latéral (Hassani et al., 1997). Les synapses dopaminergiques sont assez uniformément réparties sur les dendrites et au niveau du soma des neurones du NST (Cragg et al., 2004; Galvan et al., 2014). La dopamine excite et augmente le niveau d'activité des neurones via des récepteurs post-synaptiques D1 (couplés à Gs) et via des récepteurs de la famille D2 (couplés Gi) présents au niveau post-synaptique et extra-synaptique (Loucif et al., 2008). En particulier la famille de récepteurs D5 permet une augmentation des courants calciques dans les neurones du NST ce qui favorise la génération de bouffées de potentiels d'action (Baufreton et al., 2003; Chetrit et al., 2013). La dopamine agit également au niveau présynaptique par des récepteurs D2 (couplés à Gi) pour réguler la probabilité de relargage de glutamate et de GABA (Shen and Johnson, 2000; Baufreton and Bevan, 2008). De façon intéressante, ces projections dopaminergiques sont également sujettes à un phénomène de dégénération dans la maladie de Parkinson, leur perte a pu être reliée en partie aux activités pathologiques observables dans le NST (François et al., 2000).

b) Efférences du NST

i) *Efférences subthalamo-pallidales*

Le NST projette vers différents segments du complexe pallidal, ces projections visent ainsi le GPe, le GPi et le PV. Ces projections suivent l'organisation fonctionnelle topographique du NST. Les neurones de la partie limbique du NST projettent directement au PV alors que les neurones moteurs du NST projettent vers le GPi et le GPe (Groenewegen and Berendse, 1990; Parent and Hazrati, 1995b; Joel and Weiner, 1997). Ces projections respectent également l'organisation en territoires fonctionnels du NST (Kita and Kitai, 1991).

ii) *Efférences subthalamo-nigrales*

La SN est une autre structure vers laquelle le NST projette. Les projections du NST les plus importantes sont celles qui innervent la SNr (Groenewegen et al., 1990; Parent and

Hazrati, 1995b). Ces projections sont organisées selon une topographie respectant les territoires moteur, associatif et limbique du NST. Une partie de ces connexions converge également vers la SNc mais de manière moins importantes (Plantinga et al., 2016). Ces projections suggèrent un rôle possible de contrôle du NST sur l'activité du système dopaminergique. L'organisation topographique des projections subthalamo-nigrales est faite de telle manière que l'axe médio-latéral du NST est transposé sur un axe dorso-ventral au niveau nigral (Groenewegen et al., 1990; Parent and Hazrati, 1995b).

iii) Efférences subthalamo-striatales

Moins importantes que les deux précédentes, les projections du NST vers le striatum sont caractérisées par de longs axones (Kita and Kitai, 1987; Parent and Hazrati, 1995b). Elles sont également moins organisées de façon topographique mais les neurones de la partie ventro-médiane du NST (associative-limbique) projettent préférentiellement sur la partie rostrale du striatum ainsi que la partie latérale du NAc. Les neurones de la région latérale du NST (motrice) innervent le striatum dorsal (moteur) (Takada et al., 1988; Groenewegen and Berendse, 1990).

iv) Autres efférences du NST

Les neurones du NST innervent également d'autres structures comme les noyaux ventrolatéral et rostroventral du thalamus (Nauta and Cole, 1978), le cortex (Kita and Kitai, 1987; Degos et al., 2008), le noyau dorsal du raphé (Kita and Kitai, 1987), le noyau pédonculopontin (Hammond et al., 1983) ainsi que l'ATV (Groenewegen and Berendse, 1990). Ces connexions sont très importantes pour l'implication du NST dans la motivation car certaines de ces structures ont un lien plus ou moins direct avec le circuit de la récompense, comme il sera détaillé plus dans ce manuscrit.

On retrouve ainsi sur l'ensemble des connexions du NST différentes structures impliquées dans une très grande diversité de processus : sensoriels, moteurs, associatifs et limbiques (Figure 4). L'ensemble de ces interactions suggère que le NST est susceptible d'intervenir dans un très grand nombre de processus.

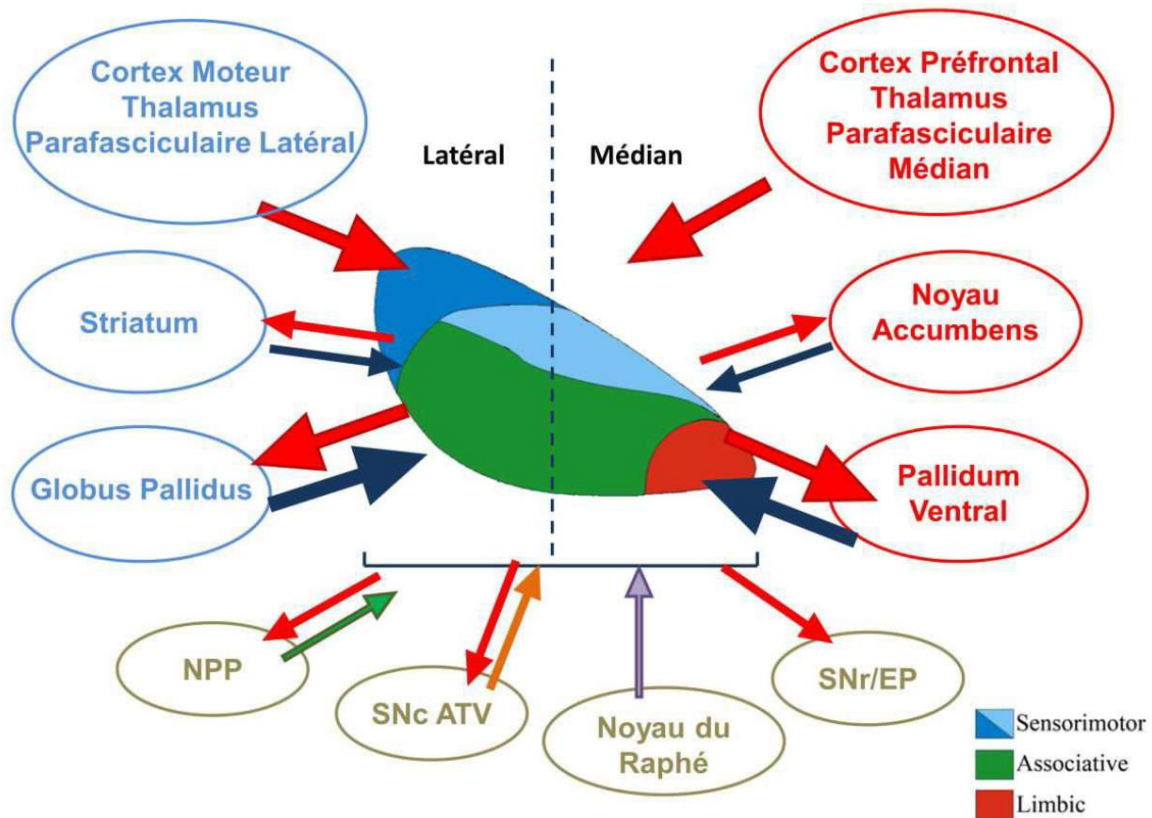


Figure 4 : Territoires fonctionnels, afférences et efférences du noyau subthalamique (NST). Représentation des différents territoires fonctionnels du NST : sensorimoteur (bleu foncé et clair), associatif (vert) et limbique (rouge). Structures projetant vers le NST médian (nom en rouge), vers le NST latéral (nom en bleu) ou vers la totalité du NST (nom en marron). Les pointillés séparent la partie médiane de la partie latérale du NST. Les flèches représentent les connexions anatomiques entre les différentes structures des ganglions de la base (GB). La taille des flèches représente l'importance relative des connexions en termes d'anatomie. La couleur des flèches représente leur neurotransmetteur ou neuro-modulateur : glutamate (rouge), GABA (bleu), dopamine (orange), sérotonine (violet), Acétylcholine (vert). NPP, noyau pédonculopontin ; SNc, substance noire compacte ; ATV, aire tegmentale ventrale ; SNr, substance noire réticulée ; EP, noyau entopédonculaire ou segment interne du globus pallidus.

3) Activité du NST

a) Activité in-vitro du NST

L'activité des neurones du NST, lorsqu'elle est enregistrée in vitro, est déterminée par plusieurs facteurs : Lorsque le potentiel de membrane se situe entre -35/-50mV, on observe une décharge tonique des neurones du NST. Aux environs de -60mV les neurones émettent

des décharges par bouffées, et en dessous de -60mV ils ne présentent plus d'activité de décharge. Au-dessus de -30mV la fréquence de décharge augmente mais l'amplitude des potentiels d'action diminue progressivement jusqu'à l'arrêt de l'activité (Beurrier et al., 1999; Bevan and Wilson, 1999; Bevan et al., 2000, 2002).

La décharge tonique dépend essentiellement de l'activité des canaux voltage-dépendants sensibles à la tétródotoxine (Beurrier et al., 1999; Bevan et al., 2000). L'hyperpolarisation est supportée par l'activation de canaux potassiques (Beurrier et al., 1999; Bevan and Wilson, 1999; Bevan et al., 2000). La décharge par bouffée est supportée par des canaux calciques, qui peuvent être activés une fois que la membrane a été hyperpolarisée. L'entrée de calcium par ces canaux de type L permet l'établissement d'une phase de plateau où les potentiels d'actions sont générés (Song et al., 2000). L'activation de canaux calciques à haut seuil favorise l'émission des potentiels d'actions par les neurones. Le retour à un état d'excitation plus faible est réalisé par l'intermédiaire de canaux potassiques qui vont être activés par les hautes concentrations de calcium générées durant la phase plateau. Ces canaux vont permettre une sortie de potassium et une repolarisation de la membrane (Beurrier et al., 1999). La capacité des neurones à décharger en bouffées semble étroitement dépendante du potassium (Wilson et al., 2004; Strauss et al., 2008).

b) Activité motrice du NST et rôle dans la maladie de Parkinson

La première fonction identifiée du NST a été son rôle moteur car des lésions du NST aboutissaient à l'apparition de mouvements anormaux hyperkinétiques de type ballique ou hémiballique (Whittier and Mettler, 1947; Whittier, 1948; Carpenter, 1955). Par la suite, il a été montré que les neurones du NST répondent de façon sélective, voire spécifique, aux mouvements articulaires (Wichmann et al., 1994). Par ailleurs, conformément à la topographie corticale, les neurones qui répondent au mouvement du bras ont une position plus latérale que ceux qui répondent à un mouvement des membres inférieurs (Monakow et al., 1978). En accord avec les données anatomiques indiquant des connexions en provenance des aires corticales visuelles et du colliculus supérieur, les neurones dans les territoires ventraux présentent une sensibilité aux stimuli visuels et à l'activité oculomotrice (Matsumura et al., 1992; Coizet et al., 2009). Les augmentations d'activité observées au sein du NST lors du mouvement et le fait que la microstimulation du NST ne permette pas de générer de mouvements ont progressivement permis de montrer que le NST permet de supprimer les mouvements non désirés ou d'achever des mouvements déjà initiés (Matsumura et al., 1992;

Wichmann et al., 1994; Mink, 1996). Ces travaux anciens ont été confirmés par les nombreuses études lésionnelles conduites chez le rat surtout et montrant un déficit dans la sélection des réponses appropriées (Baunez and Robbins, 1997, 1999; Winstanley et al., 2005) et un problème dans le contrôle de l'inhibition motrice (Eagle and Baunez, 2010 pour revue). Ces aspects seront abordés plus loin dans le manuscrit.

Le rôle fondamental du NST dans les processus moteurs a été mis en lumière par sa physiopathologie particulière dans le cas de la maladie de Parkinson. La maladie de Parkinson est une pathologie dégénérative des neurones dopaminergiques de la substance noire, ce qui affecte le fonctionnement du système nerveux et notamment des ganglions de la base. Le rôle central du NST dans cette pathologie a commencé à émerger suite à des enregistrements montrant une augmentation d'activité au sein du NST chez un modèle de primate parkinsonien (Mitchell et al., 1989). Il a depuis été montré pour des modèles de primates parkinsoniens (après traitement au MPTP : 1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) une augmentation des décharges neuronales et notamment par bouffées pour les neurones du NST et du GPi (Filion and Tremblay, 1991; Bergman et al., 1994; Sterio et al., 1994). Ces variations correspondent à une mise en jeu plus importante de la voie indirecte par rapport à la voie directe, en raison d'un plus faible niveau de dopamine qui inhibe la voie indirecte de façon moins efficace. Ces augmentations d'activités phasiques sont étroitement associées à une augmentation d'activité oscillatoire dans la bande bêta (13-30Hz) dans les enregistrements en potentiels de champ locaux (LFP : « Local Field Potentials ») (Brown et al., 2001; Levy et al., 2002; Kühn et al., 2004; Delaville et al., 2015). Ces augmentations de l'activité LFP sont associées avec une augmentation de la synchronisation entre les neurones du NST (Levy et al., 2002; Kühn et al., 2005) et une plus grande synchronisation entre les structures des GB telles le GPi (Brown et al., 2001) ou le cortex (Marsden et al., 2001). La synchronisation des oscillations entre STN et cortex a été établie comme un mécanisme physiopathologique fondamental de la maladie de Parkinson (Delaville et al., 2015; Deffains et al., 2016).

De façon intéressante, ces activités pathologiques sont corrélées avec la sévérité des symptômes de la maladie (Bergman et al., 1994; Kühn et al., 2009; Chen et al., 2010). Le traitement historique de la maladie de Parkinson, basé sur la prise régulière du précurseur de la dopamine : la L-DOPA, réduit les symptômes moteurs de la maladie (Barbeau et al., 1961; Birkmayer and Hornykiewicz, 1961). Puisque ce traitement à la L-DOPA a pour effet de

réduire les activités pathologiques au sein du NST, diminue la fréquence des décharges en bouffées et réduit l'activité dans la bande bêta (Filion et al., 1991; Brown et al., 2001; Levy et al., 2002; Delaville et al., 2015). On peut donc faire le lien entre ces activités électrophysiologiques au sein du NST et le manque de dopamine. En conséquence, l'activité du NST constitue un biomarqueur direct des symptômes de la maladie de Parkinson et de l'efficacité des traitements pharmacologiques.

Suite aux travaux historiques de Mitchell montrant un niveau d'activité augmenté au sein du NST, le rôle fondamental de cette structure a été ensuite confirmé par l'amélioration des symptômes moteurs chez le primate consécutive à une lésion ou une stimulation cérébrale profonde à haute fréquence (SCP-HF) du NST (Bergman et al., 1990; Benazzouz et al., 1993). Ces découvertes ont conduit à l'utilisation de la SCP-HF du NST chez le patient parkinsonien qui permet également une amélioration des symptômes (Limousin et al., 1995; Deep-Brain Stimulation for Parkinson's Disease Study Group, 2001). Etant donné que la SCP-HF et la lésion ont le même effet et contribuent toutes deux à réduire les symptômes moteurs, il a été postulé que la SCP-HF permettait une inactivation du NST. Cependant le mécanisme exact de la SCP-HF reste toujours difficile à appréhender malgré de très nombreuses études sur le sujet. Les effets de la SCP-HF sur le NST et le réseau environnant seront discutés plus tard dans ce manuscrit.

c) Réponse des neurones du NST à une stimulation corticale :

La majorité des neurones du NST présentent une réponse stéréotypée suite à l'excitation du cortex, celle-ci est composée de 2 phases d'excitation séparées par une courte inhibition (Ryan and Clark, 1992; Fujimoto and Kita, 1993; Maurice et al., 1998a; Magill et al., 2006). La latence du premier pic d'excitation et le fait qu'il puisse être bloqué par des antagonistes glutamatergiques indiquent qu'il résulte de l'activation de la voie hyperdirecte (Rouzaire-Dubois and Scarnati, 1987; Fujimoto and Kita, 1993)). La phase d'inhibition a une durée d'environ 10 à 20ms (Maurice et al., 2003; Magill et al., 2006). Elle résulte de l'activation du GPe par le NST qui, en retour, inhibe le NST via leurs connexions réciproques (Rouzaire-dubois et al., 1980; Maurice et al., 1998a). Enfin si l'origine de la 2^e excitation a longtemps été sujette à débat, celle-ci est abolie par le blocage de la transmission cortico-striatale et le blocage de la voie striato-pallidale. Ce qui indique que ce pic d'excitation est supporté par l'activation de la voie indirecte via les connexions cortico-striato-pallido-subthalamiques (Maurice et al., 1998a, 1998b). Il doit être noté que certains neurones ne

présentent pas cette réponse triphasique. Des études récentes ont montré une réorganisation de la connectivité fonctionnelle de la voie hyperdirecte dans la maladie de Parkinson, ce qui favoriserait une transition vers l'activité pathologique du NST décrite précédemment (Pan et al., 2014; Chu et al., 2017). Par ailleurs, une étude plus récente a montré que la stimulation de la voie hyperdirecte motrice induit des réponses dans les territoires associatifs et limbiques et pas uniquement moteurs du NST. Les mêmes résultats ont été obtenus pour les projections limbiques et associatives de la voie hyperdirecte (Janssen et al., 2017). Ces données suggèrent que le NST constitue un niveau où les informations corticales, bien qu'acheminées par des réseaux parallèles, convergent vers des territoires qui autorisent l'échange d'information.

4) Modalités du traitement de l'information par les GB

a) Une organisation en boucles parallèles

En même temps que l'organisation des projections au sein des GB a progressivement été décrite, plusieurs études ont cherché à décrire comment est distribuée et traitée l'information au sein de ce réseau. En se basant sur des données anatomiques et électrophysiologiques, Alexander et collaborateurs proposent en 1986 un modèle de ségrégation fonctionnelle du traitement de l'information sur l'ensemble du réseau des GB. Il décrit ainsi cinq boucles cortico-baso-thalamo-corticales distinctes : une boucle motrice, une boucle oculomotrice, deux boucles associatives (préfrontale dorsolatérale et orbitofrontale latérale) et une boucle limbique (Alexander et al., 1986). Ce modèle implique que chaque structure des GB est subdivisée selon plusieurs territoires qui vont traiter un type d'information donné (moteur, associatif, etc.) et chaque boucle relie les territoires correspondants entre les différentes structures (Figure 5).

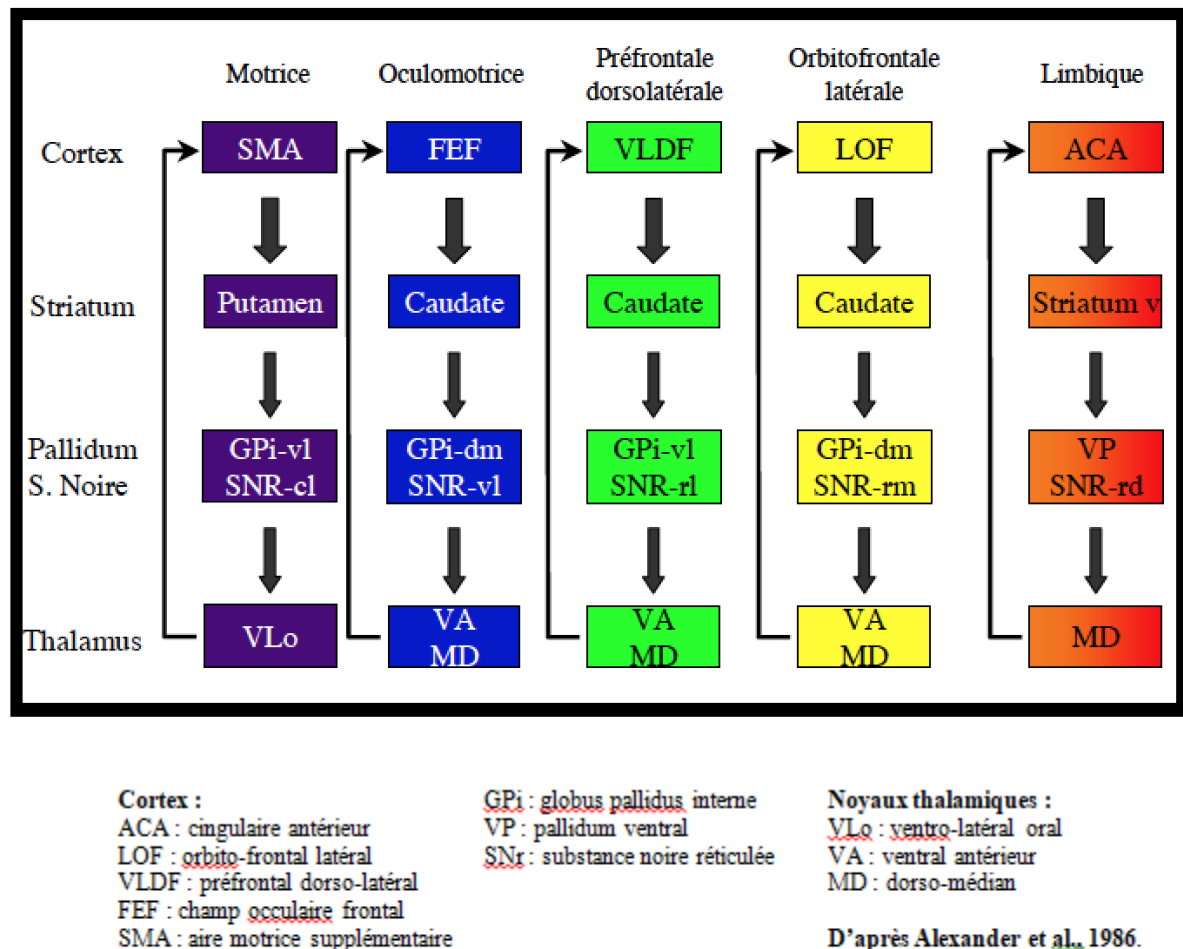


Figure 5 : Modèle d'organisation fonctionnelle des GB en boucles parallèles.

Si ce modèle est basé sur une ségrégation globale des différentes fonctions, il prend néanmoins en compte l'hypothèse d'une convergence de l'information. Cette hypothèse de la convergence de l'information est basée sur le fait que le nombre de neurones et le volume des noyaux diminuent progressivement selon l'axe cortex-striatum-structures de sortie (Kemp and Powell, 1971) ; et suggère que les informations issues des aires corticales convergent au niveau des GB (Percheron and Fillion, 1991). En revanche, Alexander et collaborateurs proposent un mécanisme de convergence bien délimité, un peu analogue à celui d'un entonnoir, où les aires corticales motrice, somatosensorielle, prémotrice et l'aire motrice supplémentaire convergent au sein de la boucle motrice mais celle-ci en retour innerve une seule aire corticale de façon spécifique (Alexander et al., 1986).

b) Un traitement de l'information global et intégré

A l'inverse, d'autres données plaident en faveur d'un traitement intégré des informations fonctionnelles, avec pour conséquence directe un retour d'information au cortex qui résulte d'une combinaison de plusieurs modalités fonctionnelles (Percheron et al., 1984; Yelnik et al., 1984, 1987; François et al., 1987; Percheron and Filion, 1991). Ces auteurs avancent que même si les axones et projections sont séparés sur plusieurs territoires apparemment distincts, il est nécessaire de considérer l'organisation tridimensionnelle des dendrites de la structure cible. Par exemple, la largeur du champ récepteur des neurones du GPi et de la SNr, associée à une orientation orthogonale des dendrites par rapport aux axones de projection du striatum favorisent la convergence des informations sensorimotrices et associatives (Percheron et al., 1984; Yelnik et al., 1984), ce qui favorise les mécanismes d'intégration.

Toutefois, certaines données plaident en faveur d'une unification des deux modèles (Nambu, 2011; Haynes and Haber, 2013). Par exemple au niveau de la voie hyperdirecte, les données histologiques suggèrent une certaine ségrégation de l'information, les aires corticales motrices projettent vers les territoires moteurs du NST, l'équivalent étant vrai pour les régions associatives et limbiques (Kita et al., 2014). Dans le même temps, les données électrophysiologiques indiquent que la stimulation des aires corticales motrices peut provoquer l'activation de neurones dans les territoires associatifs et limbiques du NST, ce qui montre une certaine capacité d'intégration et de convergence (Janssen et al., 2017).

c) Transfert d'information entre le striatum et la SNr, entre convergence et séparation : la théorie de la spirale

Les neurones dopaminergiques de la SNc, de l'aire rétro-rubrale et de l'ATV font également partie des GB et interviennent dans la régulation de nombreuses fonctions (Haber et al., 1995, 2000; Haber, 2003). Ils projettent vers le striatum et reçoivent en retour des influx striataux par l'intermédiaire de la voie directe, selon une organisation topographique. Cependant ces connexions ne sont pas strictement équivalentes, ainsi la partie dorso-latérale du striatum reçoit une très forte afférence dopaminergique des neurones situés dans la partie ventrale de la SNc. A l'inverse, les parties ventrales du striatum reçoivent un nombre plus réduit de projections et ces dernières sont issues de l'ATV (Figure 6). En contrepartie, le striatum ventral innerve massivement l'ATV et la SNc médiale mais la partie dorso-latérale

du striatum (sensorimotrice) n'envoie qu'un nombre limité de projections vers la SNr latérale. (Haber et al., 2000; Haber, 2003). En résumé, il existe une transition progressive depuis les territoires limbiques du striatum qui reçoivent de faibles influx et émettent un grand nombre de projections vers les territoires sensorimoteurs, qui reçoivent des influx dopaminergiques très importants mais n'envoient que peu de projections en retour.

Pour chaque région du striatum, trois projections sont renvoyées en direction des neurones dopaminergiques, une réciproque et deux non-réciproques. En conséquence les neurones dopaminergiques reçoivent également des informations issues d'une zone striatale où ils ne projettent pas. Cette interaction complexe entre connexions réciproques et non-réciproques forme un support anatomique qui favorise le transfert d'informations entre les différents circuits (Haber et al., 2000). L'ensemble forme une spirale ascendante qui réalise des interconnexions en les neurones dopaminergiques du mésencéphale et le striatum. Cette organisation permet un transfert progressif des informations depuis les territoires limbiques vers des circuits cognitifs et enfin moteurs, afin de favoriser la prise de décision et la sélection de réponses appropriés en fonction des stimuli environnementaux (Joel and Weiner, 2000; Haber, 2003).

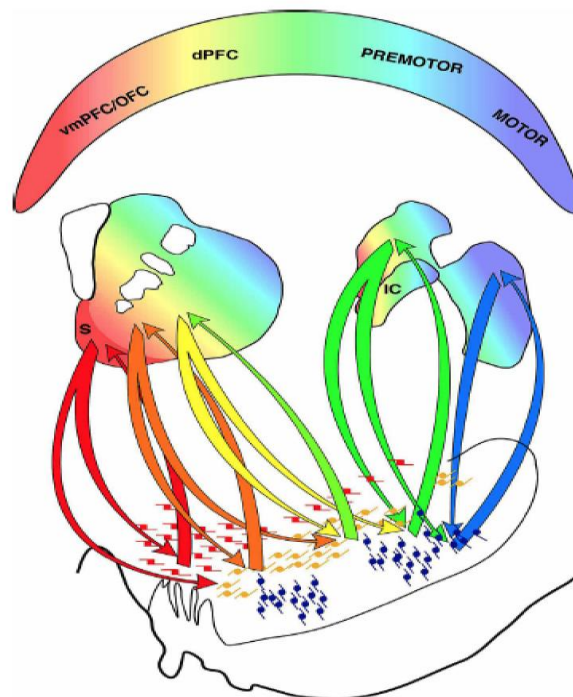


Figure 6 : Schéma global de l'organisation des projections striato-nigro-striatales. La partie supérieure correspond à la schématisation des entrées issues du cortex en fonctions des différents territoires fonctionnels. La partie Shell du NAc (S) projette

vers l'ATV et la partie la plus médiale de la SNc (flèches rouges). Les projections réciproques de l'ATV forment une boucle fermée qui revient vers le Shell. La SN médiale projette vers le striatum ventral (orange) qui en retour projette sur la SN médiane et des zones plus dorsales. Ces deux ensembles forment le premier niveau des boucles récursives qui partent des régions les plus médianes vers des zones plus latérales et dorsales : les territoires associatifs (jaune et vert) et enfin moteurs (bleu). De cette façon des zones du striatum ventral peuvent influencer les zones les plus dorsales. Abréviations : dPFC : cortex préfrontal dorsal, vmPFC : cortex préfrontal ventro-médian, OFC : cortex orbito-frontal, IC : capsule interne. D'après Haber, 2003.

d) Rôle des ganglions de la base dans la sélection d'une réponse comportementale

Un premier modèle a été proposé pour expliquer le fonctionnement des deux voies parallèles directe et indirecte qui produisent des effets opposés (Mink, 1996). Ce modèle a été repris suite à la découverte de la voie hyperdirecte et lorsque le NST a été redéfini comme une structure d'entrée des GB. Selon le modèle proposé par Nambu, la sélection de l'action s'effectuerait en trois temps (Nambu et al., 2002; Nambu, 2008). Dans un premier temps l'activation de la voie hyperdirecte conduirait à une activation à grande échelle du GPi et de la SNr, ce qui empêcherait l'initiation d'une réponse motrice de façon prématurée. Dans un deuxième temps, l'activation de la voie directe permettrait la sélection d'un programme moteur approprié comme cela avait été décrit par Mink (1996). Enfin dans un troisième temps, l'activation de la voie indirecte permettrait d'éviter la mise en place de programmes moteurs non-appropriés mais également activer de façon globale les structures de sortie ce qui mettrait fin au mouvement. Depuis, il a été montré que la stimulation des neurones de la voie directe permet le déclenchement d'activité locomotrice (Kravitz et al., 2010). A l'inverse, la stimulation de la voie indirecte réduit cette activité et mime l'expression d'un phénotype parkinsonien (Kravitz et al., 2010). En cohérence avec ces modèles, il a été montré que la capacité de la voie directe à générer des mouvements dépendait du niveau d'inhibition de la SNr parmi un ensemble hétérogène de neurones excités et inhibés ; à l'inverse l'inhibition motrice via la voie indirecte résulte du niveau d'excitation des neurones de la SNr (Freeze et al., 2013). Enfin des études récentes montrent que la genèse de mouvements résulte d'un équilibre complexe qui nécessite l'activation de la voie directe et indirecte (Tecuapetla et al., 2014, 2016).

5) Le NST, le contrôle inhibiteur et la prise de décision

Les réseaux des ganglions de la base interviennent dans de très nombreux processus. D'après les résultats présentés précédemment le NST joue un rôle crucial dans l'inhibition de réponses motrices. De par ses connexions avec des structures impliquées dans des processus associatifs et limbiques, le NST devrait être en mesure d'influer sur la régulation de ces comportements.

a) Rôle du NST dans le contrôle de l'inhibition

Le contrôle de l'inhibition est associé à deux notions : l'impulsivité et la compulsivité. L'impulsivité correspond à l'incapacité à arrêter une action en cours, à ralentir ou à empêcher l'initiation d'une action qui conduit le sujet à agir de manière prématurée. Celle-ci se décline sous deux formes : l'impulsivité de choix et l'impulsivité d'action (Eagle and Baunez, 2010). La compulsivité est définie par l'incapacité à engager une nouvelle action, ce qui conduit à une répétition systématique d'un même comportement stéréotypé, et ce même si l'action engagée est inappropriée à la situation.

Plusieurs études ont démontré que le NST était engagé dans des processus liés à l'impulsivité d'action : s'il est lésé bilatéralement ou unilatéralement, cela aboutit à une diminution des temps de réaction des animaux et à de nombreuses réponses anticipées (Baunez and Robbins, 1997; Phillips and Brown, 1999). L'utilisation de la tâche de choix à 5 trous ou 5-CSRTT (« 5-Choice Serial Reaction Time Task ») a permis de mettre en évidence ces altérations. Dans cette tâche, afin d'obtenir une récompense les animaux doivent mettre leur nez dans le seul trou parmi 5 dans lequel une lumière a été allumée. En cas de réponse prématurée la récompense n'est pas donnée. Il a été montré que l'inactivation pharmacologique du NST (en utilisant le muscimol, un agoniste GABAergique), comme la lésion excitotoxique, augmentent le nombre de réponses prématurées, persévératives et d'omissions (Figure 7) (Baunez and Robbins, 1997, 1999). L'ensemble de ces résultats a notamment contribué à la théorie supportée par le modèle de Frank, qui suggère que le NST peut exercer un rôle de retardateur dans l'exécution d'une réponse comportementale (Frank et al., 2007). Plus récemment, une étude a montré le rôle causal du NST pour les mécanismes d'inhibition comportementale, la stimulation des neurones du NST induisant une pause dans

les comportements de léchage de nourriture sucrée, alors que l'inhibition facilite la poursuite de ces comportements malgré la présence de signaux distrayeurs (Fife et al., 2017).

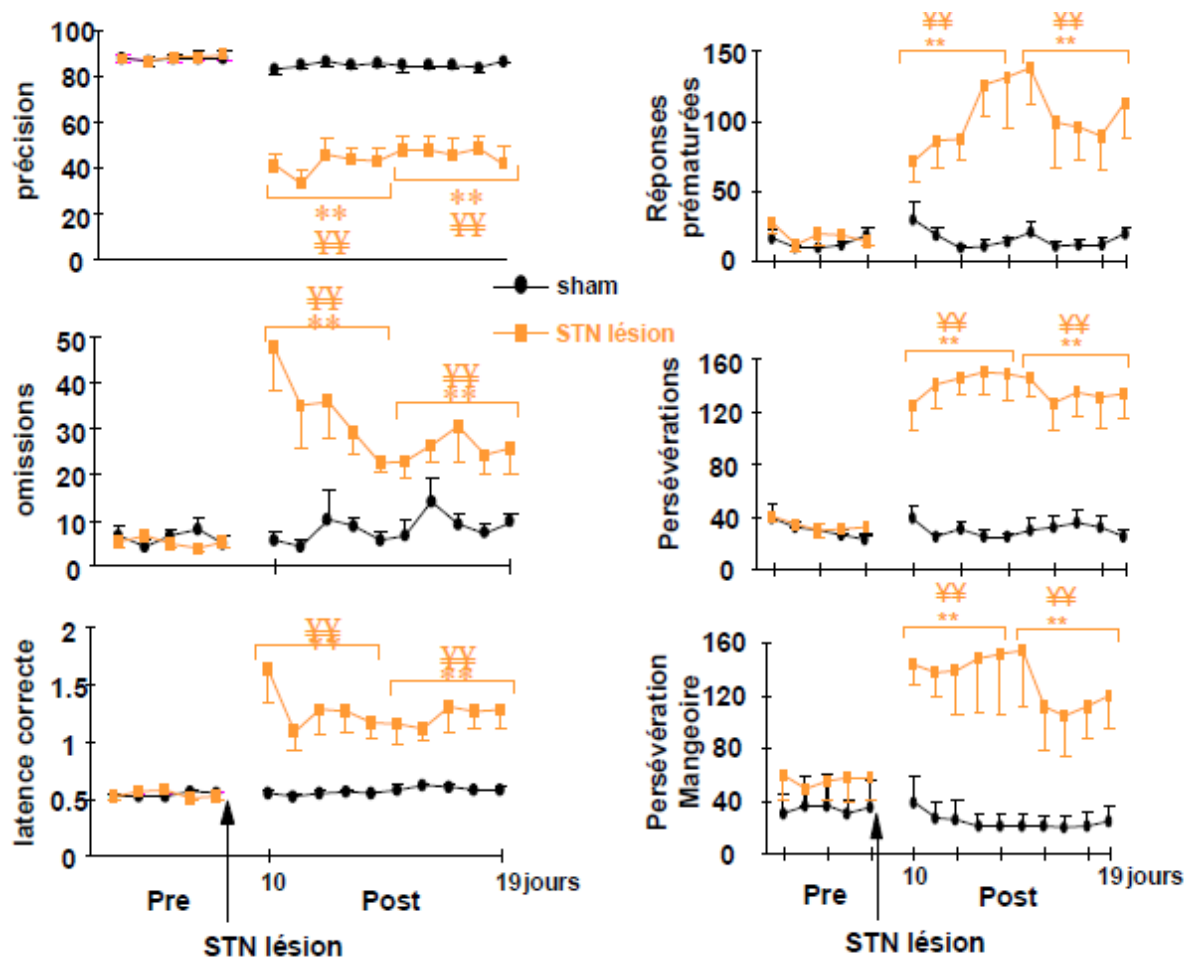


Figure 7 : Effet de la lésion du NST sur les performances dans la tâche 5-CSRTT. La lésion du NST (STN) diminue la précision des réponses, augmente le nombre d'omissions, la latence des essais corrects, le nombre de réponses prématurées, le nombre de réponses persévératives dans les trous et le nombre de persévérations dans la mangeoire, par rapport aux animaux contrôles (sham) et par rapport à la période préopératoire (pre); post: post-opératoire. **: comparaison aux animaux sham; ¥¥: comparaison à la période préopératoire. D'après Baunez et al., 1997.

Par ailleurs, de nombreuses des données ont été obtenues grâce à la tâche de « 5-CSRT » et ont permis de mettre en place un circuit de contrôle de l'inhibition (Eagle and Baunez, 2010). Ces tâches de « 5-CSRTT », de « go/no go » ou de « stop signal reaction time » visent à évaluer les capacités à sélectionner et effectuer une action appropriée en fonction d'un signal initiateur ou au contraire à réagir à un signal indiquant qu'il faut arrêter ou ne pas initier la réponse. Même si les mécanismes impliqués dans ces tâches sont

différents, certaines analogies sont néanmoins possibles. Ainsi, l'activation du NST a été mise en évidence lors de la réalisation d'une tâche de stop (Aron and Poldrack, 2006). A l'inverse chez les rats, la lésion du NST réduit leur capacité à arrêter une action en cours, notamment lorsque le signal de stop est tardif (Eagle et al., 2008). Le même type de déficit a pu être observé chez le patient parkinsonien après subthalamotomie (Obeso et al., 2014). Ces éléments ont contribué à faire émerger les fonctions frontales du NST, qui ont encore été renforcées par des expériences de déconnexions entre cortex préfrontal et NST, qui ont montré une diminution des performances et mis en avant la nécessité d'une communication fonctionnelle entre cortex préfrontal et NST afin d'assurer les processus d'inhibition comportementale (Chudasama et al., 2003). Ceci a permis d'intégrer dans un même cadre conceptuel le cortex préfrontal, le NST et certaines structures du circuit de la récompense (Eagle and Baunez, 2010). Par ailleurs des neurones de la partie ventro-médiane du NST chez le singe ont été identifiés pour leur rôle dans l'encodage des comportements d'arrêt (Pasquereau and Turner, 2017).

L'impulsivité de choix peut être appréhendée au moyen du test de « delay-discounting » qui permet d'évaluer le choix entre une petite récompense immédiate ou une grande récompense distribuée avec un délai. Un exemple célèbre de cette tâche est le test du « Marshmallow » qui illustre la difficulté à attendre une récompense retardée : <https://www.youtube.com/watch?v=QXoy9614HQ>. Dans ce type de procédure les animaux possédant une lésion du NST présentent un niveau d'impulsivité réduit (Winstanley et al., 2005), en accord avec les données obtenues précédemment chez le rat, qui témoignent d'un niveau de motivation plus élevé pour la nourriture (Baunez et al., 2002). Cette dissociation des effets de la lésion du NST entre impulsivité de choix et d'action a pu être confirmée dans un deuxième temps (Uslaner and Robinson, 2006). Par ailleurs l'ensemble de ces résultats indiquent que le contrôle de l'inhibition peut être étroitement associé et dépendant de la motivation du sujet pour une récompense donnée (Eagle and Baunez, 2010). Il semble notamment qu'en absence de NST, le conflit entre attente et récompense penche au bénéfice de la récompense.

La compulsivité correspond à une perte de contrôle de l'inhibition et se manifeste par la répétition d'une action même si celle-ci est inappropriée, comme on peut le constater chez les patients atteints de troubles obsessionnels compulsifs (TOCs). Parmi les comportements compulsifs, on retrouve notamment les comportements d'addiction où le mode de

consommation ne correspond plus à un usage récréatif mais au contraire à une consommation en dépit de conséquences néfastes pour soi ou l'entourage. Dans cette optique, les réponses persévératives dans la tâche « 5-CSRT » permettent de fournir une indication sur la capacité des animaux à réprimer ces réponses inappropriées. Or la lésion du NST induit une augmentation des réponses persévératives (Baunez and Robbins, 1997), et de façon analogue, ces résultats ont été retrouvés après inactivation pharmacologique (Baunez and Robbins, 1999) et SCP-HF du NST (Baunez et al., 2007). Les études chez les patients souffrant de TOCs ont progressivement mis en lumière la contribution du NST dans les processus compulsifs. La SCP-HF du NST a permis chez des patient parkinsoniens souffrant également de TOCs de réduire la fréquence et l'intensité des TOCs (Mallet et al., 2002). La SCP-HF du NST s'est progressivement imposée comme une piste thérapeutique majeure pour le traitement de ces troubles (Mallet et al., 2008a). Il a été montré que des oscillations à basse fréquence dans la bande 1-4Hz apparaissaient dans le NST chez ces patients mais pas chez des patients atteints de la maladie de Parkinson (Welter et al., 2011). Plus récemment, une autre étude a pu confirmer que la sévérité des TOCs était étroitement liée avec l'amplitude des oscillations Théta enregistrées dans le NST (Rappel et al., 2018). L'ensemble de ces résultats indique que le NST est impliqué dans des réseaux qui interviennent dans la gestion des processus en lien avec la compulsivité et que ceci implique un développement anormal d'activité oscillatoire à basse fréquence.

b) Activité du NST dans la prise de décision

D'un côté, assez peu d'études ont été faites chez l'animal concernant le rôle du NST dans la prise de décision. Néanmoins chez le rat, la lésion du NST rend les animaux conservateurs dans leur choix quand ils doivent choisir entre une petite récompense certaine ou une grande récompense incertaine (Breyse et al., en préparation). Le même effet de choix pour les options les moins risquées a été observé après SCP-HF du NST chez des rats dans une tâche de pari (Adams et al., 2017).

Chez l'homme (patients parkinsoniens pour la plupart), en revanche, de nombreuses études ont permis de montrer que l'activité du NST est modulée par le niveau de conflit et qu'il est impliqué dans la prise de décision (Frank et al., 2007; Cavanagh et al., 2011; Fumagalli et al., 2011; Coulthard et al., 2012; Zaghloul et al., 2012). Dans une tâche de choix probabiliste, où les patients devaient associer un bouton (droite ou gauche) avec une image présentée, avec une probabilité de succès variable en fonction de l'image, la SCP-HF du NST

provoque l'apparition d'un déficit (Coulthard et al., 2012). Il a été montré également que l'activité oscillatoire était augmentée dans la bande thêta lors de tâches présentant un haut niveau de conflit (Cavanagh et al., 2011; Fumagalli et al., 2011). De la même façon, les neurones du NST présentent une augmentation d'activité unitaire qui est proportionnelle au niveau de conflit présent lors d'un choix à faire ou la présentation d'un signal « stop » (Zaghloul et al., 2012; Bastin et al., 2014; Wessel and Aron, 2017). Par ailleurs, la présence de ces oscillations a pu être observée lors de la présentation de signaux prédictifs de la récompense ou de l'effort à fournir, suggérant l'idée de l'évaluation coût/bénéfice encodée au sein du NST (Zénon et al., 2016). Plusieurs études ont montré également que l'inhibition comportementale et la capacité des sujets à arrêter une action étaient étroitement associées à une augmentation des oscillations bêta, suggérant que ces oscillations jouent un rôle dans l'inhibition motrice et comportementale (Bastin et al., 2014; Benis et al., 2014; Wessel et al., 2016). Ces données suggèrent l'existence de deux types d'oscillations au sein du NST avec un rôle fonctionnel distinct : les rythmes thêta seraient liés à l'encodage d'une information en lien avec la prise de décision et les rythmes bêta seraient davantage reliés avec l'inhibition comportementale et la prévention de réponses prématurées.

B. Le NST intervient dans des processus limbiques et motivationnels

La motivation est définie comme l'ensemble des processus qui déterminent les actions et le comportement d'un individu pour atteindre un objectif ou assurer sa survie. Ainsi la prise de nourriture, de boisson, les comportements sexuels ou sociaux sont dits « motivés » et correspondent à un état d'éveil particulier du système nerveux. La motivation regroupe les processus qui poussent un individu à interagir avec son environnement en fonction de ses besoins (Di Chiara, 1995).

On peut distinguer deux phases pour ces comportements une phase anticipatoire (aussi nommée préparatoire ou instrumentale) et une phase consommatoire. Ainsi la motivation primaire, liée à la phase consommatoire, vise à répondre avant tout à un besoin physiologique. Elle peut être directement évaluée en mesurant la consommation d'une substance donnée (ex : quantité de nourriture ou de boisson). La motivation secondaire est en revanche liée à la phase anticipatoire, et correspond à un ensemble de signaux environnementaux et contextuels qui vont diriger le comportement vers la substance à consommer. Elle est généralement le résultat d'un apprentissage par association entre la récompense et un ensemble de stimuli externes.

Ce dernier élément permet de définir une autre notion, car les processus motivationnels impliquent l'apprentissage d'une relation entre les stimuli biologiquement signifiants (nourriture ou prédateurs) et une capacité à discriminer les autres stimuli neutres qui ne peuvent prédire de conséquences ayant un sens biologique. On peut ainsi décrire un stimulus avec une valence motivationnelle positive (comme de la nourriture) lorsqu'il est attractif et favorise les réponses qui augmentent sa présentation par un mécanisme de renforcement positif. Au contraire, un stimulus possédant une valence motivationnelle négative (un prédateur ou un danger) est aversif et favorise les réponses qui provoquent son évitement (i.e. renforcement négatif).

Par ailleurs, les stimuli peuvent être classés en fonction de la phase du comportement motivé à laquelle ils sont associés : anticipatoire ou consommatoire (Woodworth, 1918; Konorski, 1967). Durant la phase anticipatoire, les comportements sont dirigés par des stimuli dits 'incitateurs' (C. Bolles, 1972; Bindra, 1974), tandis que les stimuli dits 'récompensants' dirigent le comportement pendant la phase consommatoire du comportement motivé (Di Chiara, 1995). Ces deux types de stimuli et leurs propriétés peuvent être utilisés expérimentalement afin d'évaluer le niveau de motivation des animaux.

1) Les méthodes expérimentales pour évaluer la motivation

a) Tester la motivation primaire

La motivation primaire se teste en mesurant la consommation de la substance testée. Dans le cas de récompenses naturelles, sous forme de nourriture ou de boissons, il est assez facile de mesurer la motivation primaire car ces récompenses ont des propriétés gustatives. Cette mesure est plus difficile pour les drogues d'abus qui, chez l'animal, nécessitent une administration par injection intraveineuse pour une meilleure quantification, sauf l'alcool qui peut être consommé. Pour les drogues d'abus, la mesure des performances évaluées par la méthode du renforcement continu ou « ratio fixe » (ratio fixe 1 : une récompense est obtenue pour chaque appui sur un levier) peut donner une mesure de la consommation. Dans cette tâche un levier ou un trou « actif » permet à l'animal d'obtenir pour chaque activation effectuée une quantité donnée de récompense, tandis qu'un appui/nosepoke sur un second levier/trou « inactif » ne produit aucune conséquence. Comme cette tâche ne demande pas beaucoup d'effort, les récompenses obtenues sont donc pratiquement en accès libre. Par exemple les modèles d'escalade de la prise de drogue qui permettent aux rats de développer des critères d'addiction sont réalisés en procédure de renforcement continu (voir chapitre : Les bases neurobiologiques de la prise de drogues).

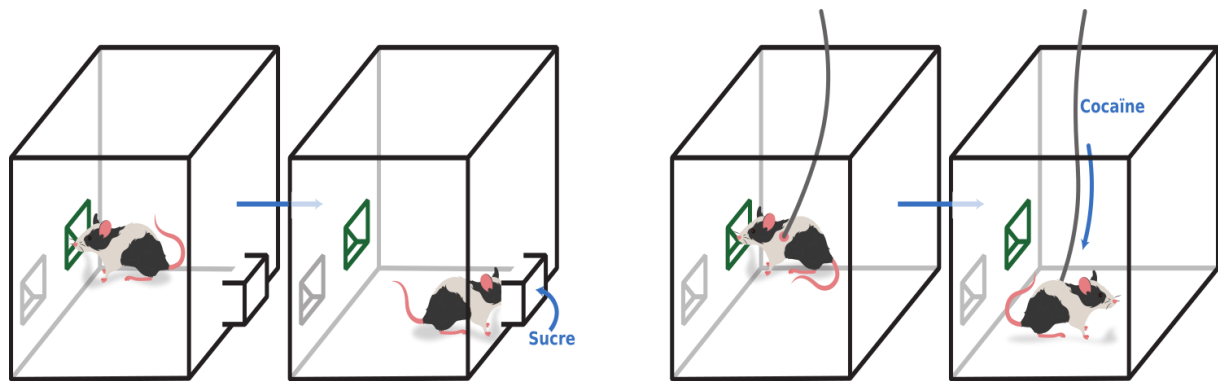


Figure 8 : Exemple de tests en boîte opérante. Un appui sur le levier/trou actif (vert) permet à l'animal d'obtenir sa récompense (granule de sucre (schéma de gauche) ou cocaïne (schéma de droite)). A l'inverse une action sur le levier/trou inactif (gris) n'entraîne aucune conséquence pour l'animal.

b) Tester la motivation secondaire

Il existe de nombreux tests (activité locomotrice conditionnée, « autoshaping », renforcement conditionné, transfert d'apprentissage pavlovien à l'apprentissage instrumental, préférence de place conditionnée, etc.) mis au point pour évaluer différents aspects de la motivation secondaire faisant appel à des associations entre un stimulus incitateur ou une action instrumentale et la récompense. Les tests les plus importants que nous avons utilisés pour cette étude sont les suivants :

- Le test de « ratio fixe 5 » est une procédure dérivée du renforcement continu, dans laquelle une récompense est obtenue après 5 appuis sur un levier. Ce test est un modèle intéressant car il permet de mesurer la motivation dans un contexte d'effort modéré, à la fois pour des récompenses naturelles et pour les drogues d'abus.

- Le test **de ratio progressif** nous a permis d'évaluer l'effort que les animaux pouvaient fournir pour obtenir une récompense. En effet, dans ce test, le nombre d'appuis requis sur un levier (ex : ratio) pour obtenir la même quantité de récompense est augmenté au cours de la session. On mesure ainsi le point de rupture qui correspond au dernier ratio complété par l'animal (Hodos, 1961). Ce test mesure l'effort maximal qu'un individu est prêt à fournir en échange d'une récompense, il permet donc une mesure quantitative de la motivation. Ce test est utilisable pour les récompenses naturelles et les drogues d'abus en auto-administration.

- Le modèle de résistance à la punition permet de mesurer la motivation pour les drogues d'abus malgré le risque pour l'animal de recevoir par exemple un choc électrique au niveau des pattes. Bien qu'il existe plusieurs variantes de cette procédure, nous avons utilisé une approche qui punit les comportements de recherche de drogue (Pelloux et al., 2007; Dilleen et al., 2012). Cette procédure permet d'évaluer le niveau de compulsion des animaux et donc leur motivation à rechercher de la drogue malgré les conséquences négatives et sera détaillé plus loin dans le manuscrit.

2) Théories de la motivation

Les théories de la motivation sont basées sur un concept fondateur qui est la théorie de l'homéostasie (Cannon, 1932). Derrière ce concept, il est nécessaire afin d'assurer la survie de l'individu que celui-ci puisse maintenir un état interne stable. Un système homéostatique vise en permanence à rééquilibrer les différences qu'il peut y avoir entre l'état physiologique réel et le « set point » correspondant à un état physiologique optimal (Figure 9). Ce concept permet d'expliquer un certain nombre de comportements motivés tels que la faim ou la soif ou même les comportements sexuels. Cependant cette théorie ne précise pas comment le cerveau gère la motivation au-delà de la simple détection d'un déséquilibre interne.

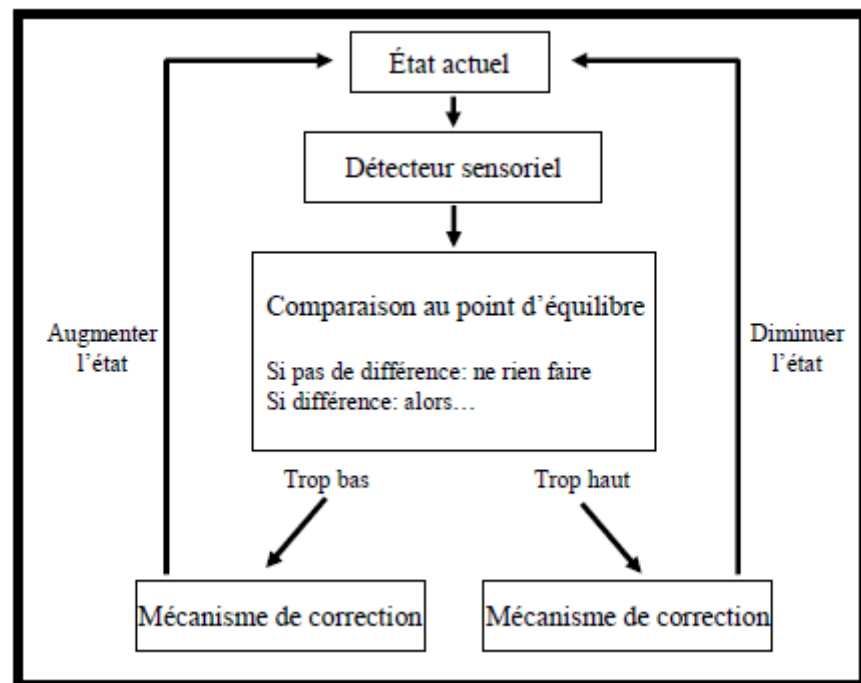


Figure 9 : Le mécanisme homéostatique utilise des boucles de rétrocontrôle pour corriger l'erreur dans l'état actuel. Celui-ci est comparé avec le point d'équilibre. S'il est trop haut ou trop bas, un mécanisme de correction de l'erreur est activé jusqu'à ce que l'état actuel retourne au niveau du point d'équilibre. D'après Berridge, 2004.

En revanche, plusieurs théories de la motivation sont basées sur le concept de la motivation incitative et mettent en avant que la simple présentation d'un stimulus est en mesure de générer un comportement motivé. Il a été notamment proposé que la motivation d'un individu dépende de l'anticipation de la récompense lors de la présentation de stimuli associés (Bindra, 1974). L'anticipation résulte d'un apprentissage de la valeur hédonique de la

récompense. Il doit être noté que pour Bindra, la motivation ne s'explique pas seulement par une anticipation car la récompense et le stimulus prédictif finissent par avoir la même valence émotionnelle. En conséquence, le stimulus conditionné finit par disposer de propriétés hédoniques propres.

L'hypothèse développée par Toates reprend les concepts de Bindra mais prend en compte l'état physiologique interne de l'individu (Toates, 1986). Un état physiologique déficitaire augmente la valeur incitative d'un stimulus, mais ce déséquilibre ne guide pas forcément le comportement motivé dans son ensemble, ce qui explique qu'un animal privé de nourriture sera plus motivé à travailler pour obtenir de la nourriture qu'un animal à satiété.

Plus récemment, il a été proposé une dissociation entre les concepts du désir (« wanting ») et du plaisir (« liking ») dans le modèle dit de l'« incentive salience » (Robinson and Berridge, 1993; Berridge and Robinson, 1998). Les auteurs réutilisent les concepts de Bindra et Toates mais identifient différents substrats cérébraux pour les composantes du désir et du plaisir liées à une même récompense. Le plaisir correspond ainsi à l'impact hédonique provoqué par la présentation de la récompense (plaisir inconditionné) ou du stimulus conditionné (plaisir inconditionné) (Delamater et al., 1986; Berridge and Schulkin, 1989). En revanche le désir ou « incentive salience » correspond à la valeur motivationnelle et incitatrice des stimuli sans qu'il y ait de plaisir ou d'attente du plaisir. Par exemple : il est possible de provoquer le désir (wanting) sans le plaisir (liking), notamment chez les toxicomanes qui vont pouvoir consommer de la drogue pour éviter les symptômes du manque et non pour une sensation de plaisir qu'ils n'éprouvent plus (Koob and Le Moal, 2001). Inversement, l'administration d'antagonistes dopaminergiques réduit l'effort que des animaux sont prêts à fournir pour obtenir de la nourriture (diminution du « wanting ») sans pour autant altérer les réactions faciales de plaisir à la nourriture sucrée chez des rats (« liking ») (Berridge and Robinson, 1998; Peciña and Berridge, 2000).

Enfin, le concept d'allostasie a été récemment développé (Koob and Le Moal, 2001). Les auteurs reprennent les caractéristiques d'une régulation homéostatique de la motivation, mais appliquées à une évolution dynamique. Dans ce contexte, les sujets présentent une déviation chronique du niveau de référence optimal ou « set point » qui sert à l'organisme pour évaluer les excès ou les déficits (Figure 10). Ce modèle reprend les concepts développés par Solomon et Corbit dans leurs modèles de processus opposés, qui correspond très bien aux

variations qui peuvent s'établir lors de prise chronique et compulsive de drogues (Solomon and Corbit, 1974).

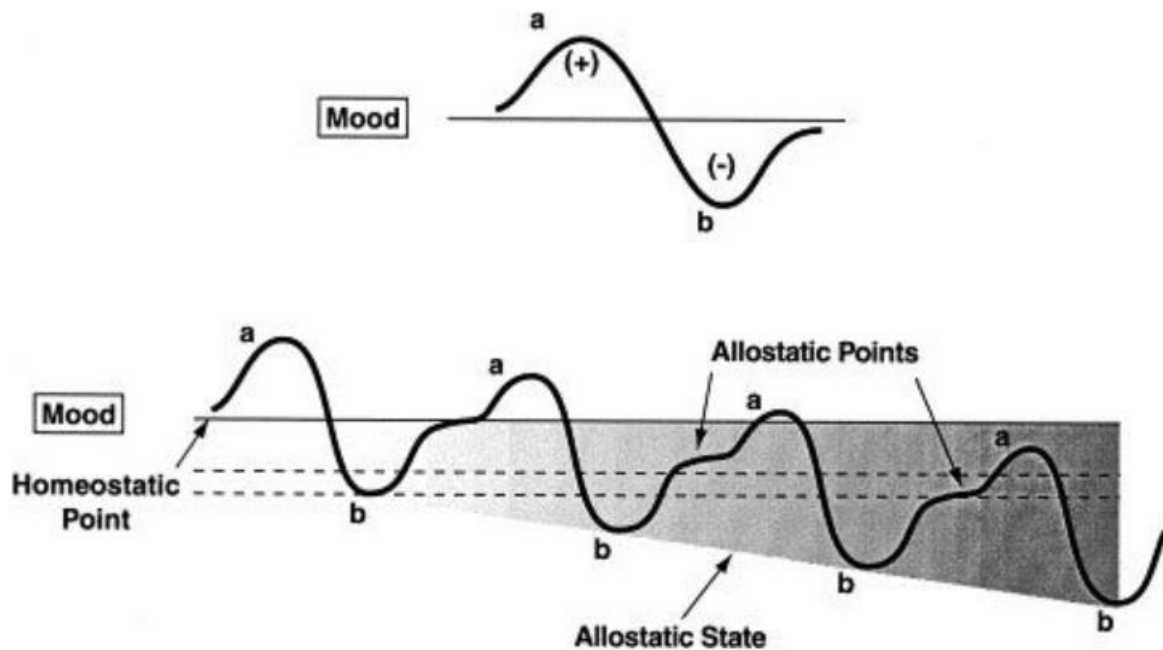


Figure 10 : Modèle de déviation chronique de l'équilibre homéostatique lié à la prise répétée de drogue. Panneau supérieur : Une prise de drogue induit tout d'abord un état émotionnel positif (processus a) puis un état émotionnel négatif (processus b) lorsque les effets de la drogue s'estompent. Panneau inférieur : la prise de drogue répétée induit progressivement un déplacement de l'équilibre émotionnel, à mesure que le processus a perd en efficacité, l'intensité du processus b s'accroît. D'après Solomon and Corbitt, 1974.

Les concepts théoriques que nous venons de présenter s'appuient majoritairement sur le fonctionnement et les altérations d'un petit nombre de structures cérébrales qui définissent le système de la récompense.

3) Le système de la récompense

Le système de la récompense correspond à un ensemble de structures impliquées dans le traitement des informations motivationnelle ou en lien avec la récompense et qui sont sous influence dopaminergique issue de la voie méso-cortico-limbique (Wise and Bozarth, 1982). Les neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale (ATV) projettent vers le NAc, le cortex préfrontal, l'amygdale et l'hypothalamus latéral. Ces structures forment avec le PV le système de la récompense. Bien que le NST ne soit pas habituellement considéré comme faisant partie du système de la récompense, en raison de ses connexions avec le PV, l'ATV et

le cortex préfrontal, il peut être néanmoins intégré à ce circuit (Groenewegen and Berendse, 1990; Haynes and Haber, 2013).

a) L'Aire Tegmentale Ventrale

L'ATV est l'une des structures principales du circuit de la récompense avec le NAc. Elle est composée de neurones dopaminergiques (60-65%), GABAergiques (30-35%) avec une faible proportion de neurones glutamatergiques (2-3%) (Swanson, 1982; Nair-Roberts et al., 2008). L'ATV a été intimement liée à la notion de récompense, car la stimulation de ses projections en particulier vers le NAc induit une sensation de plaisir (Corbett and Wise, 1980; Tsai et al., 2009; McDevitt et al., 2014). La plupart des drogues d'abus ainsi que la prise de nourriture augmentent l'activité des neurones dopaminergique (Di Chiara and Imperato, 1988; Bassareo and Di Chiara, 1999). A l'inverse, l'utilisation d'antagonistes dopaminergiques au niveau des terminaisons dopaminergiques issues de l'ATV permet de réduire les effets des drogues d'abus (Caine and Koob, 1994a; Anderson et al., 2006).

L'ATV projette vers les autres structures du système de la récompense comme le NAc (système méso-limbique) ou le cortex préfrontal (système méso-cortical), où les projections de l'ATV vers le cortex préfrontal médian provoquent des sensations aversives. Il existe d'autres projections importantes en direction de l'amygdale baso-latérale ou l'hippocampe. Par ailleurs, il a été montré que les projections sur les neurones glutamatergiques de l'habénula latérale permettent in fine la stimulation des neurones GABAergiques de l'ATV (Root et al., 2014). Ces circuits permettent une inhibition des neurones de l'ATV et réduisent les comportements dirigés vers la récompense (Lammel et al., 2012). L'ATV joue donc un rôle fondamental dans le circuit de la récompense.

b) Le Noyau accumbens

Le NAc est subdivisé en 2 sous-régions : le core (cœur) et le shell (coquille) qui diffèrent par leur propriétés structurales, anatomiques et fonctionnelles (Zahm, 2000). Il constitue avec l'ATV la principale structure du système de la récompense, et reçoit une très forte innervation dopaminergique. Il reçoit également de nombreuses afférences glutamatergiques issues du cortex préfrontal, de l'hippocampe ventral ou encore de l'amygdale baso-latérale (Cooper et al., 2017).

Les effets renforçants des drogues d'abus et des récompenses naturelles sont en général supportés par des mécanismes qui conduisent à modifier les niveaux de dopamine libérée au niveau du NAc. Il a été démontré que la quantité de dopamine extracellulaire augmentait avec l'obtention d'une récompense (Di Chiara and Imperato, 1988; Wise, 1996, 2004). A l'inverse la lésion des terminaisons et fibres dopaminergiques à l'aide de 6-hydroxy-dopamine entraîne une diminution de l'auto-administration de psychostimulants (Caine and Koob, 1994b).

Au niveau fonctionnel, les neurones du core répondent en fonction de la valence motivationnelle des stimuli ou des récompenses, ils sont également mis en jeu lors de changements dans la valeur de ces stimuli (Meredith et al., 2008). A l'inverse les neurones du shell initient des comportements prédéterminés suite à la présentation de stimuli inconditionnels, ou encore suite à des administrations chroniques de drogue (Meredith et al., 2008).

c) Le cortex préfrontal

Chez le rat, l'appellation cortex préfrontal correspond à un ensemble de régions hétérogènes et aux fonctions multiples qui incluent le cortex pré- et infra-limbique, cingulaire antérieur, insulaire et les aires orbito-frontales (Öngür and Price, 2000; Uylings et al., 2003). Le cortex préfrontal projette sur le NAc et cette innervation est très largement impliquée dans des processus exécutifs ou les comportements dirigés vers un but, tels que la recherche de drogue ou le développement d'une séquence d'actions pour obtenir une récompense (Kalivas et al., 2005). Les fonctions du cortex orbito-frontal sont notamment l'encodage de la valeur de la récompense et une capacité à orienter le comportement en fonction de la valeur de celle-ci (Nauta, 1971). Le cortex cingulaire antérieur est, quant à lui, impliqué dans les processus d'apprentissage par renforcement positif et négatif. Par exemple, des lésions du cortex cingulaire antérieur diminuent l'apprentissage de l'association entre stimulus et récompense dans une tâche d'auto-shaping (Bussey et al., 1997). De nombreuses études ont pu mettre en évidence une contribution du cortex préfrontal dans les processus en lien avec la prise de drogues ou les comportements motivés (Robbins et al., 1989; Chudasama et al., 2003; Chen et al., 2013; Pascoli et al., 2015). De façon plus large, le cortex préfrontal est impliqué dans la régulation des comportements motivés qu'ils soient spontanés ou après conditionnement pavlovien (Cardinal et al., 2002; Volle et al., 2016; Warthen et al., 2016; Klavir et al., 2017).

Nous avons vu également que le NST et le cortex préfrontal partagent de nombreuses fonctions associatives ou en lien avec le contrôle inhibiteur (notamment le cortex orbitofrontal), cependant ils partagent aussi des fonctions limbiques (Eagle and Baunez, 2010). Etant donné que le NST reçoit des afférences du cortex préfrontal par l'intermédiaire de la voie hyperdirecte, il devrait donc être considéré comme une structure d'entrée de ce système au même titre que le NAc (Kita et al., 2014).

d) Le pallidum ventral

Cette structure est également divisée en deux territoires : la zone ventro-médiane et la zone dorso-latérale, qui varient au niveau anatomique et fonctionnel (Fuller et al., 1987; Groenewegen et al., 1990). Le PV dorsolatéral reçoit les projections du core du NAc, du NST et de la SNc. La partie ventro-médiane reçoit des afférences du NAc shell et projette vers les noyaux ventromédian et médiodorsal du thalamus mais également vers les autres structures du système limbique où le shell envoie des projections. Enfin des études électrophysiologiques ont permis de confirmer les liens du PV avec le système de la récompense (Maurice et al., 1997, 1998b; Turner et al., 2001) et des études optogénétiques ont permis de montrer comment certaines projections, notamment vers l'ATV, régulent les comportements renforçants et aversifs (Creed et al., 2016; Tooley et al., 2018).

Bien que le circuit de la récompense comprenne d'autres structures telles que l'amygdale, l'hypothalamus, l'hippocampe ou le septum, nous nous sommes concentrés sur les structures centrales de ce circuit (ATV et NAc) ou celles qui ont des connexions bien décrites avec les NST (PV et cortex préfrontal). Encore une fois, le NST n'est pas classiquement inclus dans le circuit de la récompense mais il présente des relations étroites avec les structures de ce circuit, en particulier du fait de ses connexions avec l'ATV, le PV, le cortex préfrontal mais aussi le thalamus et l'amygdale, il semble avoir une place analogue à celle du NAc (Figure 11). C'est pourquoi il est légitime de proposer qu'il joue un rôle régulateur dans de nombreux processus motivationnels.

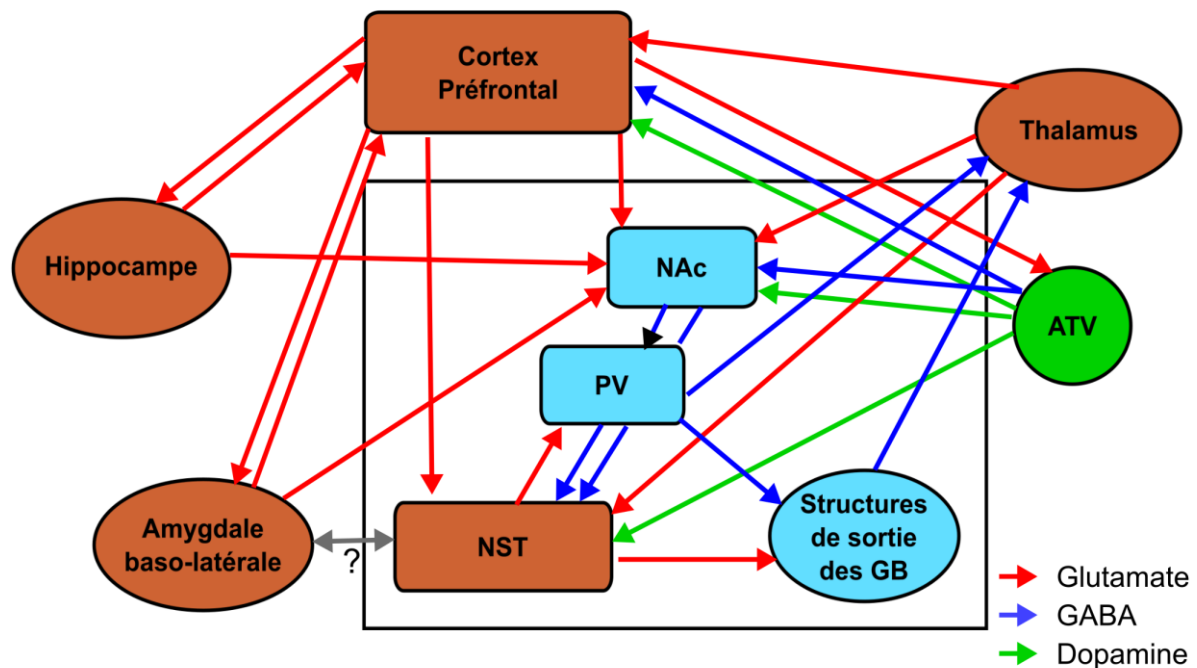


Figure 11 : Schéma d'organisation du circuit de la récompense faisant apparaître les relations du NST avec le PV, l'ATV et le cortex préfrontal. ATV, aire tegmentale ventrale ; NAc, noyau accumbens ; NST, noyau subthalamique ; PV, pallidum ventral ; structures de sortie : SNr (substance noire réticulée)/GPI (segment interne du globus pallidus).

4) Rôle du NST dans les processus motivationnels

a) Rôle du NST dans les processus motivationnels

Chez l'homme, des cas d'hémorragies ou de tumeurs au niveau du NST ayant entraîné de l'hypersexualité, de l'hyperphagie, ou des troubles de l'humeur, ont progressivement mis en avant l'implication du NST dans les processus motivationnels (Trillet et al., 1995; Absher et al., 2000). Les premières études chez le rat ont permis de montrer que la lésion du NST induit une augmentation de la motivation pour la nourriture sans pour autant affecter le niveau de consommation (Baunez et al., 2002). Ces résultats ont permis de montrer que la lésion du NST n'a pas altéré l'association entre stimulus conditionné et récompense mais également qu'elle entraîne une plus grande motivation à travailler pour la récompense. Dans le test de préférence de place conditionnée, qui permet d'établir si une substance possède un caractère attractif ou aversif pour l'animal, la lésion entraîne une plus grande préférence pour le compartiment ayant été associé avec la nourriture (Baunez et al., 2005). Par ailleurs dans un

test d'approche d'un stimulus associé à la récompense ou de la récompense elle-même, la lésion du NST augmente le nombre de réponses uniquement sur le levier donnant accès au stimulus ou à la récompense et pas sur le levier inactif qui ne produit aucune conséquence (Baunez et al., 2002; Uslaner et al., 2008). Ces résultats démontrent que la lésion du NST exacerbe la motivation incitatrice pour la nourriture. De plus, il a été montré que la lésion du NST et la SCP-HF augmentent l'effort maximal que les rats sont prêts à faire dans un test de ratio progressif, ce qui traduit un niveau plus élevé de motivation (Baunez et al., 2005; Bezzina et al., 2008; Rouaud et al., 2010).

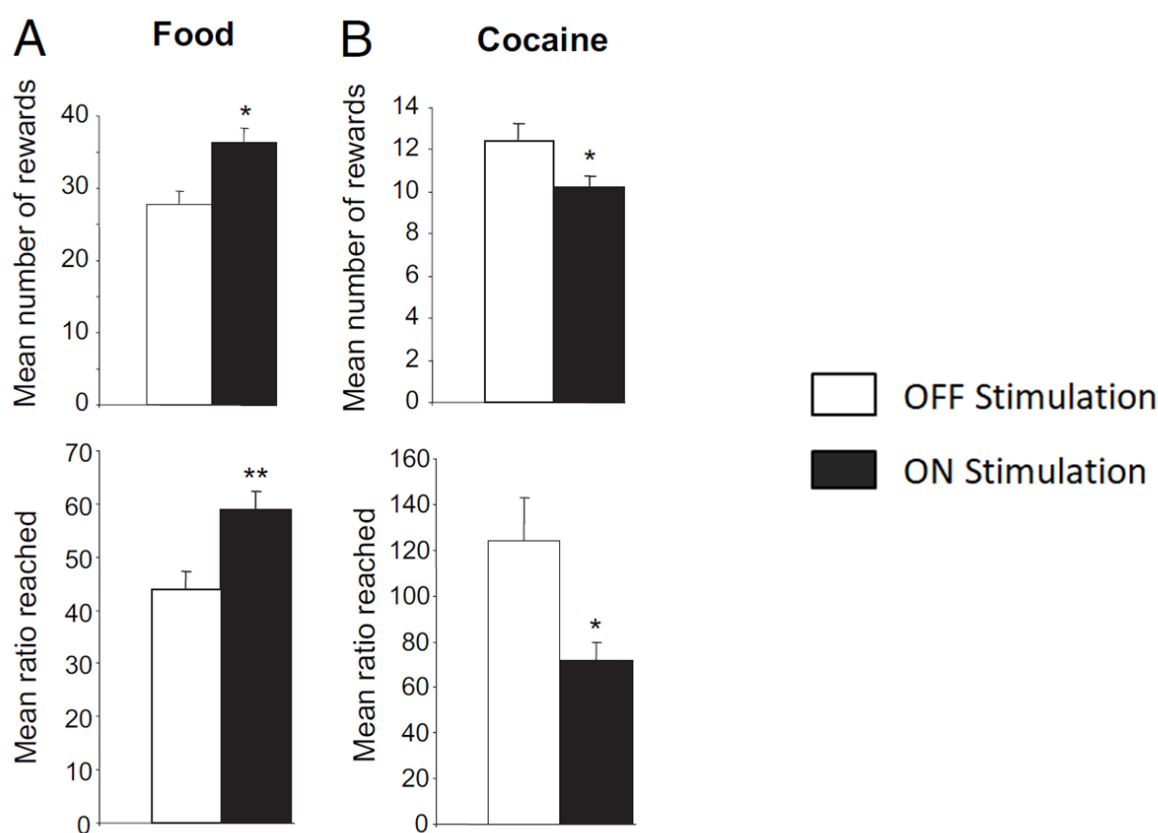


Figure 12 : Effets de la SCP-HF du NST sur la motivation pour la nourriture et la cocaïne dans une tâche de PR. Les animaux ont été testés sans stimulation électrique (barres blanches) et avec stimulation (barres noires). Les récompenses distribuées aux animaux étaient soit des granules de sucre (panneaux de gauche) soit de la cocaïne (panneaux de droite). Les résultats reportés correspondent au nombre de récompenses obtenues (panneaux supérieurs) ou au dernier ratio atteint dans la procédure de PR (panneaux inférieurs). D'après Rouaud et al., 2010.

Cependant l'une des particularités du NST est liée au fait que les effets de la lésion dépendent également de la nature de la récompense. Ainsi chez des rats montrant

spontanément une préférence pour l'alcool, la lésion induit une augmentation de la motivation, alors que les rats qui ne possèdent pas de préférence pour l'alcool voient leur motivation pour cette substance réduite après lésion du NST (Lardeux and Baunez, 2008), ce qui indique que cette lésion exacerbe la préférence ou l'aversion naturelle pour l'alcool.

Dans le cas de la cocaïne, la lésion et la SCP-HF du NST produisent le même effet et réduisent la préférence de place pour le compartiment associé à la cocaïne et diminuent l'effort maximal que les rats sont prêts à fournir lorsqu'ils s'auto-administrent de la cocaïne dans le test de PR (Baunez et al., 2005; Rouaud et al., 2010). De façon similaire, la SCP-HF du NST réduit la motivation pour l'héroïne dans une tâche de ratio progressif, à la fois dans des conditions d'accès court ou après escalade de la consommation qui favorise la transition vers l'addiction (Wade et al., 2017). En revanche, le niveau de consommation primaire ne semble pas affecté par la lésion ou la SCP-HF du NST, car en conditions de renforcement continu la consommation de nourriture ou de cocaïne ne sont pas affectées (Baunez et al., 2002, 2005; Rouaud et al., 2010). Ces résultats indiquent que le NST ne semble pas impliqué dans les mécanismes de la motivation primaire, mais en revanche il joue un rôle fondamental dans les processus motivationnels secondaires. Des résultats contradictoires montrent une augmentation de la motivation pour la cocaïne suite à une lésion du NST, dans une tâche où les paliers entre ratios sont plus petits, rendant la tâche moins difficile (Uslaner et al., 2005). Cependant, dans cette étude le niveau initial de prise de cocaïne des animaux lésés et contrôles est très bas. Les effets observés pourraient être relatifs à un effet facilitateur de la lésion sur l'apprentissage et l'acquisition de l'auto-administration. Le NST est donc fortement impliqué dans les processus motivationnels secondaires, mais son rôle dépend 1) de la substance considérée puisque les effets observés sont opposés dans le cas des récompenses naturelles (nourriture) et des drogues d'abus (cocaïne, héroïne), 2) du niveau initial de préférence pour la substance (cas de l'alcool ; Lardeux and Baunez, 2008) et 3) du niveau d'acquisition de l'auto-administration dans les tests comportementaux utilisés (cas de l'étude d'Uslaner et al., 2005).

b) Activité in-vivo

Au niveau électrophysiologique, les premières études ayant fait le lien entre neurones du NST et réponses motivationnelles ont été obtenues chez le singe. Il a été montré que les

neurones du NST réagissaient lors de la fixation d'une cible prédisant l'obtention d'une récompense (Matsumura et al., 1992). Il a par ailleurs été démontré depuis que les neurones du NST répondaient à l'anticipation de la récompense et/ou après sa distribution, ainsi qu'à la nature de la récompense (Darbaky et al., 2005; Espinosa-Parrilla et al., 2015; Deffains et al., 2016). Chez le rat, plusieurs études ont montré que les neurones du NST répondent à l'obtention de récompense, ainsi qu'à différents stimuli prédictifs (visuels, olfactifs) et aux erreurs d'exécution qui empêchent la distribution de la récompense (ex : les neurones « Oups ») (Teagarden and Rebec, 2007; Lardeux et al., 2009, 2013; Breyse et al., 2015). De façon intéressante chez le rat, les neurones du NST semblent se « spécialiser » pour l'une ou l'autre des récompenses lorsque plusieurs sont proposées (Lardeux et al., 2009, 2013; Breyse et al., 2015). Ainsi les neurones du NST sont en mesure de répondre préférentiellement à une récompense donnée que ce soit de la nourriture sucrée ou de la cocaïne (Lardeux et al., 2009, 2013). Inversement le remplacement d'une des récompenses par une substance aversive induit une reconfiguration de cette spécialisation (Breyse et al., 2015). L'existence de neurones qui répondent de façon préalable et spécifique à une erreur d'exécution, suggère un rôle du NST dans l'encodage d'erreurs de prédictions liées à la récompense (Breyse et al., 2015). Par ailleurs, des enregistrements chez le patient parkinsonien ont confirmé que les neurones du NST répondent à la valeur de la récompense ou des situations conflictuelles (Zavala et al., 2014, 2016; Zénon et al., 2016; Justin Rossi et al., 2017). La proportion de neurones répondant à la récompense semble par ailleurs accrue chez des patients souffrant de troubles de l'impulsivité (Rossi et al., 2017).

Ces données confirment que le NST est fortement impliqué dans le traitement des informations motivationnelles et l'encodage de la valeur subjective des récompenses. Les données électrophysiologiques et comportementales confirment que le NST intervient dans les processus motivationnels pour les drogues d'abus (Lardeux et al., 2013; Pelloux et al., 2018). Dans la section suivante nous allons détailler les mécanismes associés à la prise de drogues.

C. Les bases neurobiologiques de la prise de drogues

1) Drogues et neurotransmetteurs

a) Le système dopaminergique, un rôle central ?

En 1954, Olds et Milner découvrent que les rats peuvent apprendre à s'auto-administrer un courant électrique de manière très importante lorsque l'électrode est située dans le faisceau médian du télencéphale (Olds and Milner, 1954). Etant donné que seules certaines régions cérébrales sont en mesure de générer de l'autostimulation, ces centres ont été considérés comme faisant partie d'un réseau directement impliqué dans l'expression du plaisir (Olds and Olds, 1963; Routtenberg and Malsbury, 1969; Routtenberg and Sloan, 1972). Des études pharmacologiques de destruction des neurones dopaminergiques ou de blocage des récepteurs dopaminergiques ont démontré que la transmission dopaminergique jouait un rôle déterminant dans ces processus d'autostimulation (Fibiger, 1978; Wise, 1978). Par ailleurs il a été montré que des antagonistes dopaminergiques réduisaient les réponses opérantes pour obtenir de la nourriture, de façon similaire à ce qui avait été montré pour l'autostimulation (Wise et al., 1978). Il a donc été proposé une théorie de « l'anhédonie » pour laquelle la dopamine serait le neurotransmetteur du plaisir et que le système dopaminergique serait le système de la récompense (Wise et al., 1978). Cette théorie postule que le plaisir produit par tous les types de récompenses, aussi bien la nourriture, que le sexe, les drogues d'abus ou toute autre récompense, est supporté par le système dopaminergique.

Cette hypothèse a été supportée par plusieurs éléments. Il a été montré que des doses modérées d'antagonistes dopaminergiques diminuent la réponse des animaux travaillant pour des récompenses naturelles et des drogues d'abus (Wise and Bozarth, 1982). Par ailleurs, les drogues d'abus stimulent l'activité locomotrice par un mécanisme dépendant de la dopamine (Wise and Bozarth, 1987). Plus récemment, des études ont montré que pratiquement toutes les drogues d'abus (à l'exception des benzodiazépines) ainsi que la nourriture, augmentent la transmission dopaminergique, et particulièrement dans le NAc (Di Chiara and Imperato, 1988; Bassareo and Di Chiara, 1999). C'est en particulier le cas pour la cocaïne dont le mode d'action sera décrit dans la section suivante (Définition de l'addiction, exemple de la cocaïne).

Cependant, de nombreux travaux contestent que la dopamine soit le substrat unique du plaisir et de la récompense. Si des études ont montré que la lésion des neurones dopaminergiques pouvait induire une aphagie et une adipsie (Ungerstedt, 1971), il semblerait que ces effets soient plus dus à un déficit moteur induit par la déplétion dopaminergique du

striatum latéral qu'à une diminution de la motivation primaire (Salamone et al., 2002). En effet, l'injection d'antagonistes dopaminergiques par voie systémique ou dans le NAc ne modifie pas la quantité de nourriture ingérée mais réduit les réponses anticipatoires, alors que l'injection d'antagonistes opioïdiques réduit la consommation de nourriture mais n'affecte pas les réponses anticipatoires (Weingarten and Martin, 1989; Ikemoto and Panksepp, 1996; Barbano and Cador, 2006). D'autres part, les réactions hédoniques faciales, qui permettent d'évaluer la palatabilité et le plaisir retiré d'une substance, ne sont pas affectées par une déplétion dopaminergique ni par une injection d'antagonistes des récepteurs dopaminergiques, suggérant que la dopamine n'est pas nécessaire pour le plaisir (Treit and Berridge, 1990; Berridge and Robinson, 1998). Enfin, les souris déficientes en tyrosine hydroxylase et donc ne pouvant pas synthétiser la dopamine, préfèrent le sucre ou la saccharine à l'eau (Cannon and Palmiter, 2003), démontrant que la dopamine n'est pas essentielle pour ressentir le plaisir procuré par le sucre. Inversement, des souris « hyper-dopaminergiques », déficientes en transporteur de recapture de la dopamine, ne montrent aucune différence dans les réponses faciales hédoniques au sucre par rapport aux souris sauvages mais sont plus attentives aux stimuli incitateurs (Peciña et al., 2003). Ces éléments montrent que la dopamine est davantage impliquée dans la phase anticipatoire et l'expression de comportements liés au désir (Berridge and Robinson, 1998; Berridge, 2004). Ainsi la théorie de l'« apprentissage incitateur » suggère que la dopamine permet l'attribution des propriétés incitatrices pour une récompense (Beninger and Hahn, 1983; Di Chiara and Imperato, 1988; Di Chiara et al., 1999). Pour Ikemoto et Panksepp (1999), la dopamine permet la promotion d'un comportement approprié. Enfin, il a été proposé que la dopamine potentialise la réponse instrumentale lorsque la réponse est déclenchée en présence d'un stimulus approprié. (Robbins et al., 1989; Cador et al., 1991; Robbins and Everitt, 1996; Parkinson et al., 1999). Depuis, il a été montré que la stimulation des neurones dopaminergiques de l'ATV suffit à générer des comportements renforçants (auto-stimulation, préférence de place conditionnée) et donc suffit à déclencher une réponse instrumentale (Tsai et al., 2009; McDevitt et al., 2014; Pascoli et al., 2015).

Par ailleurs, comme les antagonistes dopaminergiques réduisent les performances opérantes mais pas la consommation proprement dite de nourriture, il a été suggéré que la dopamine est nécessaire à la mise en place de la motivation pour travailler pour une récompense (Salamone et al., 1991, 1994, 2002). La dopamine serait alors impliquée dans l'évaluation du coût/bénéfice de l'action à entreprendre pour avoir accès au stimulus recherché. En effet, les neuroleptiques semblent avoir un effet très limité sur la motivation

pour la nourriture lorsque la tâche à effectuer ne demande pas trop d'effort (Ettenberg et al., 1981; Horvitz and Ettenberg, 1991; McFarland and Ettenberg, 1998; Caul and Brindle, 2001; Barbano and Cador, 2006). Par contre, lorsque l'effort demandé est élevé, la dopamine est nécessaire à l'engagement comportemental (Salamone et al., 1991, 1994; Aberman and Salamone, 1999; Correa et al., 2002).

D'autre part, de nombreuses données plaident en faveur de l'implication de la dopamine dans l'anticipation d'une récompense attendue. Les travaux de Schultz et coll. ont en effet montré que les neurones dopaminergiques, qui sont activés par l'obtention de la récompense au début de l'apprentissage, sont ensuite activés par le stimulus prédisant la récompense mais ne sont plus activés lors de l'obtention de la récompense (Schultz et al., 1997; Schultz, 2002). En accord avec ces résultats, des études de micro-dialyse ont montré une augmentation de la transmission dopaminergique dans le cortex préfrontal médian en présence de stimuli précédant l'obtention d'une récompense appétitive (Bassareo and Di Chiara, 1997; Merali et al., 2004). Par ailleurs, des expériences de voltamétrie, méthode permettant la mesure de l'oxydation de la dopamine, suggèrent une augmentation de dopamine dans le NAc et le noyau caudé lors de la présentation d'un stimulus prédisant une récompense (Phillips et al., 1993; Bassareo and Di Chiara, 1997; Merali et al., 2004).

Enfin, il a été montré que les neurones dopaminergiques sont en mesure d'encoder des réponses associées à des stimuli aversifs par une brève excitation (Valenti et al., 2011; Matsumoto et al., 2016). De même ils peuvent répondre lors de situations de stress ponctuelles ou chroniques par des excitations ou des inhibitions (Butts et al., 2011; Holly and Miczek, 2016). La dopamine semble donc être impliquée dans l'anticipation de stimuli dotés d'une forte signification biologique (récompensants ou aversifs) et dans l'effort à fournir pour obtenir une récompense, mais ne joue qu'un rôle limité dans les mécanismes de la motivation primaire.

b) Le système des opioïdes, lien avec la notion de « plaisir »

Le système opioïdergique est basé sur des composés peptidiques endogènes : endorphines, enképhalines, and dynorphines ; sécrétés par l'hypophyse et l'hypothalamus chez les vertébrés lors d'activités physiques intenses, d'excitation ou de douleur. Ce système comprend également 3 types de récepteurs μ , delta et kappa qui sont associés à des protéines G intracellulaires inhibitrices (Vuong et al., 2010).

Ce système peut être modulé par de nombreuses substances de synthèse en général issues de la culture du pavot (Kirby, 1967). Ainsi de très nombreux dérivés de l'opium tels que la morphine ou la papavérine ont été utilisés pour leurs effets analgésiques (Kirby, 1967; Vuong et al., 2010). Par ailleurs, les drogues opiacées sont historiquement connues pour leurs effets euphorisants et leur potentiel addictif élevé. A ce titre, l'emploi massif de médicaments opiacés dans la prise en charge des analgésies aux USA a conduit à l'émergence de l'épidémie actuelle d'addictions aux opiacés, et confirme si besoin était le potentiel addictif de ces substances (Skolnick, 2018). Ainsi le système opioïdergique est fortement impliqué dans les effets euphoriques, hédoniques et renforçants des drogues opioïdes. Il a été démontré chez le rongeur que ces substances pouvaient provoquer des comportements d'auto-administration (Belluzzi and Stein, 1977; Olds, 1979; Goeders et al., 1984), une augmentation d'activité locomotrice et une augmentation de préférence de place conditionnée, quand elles sont directement injectées dans le cerveau ou au niveau des ventricules (Stinus et al., 1980; Kalivas et al., 1983; Amalric et al., 1987; McBride et al., 1999).

Concernant le mode d'action de la morphine, qui est le dérivé le plus couramment utilisé, et d'autres composés structurellement semblables, il est principalement dépendant d'une fixation sur le récepteur μ , bien que l'affinité puisse être extrêmement variable d'un composé à l'autre (Pert and Snyder, 1973). La morphine se fixe également, bien qu'avec une affinité plus faible, sur les récepteurs Delta et Kappa (Herz, 1998). Cependant les effets analgésiques de la morphine ainsi que ses effets récompensants et addictifs sont principalement dépendants du récepteur μ . Des souris déficientes pour ce récepteur ne montrent pas les effets habituels provoqués par la morphine : anti-nociception, effet récompensant ou sevrage précipité par la naloxone (Matthes et al., 1996; Sora et al., 1997).

Les propriétés renforçantes de nombreuses drogues non-opioïdes dépendent aussi de l'activation notamment des récepteurs opioïdes μ . Ces propriétés hédoniques sont réduites dans le cas de l'alcool, des cannabinoïdes et de la nicotine chez des souris transgéniques déficientes pour certains composants du système des opioïdes, en particulier en cas de délétion du récepteur μ (Herz, 1997; Roberts et al., 2000; Berrendero et al., 2002; Ghozland et al., 2002; Contet et al., 2004). De façon similaire, la voie des opioïdes participe aux effets récompensants de la cocaïne, car des souris déficientes pour le récepteur μ présentent une préférence de place conditionnée à la cocaïne réduite alors que la sensibilisation locomotrice à cette drogue n'est pas altérée, elles présentent également des niveaux d'auto-administration plus faibles (Hall et al., 2004; Mathon et al., 2005). Enfin l'injection d'antagonistes opioïdergiques abolit la préférence de place conditionnée pour la cocaïne et réduit les

comportements d'auto-administration et de recherche de drogue (Gerrits et al., 1995; Kuzmin et al., 1997; Giuliano et al., 2013).

Enfin, l'implication du système opioïdergique dans le traitement de la récompense a été particulièrement étudiée pour la nourriture. Le système opioïdergique intervient dans le contrôle de la quantité de nourriture ingérée chez les rats rassasiés (Glass et al., 1999; Bodnar, 2004; Levine and Billington, 2004). La régulation de la prise de nourriture dépend du système opioïdergique en particulier via la modulation des propriétés hédoniques ou la « palatabilité » (Berridge, 1996; Glass et al., 1999; Kelley and Berridge, 2002). En effet, les antagonistes opioïdergiques (Naloxone) diminuent la prise de nourritures hautement appétitives telles que les nourritures sucrées ou grasses (Giraud et al., 1993; Ågmo et al., 1995; Cleary et al., 1996; Yeomans and Gray, 1997; Glass et al., 1999; Kelley and Berridge, 2002; Barbano and Cador, 2006), tandis que les agonistes l'augmentent (Bakshi and Kelley, 1993; Doyle et al., 1993; Zhang and Kelley, 1997). De plus, les agonistes opioïdergiques augmentent les réactions affectives positives au goût sucré (Doyle et al., 1993; Peciña and Berridge, 1995, 2000; Rideout and Parker, 1996). Ainsi, les opiacés produisent un déplacement des réactions au goût vers un pôle affectif positif, augmentant le plaisir au goût (Berridge, 2003). A l'inverse, les antagonistes opioïdergiques diminuent le plaisir lié au goût sucré (Parker et al., 1992; Drewnowski et al., 1995). D'autre part, des tests de PR ont permis de montrer que le système opioïdergique est également impliqué dans la motivation et l'effort fourni pour obtenir de la nourriture palatable chez les animaux rassasiés (Hayward et al., 2002; Zhang et al., 2003; Barbano and Cador, 2007).

Etant donné que les neurones du NST possèdent des récepteurs aux opioïdes (μ et δ) au niveau du soma et des dendrites, cela indique l'existence d'un contrôle exercé par ce système sur l'activité du NST (Sasaki et al., 1996; Shen and Johnson, 2002; Slamberová et al., 2002). Un tel substrat biologique permettrait d'expliquer que la modulation du NST soit en mesure de réduire la motivation pour une drogue opiacée : l'héroïne (Wade et al., 2017). Par ailleurs, il a été montré que l'activation des récepteurs μ du NST induit une augmentation de la motivation pour la nourriture sucrée (Pratt et al., 2012).

Ces données indiquent que le système opioïdergique est impliqué à la fois dans l'aspect hédonique des récompenses ainsi que dans l'effort à accomplir pour les obtenir (Koob, 1992). En particulier, à cause de la forte implication de ce système dans les effets hédoniques de plusieurs drogues d'abus, il pourrait constituer une importante étape dans le mécanisme de transition vers l'addiction (Le Merrer et al., 2009).

2) La motivation pour les drogues d'abus, une transition progressive vers l'addiction

a) Définition de l'addiction, exemple de la cocaïne

L'addiction est une pathologie psychiatrique multifactorielle. Elle est caractérisée selon le manuel de diagnostic des maladies psychiatriques (DSM-V : (American Psychiatric Association et al., 2013) par une perte de contrôle sur la prise d'une « substance » dite d'abus, et par un besoin impérieux et irrésistible de consommer. Elle se traduit notamment par une augmentation de la consommation (escalade) et une plus grande tolérance à de fortes doses. Les usagers consacrent beaucoup de temps à rechercher la drogue, voir se retrouvent dans l'incapacité de remplir des obligations importantes. L'arrêt de la prise d'une substance provoque un syndrome de sevrage qui peut être soulagé uniquement par la prise de cette substance. Ces signes peuvent être associés à un désir persistant pour diminuer ou contrôler la prise de drogue, avec souvent des périodes de rechute. Les activités sociales sont abandonnées au profit de la prise de drogue. L'utilisation de la drogue est poursuivie en dépit des conséquences psychologiques ou physiques négatives causées ou exacerbées par la drogue. Le nombre de critères présents chez un sujet va permettre de définir le niveau de sévérité de la pathologie.

Dans la section précédente, il a été décrit que la plupart des drogues d'abus provoquent une augmentation des niveaux de dopamine dans le système limbique (Di Chiara and Imperato, 1988; Bassareo and Di Chiara, 1999). C'est en particulier le cas pour la cocaïne, qui agit principalement en inhibant l'activité des transporteurs de la dopamine (Ritz et al., 1987). Ceci empêche la recapture de la dopamine et provoque son accumulation au niveau de la fente synaptique. Par ailleurs la cocaïne provoque également l'accumulation de noradrénaline et de sérotonine en inhibant certains de leurs transporteurs respectifs. Enfin une partie des effets psychostimulants sont également dépendants du système des opioïdes (Gerrits et al., 1995; Kuzmin et al., 1997; Wee et al., 2009).

Afin de modéliser chez l'animal les différentes composantes de l'addiction, plusieurs modèles ont été progressivement introduits : activité induite par l'exposition à la drogue, préférence de place conditionnée, sensibilisation, auto-administration, rechute après abstinence, etc. (Davis and Neuropsychopharmacology, 2002; Lynch et al., 2010). Ici nous

détaillerons uniquement le modèle d'auto-administration puis des variantes de ce modèle : escalade de la prise de drogue et punition de la recherche de substance.

b) L'auto-administration de cocaïne

Le principe de ce modèle consiste à permettre à l'animal de choisir lui-même la quantité de drogue qu'il va consommer. Pour ce faire, les animaux sont implantés avec un cathéter sous-cutané relié au système sanguin de l'animal au niveau de la veine jugulaire. En reliant ce cathéter à une seringue placée sur une pompe, elle-même contrôlée par une boîte opérante, l'animal va pouvoir recevoir une injection de drogue dès qu'il appuie sur le levier « actif » de la boîte (Weeks, 1962). Si cette procédure a été développée pour la morphine, elle est parfaitement applicable dans le cas de la cocaïne et la plupart des autres drogues d'abus.

En règle générale, on utilise ce modèle selon une procédure renforcement conditionné (FR1) dans laquelle le levier actif donnant accès à la drogue est associé avec un stimulus lumineux, tandis que le levier inactif ne produit aucune conséquence. Ce modèle fournit une mesure fiable de la quantité de drogue que prend spontanément un animal même s'il nécessite une courte période d'apprentissage. Pour cette raison, on peut considérer qu'il permet une mesure assez précise de la motivation primaire. Il est néanmoins possible de varier plusieurs paramètres de ce modèle en fonctions des composantes que l'on souhaite évaluer. Par exemple l'augmentation du ratio pour obtenir une procédure de FR5 permet d'évaluer la quantité de drogue prise par les animaux en fonction d'un effort modéré. Il est également possible d'utiliser un ratio progressif pour évaluer le niveau d'effort maximum que les animaux sont prêts à fournir pour une injection de drogue (Depoortere et al., 1993).

Cependant, une des difficultés des modèles d'addiction est la capacité à reproduire la transition depuis une consommation contrôlée vers une perte progressive de contrôle sur la quantité de drogue prise (Koob, 1996; Koob and Le Moal, 1997). Or, les animaux confrontés au modèle d'auto-administration, pendant une durée quotidienne relativement courte (1 à 2 heures), ont en général un niveau de prise extrêmement stable au cours du temps (Koob, 1996; Koob and Le Moal, 1997). Ce modèle correspond davantage à un usage contrôlé, dans lequel il est difficile de mimer l'augmentation progressive de la consommation qui constitue une des principales signatures de l'addiction. Afin de faciliter la compréhension des mécanismes de cette transition vers l'addiction, d'autres modèles ont été développés.

c) Escalade de la consommation : une transition vers l'addiction

Le premier modèle qui a permis de mettre en évidence une augmentation progressive de la consommation de drogue chez un large pourcentage d'animaux (80-90%) est le modèle d'escalade (Ahmed and Koob, 1998). Il s'agit d'un modèle d'auto-administration comme présenté dans le paragraphe précédent. La principale différence réside dans le temps d'exposition à la drogue qui est ici porté à 6 heures contre 1 à 2 heures dans les modèles d'auto-administration classiques. En offrant aux animaux un accès prolongé à la drogue (Long Access), on observe une augmentation progressive au cours des sessions de la quantité d'injections prises (Figure 13), qui n'est pas visible en conditions d'accès court (Ahmed and Koob, 1998, 1999). Ce processus a pu être répliqué de très nombreuses fois et notamment pour d'autres substances d'abus comme la méthamphétamine (Kitamura et al., 2006) ou l'héroïne (Ahmed et al., 2000).

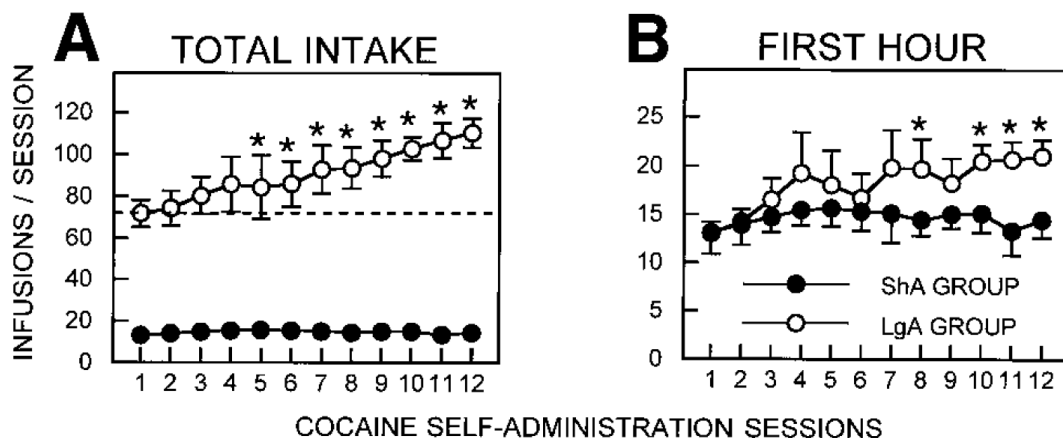


Figure 13 : Présentation du modèle d'escalade de la prise de cocaïne. A. Des animaux placés en conditions d'accès court (1h, points noirs) conservent un niveau stable d'injections de cocaïne au cours des sessions. En conditions d'accès prolongé (6h, points blancs) les animaux augmentent progressivement leur niveau de consommation. B. Cette augmentation en accès prolongé reste visible durant la première heure d'auto-administration. (Modifié d'après Ahmed et al., 1998).

En particulier, ce modèle permet également le développement progressif de critères qui font partie de la classification du DSM-V. Ainsi les animaux ayant escaladé leur prise de drogue présentent un niveau de motivation plus élevé pour la drogue et passent davantage de temps à rechercher les stimuli associés à la drogue (Mantsch et al., 2004; Ahmed and Koob, 2005). Ceci a pu être démontré également par des procédures de PR (Paterson and Markou,

2003). Par ailleurs les animaux persistent à rechercher des stimuli qui ont été associés avec la prise de drogue même lorsque celle-ci n'est plus délivrée, et sont donc moins sensibles au phénomène d'extinction (Mantsch et al., 2004; Ferrario et al., 2005; Ahmed and Cador, 2006). Enfin après un historique d'accès prolongé à la drogue, les rats sont plus susceptibles de continuer à s'auto-administrer malgré la présence de signaux avertisseurs de danger (Vanderschuren and Everitt, 2004), ou malgré l'introduction de conséquences négatives comme un choc électrique au niveau des pattes (Pelloux et al., 2007). Il s'agit actuellement de la méthode la plus robuste pour favoriser le développement de caractéristiques liées à une transition vers l'addiction, elle permet de modéliser la perte de contrôle sur la quantité de drogue consommée, mais dans un même temps, elle permet l'émergence de phénotypes compulsifs au sein d'une population de rats placés en auto-administration (Ahmed, 2012).

d) Usage compulsif, une prise de drogue malgré des conséquences néfastes.

Deux procédures en particulier ont permis d'identifier un trait de vulnérabilité qui favorise le développement d'un usage compulsif de drogue, défini comme la recherche de drogue malgré la présence de conséquences négatives. La première est un modèle d'identification de 3 critères de l'addiction qui a permis de mettre en évidence une persistance lors de la recherche de drogue, une augmentation de la motivation et la consommation malgré l'application d'une punition (Deroche-Gamonet et al., 2004; Belin et al., 2008). Dans ces études, après un entraînement prolongé à l'auto-administration de cocaïne, environ 20% des rats ont continué à répondre pour la drogue malgré l'application d'une punition associée à ce comportement (choc électrique modéré). Ces rats montrent également un niveau plus élevé de motivation en PR et persistent à rechercher la drogue malgré des stimuli environnementaux indiquant son absence.

La seconde approche consiste en une tâche successive de recherche-prise de drogue (Figure 14) (Pelloux et al., 2007). Chaque essai est composé d'une séquence de recherche pendant laquelle le rat doit répondre suffisamment sur le levier de recherche pendant un intervalle de temps donné (ratio variable et intervalle de temps fixé à 10min) ce qui lui donne accès à un second levier de prise. Dans cette tâche 50% des essais sont punis par un choc électrique modéré sans pouvoir accéder au levier de prise (Pelloux et al., 2007). Ce qui implique pour les rats d'accepter le risque d'une punition lorsqu'ils recherchent un accès à la cocaïne. Après une exposition à la cocaïne en accès court, tous les rats stoppent leur recherche de drogue lorsque la punition est introduite, ce qui peut être considéré comme une forme

d'abstinence volontaire. En revanche, après avoir été soumis au protocole d'escalade et avoir bénéficié d'un accès prolongé à la cocaïne, environ 20% des rats continuent à rechercher la drogue, alors que 80% s'abstiennent (Pelloux et al., 2007; Everitt, 2014).

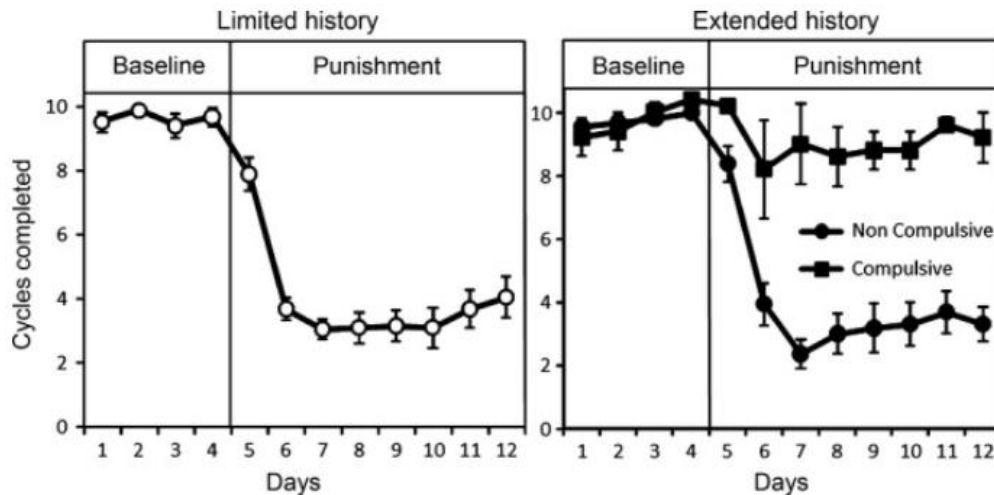


Figure 14 : Rats compulsifs et sensibles face à l'introduction de la punition. La recherche compulsive de cocaïne est observable parmi environ 20% d'une population de rats après un accès prolongé à la drogue. Les rats ont été entraînés selon une procédure en chaîne de recherche-prise de cocaïne, en 10 "cycles". Chaque cycle correspond à un intervalle de 12min avec un ratio variable que le rat doit compléter afin d'accéder au levier de prise (Pelloux et al., 2007). Sur les 2 parties de la figure, le nombre moyen de cycles de recherche complétés est représenté. Après 4 jours sans punition pour établir un niveau de base, la punition est introduite de manière aléatoire à la fin de 50% des cycles de recherche. Sur les cycles restants, une action sur le levier de prise permet le déclenchement d'une injection de cocaïne. Panneau de gauche : Après un historique d'accès limité à la cocaïne, tous les rats arrêtent la recherche de drogue lorsque la punition est introduite. Panneau de droite : Environ 20% de rats persistent malgré la punition après un historique d'accès prolongé à la drogue, ce qui témoigne d'une recherche compulsive de drogue (Pelloux et al., 2007). Modifié d'après Pelloux et al., 2007; et Everitt, 2014.

Le rôle très important du système sérotoninergique dans le développement de la compulsivité a été mis en évidence. En effet, les animaux qui développent des traits compulsifs (résistants à la punition) ont des niveaux bas de sérotonine au niveau préfrontal (Pelloux et al., 2012). Des antagonistes sérotoninergiques administrés par voie systémique ou une déplétion sérotoninergique au niveau préfrontal augmentent le niveau de compulsivité, alors que des inhibiteurs de recapture de la sérotonine ont l'effet inverse (Pelloux et al., 2012). Enfin des expériences de modulation du cortex préfrontal ont montré que la stimulation du

cortex pré-limbique permet de réduire la recherche compulsive de drogue (Chen et al., 2013). Une autre étude a montré l'implication du cortex orbitofrontal dans les mécanismes de résistance à la punition (Pascoli et al., 2015). Ces travaux ont conduit à l'utilisation de la stimulation magnétique transcrânienne, appliquée sur le cortex préfrontal dorsal, chez des patients souffrant d'addiction à la cocaïne dans une étude clinique. Les résultats ont montré, chez les sujets stimulés, une réduction des conduites addictives et du désir pour la drogue, ce qui laisse entrevoir une piste thérapeutique prometteuse (Terraneo et al., 2016).

Ces approches comportementales de l'addiction chez l'animal ont permis d'explorer les bases neurales de la recherche compulsive de drogue et de l'identification d'individus vulnérables. Pouvoir prédire quels sont les individus les plus à risques reste un enjeu et l'utilisation de tels tests pourrait permettre d'identifier des marqueurs prédictifs. D'un point de vue plus large, ces méthodes d'auto-administration permettent de modéliser différentes phases de la transition vers l'addiction. Lorsqu'elles sont couplées avec des méthodes de modulations des structures cérébrales ou des réseaux neuronaux, cela permet d'identifier des mécanismes physiologiques qui facilitent ou protègent les individus contre cette transition.

D. Apport des techniques de neuromodulation pour l'étude des fonctions du NST

1) La stimulation cérébrale profonde: utiliser des impulsions électriques pour moduler l'activité du cerveau et traiter des pathologies.

a) Des origines de la SCP-HF et ses multiples applications thérapeutiques

Les premières approches de stimulation électrique ont été développées pour des patients atteints de pathologies psychiatriques, afin de perturber le fonctionnement de structures sous-corticales (Spiegel et al., 1947; Delgado, 1952; Delgado et al., 1952; Bishop et al., 1963; Heath, 1963; Bechtereva et al., 1975). Ces méthodes, qui génèrent le plus souvent une lésion focale, ont peu à peu évolué pour aboutir à une neuro-modulation réversible par stimulation cérébrale profonde à haute fréquence (SCP-HF). En particulier, l'intérêt pour la SCP-HF s'est renouvelé dans les années 1990 lorsqu'elle s'est progressivement imposée comme un traitement alternatif de la maladie de Parkinson. Ce choix résulte d'un ensemble d'études sur le modèle de singe traité au MPTP (modèle classique de Maladie de Parkinson chez le singe), qui ont révélé d'une part une augmentation d'activité au sein du NST, et d'autre part que la lésion du NST permettait d'améliorer les symptômes moteurs (Mitchell et al., 1989; Bergman et al., 1990). Cet effet thérapeutique sur les symptômes parkinsoniens a pu être reproduit dans un premier temps sur le modèle primate par application de la SCP-HF du NST (Benazzouz et al., 1993). Dans un deuxième temps, les mêmes effets de la SCP-HF ont pu être confirmés chez le patient (Benabid et al., 1994; Limousin et al., 1995). Cette technique s'est rapidement imposée comme un outil majeur dans le traitement de la maladie. Etant donné que les conséquences fonctionnelles de la SCP-HF sont similaires à celles d'une lésion, il a été postulé que le mécanisme de la SCP-HF correspondait à une inactivation de la structure.

En plus de ses effets moteurs, l'application de la SCP-HF dans la capsule interne, le GPi ou le thalamus chez un certain nombre de patients a induit des changements drastiques sur des comportements non-moteurs (Nuttin et al., 1999; Vandewalle et al., 1999). Ainsi des améliorations fonctionnelles ont été rapportées suite à la stimulation du NST concernant les TOCs (Mallet et al., 2002). La réduction de TOCs sous SCP-HF a permis progressivement de développer cette approche thérapeutique jusqu'à aboutir au traitement de ces troubles par SCP-HF au niveau du NST (Mallet et al., 2008a; Welter et al., 2011). De façon intéressante,

ces résultats cliniques entrent en partielle contradiction avec les données expérimentales obtenues chez l'animal, vu que la lésion du NST augmente l'impulsivité d'action (Baunez and Robbins, 1997). En revanche, cet effet de la SCP-HF fait écho aux résultats de lésion du NST permettant de réduire l'impulsivité de choix, ce qui suggère que l'inactivation du NST permet de restaurer un certain niveau de contrôle sur certains mécanismes de l'impulsivité (Winstanley et al., 2005; Uslaner and Robinson, 2006; pour revue : Baunez et al., 2011). Enfin ces résultats cliniques ont contribué à mettre en lumière un effet spécifique du NST dans la régulation des processus compulsifs.

Par ailleurs la réduction de motivation spécifiquement pour les drogues d'abus (cocaïne, héroïne, alcool) suite à l'inactivation du NST ou à son traitement par SCP-HF suggère un potentiel thérapeutique particulièrement important pour le traitement des addictions (Baunez et al., 2005; Lardeux and Baunez, 2008; Rouaud et al., 2010; Wade et al., 2017; Pelloux et al., 2018; Pelloux and Baunez, 2013). Il est intéressant de noter que des effets similaires ont pu être rapportés chez des patients parkinsoniens ayant une utilisation compulsive et abusive de traitement dopaminergiques et chez lesquels la SCP-HF a eu un effet bénéfique sur ces problèmes (Eusebio et al., 2013). Ces résultats ont conduit à ce que la SCP-HF du NST puisse être envisagée comme une piste thérapeutique intéressante pour des applications cliniques, notamment dans le cas des addictions à la cocaïne (Pelloux and Baunez, 2013).

b) Un mécanisme d'action encore mal compris

Si d'un point vu fonctionnel la SCP-HF du NST produit les mêmes effets qu'une inactivation pharmacologique ou une lésion (Bergman et al., 1990; Levy et al., 2001), les mécanismes exacts de la SCP-HF sur le réseau restent encore à mieux caractériser. Les premières études sur les mécanismes cellulaires témoignent d'un niveau d'activité réduit au niveau des corps cellulaires du NST après application de la stimulation (Benazzouz et al., 2000; Beurrier et al., 2001), ou durant l'application de la SCP-HF chez le patient parkinsonien ou sur des modèles animaux (Benazzouz et al., 2000; Tai et al., 2003; Welter et al., 2004), ce qui supporte l'hypothèse d'une inactivation fonctionnelle. Toutefois, et en apparence contradiction avec ces résultats, il a été montré que la SCP-HF induit une augmentation d'activité ou de taux extracellulaires de neurotransmetteurs dans les structures où le NST projette, ce qui traduirait une activation de ses axones glutamatergiques (Windels et al., 2000; Bruet et al., 2003; Hashimoto et al., 2003; Maurice et al., 2003; Shehab et al., 2014). D'autres

études ont suggéré une contribution des structures environnantes, notamment la capsule interne. Par ailleurs, la SCP-HF du NST active de façon antidromique des structures corticales motrices qui projettent sur le NST via la voie hyperdirecte (McIntyre et al., 2004; Li et al., 2007, 2012; Degos et al., 2013) ou via les afférences pallidales (Hashimoto et al., 2003). Plus récemment des études utilisant l'optogénétique a mis en évidence, pour un modèle de rat hémiparkinsonien, le rôle clé de l'activation des projections de la voie hyperdirecte dans la médiation des effets thérapeutiques de la SCP-HF (Gradinaru et al., 2009; Sanders and Jaeger, 2016). Par ailleurs la plupart de ces études sont orientées vers une perspective motrice avec en ligne de mire les applications pour la maladie de Parkinson. L'extension de la SCP-HF à des troubles non-moteurs laisse imaginer que les mécanismes puissent être différents notamment avec une plus grande contribution des territoires limbiques (Mallet et al., 2008a; Krack et al., 2010). Il est à noter qu'une importante littérature existe quant aux mécanismes de la SCP, mais les travaux reposent souvent sur les effets de la SCP appliquée dans d'autres structures cérébrales. Puisqu'il est communément admis que la SCP-HF induit une inhibition des corps cellulaires avec une activation des fibres de passage, il est évident que la résultante des effets de la SCP dépend de la localisation de son application et des réseaux qu'elle va perturber.

c) La SCP a permis d'isoler des oscillations spécifiques dans le NST

Un des avantages de la SCP vient du fait que les électrodes de stimulation peuvent être utilisées pour l'enregistrement de l'activité des zones ciblées, ce qui permet d'obtenir des informations sur la physiologie neuronale en conditions pathologiques. Ainsi chez le patient parkinsonien, il a été montré que l'augmentation d'activité au sein du NST était étroitement associée à une augmentation d'activité oscillatoire en LFP. Cette activité dans la bande bêta (13-30Hz) est corrélée avec la sévérité des symptômes moteurs (Kühn et al., 2009; Chen et al., 2010). En revanche, elle est atténuée par le traitement à la L-DOPA (Brown et al., 2001; Levy et al., 2002) et la SCP-HF (Eusebio et al., 2008).

De façon analogue, des enregistrements chez des patients souffrants de TOCs ont permis d'identifier des marqueurs électrophysiologiques associés à la compulsion. Ainsi en comparant les signatures électrophysiologiques de patients souffrants de TOCs et des patients parkinsoniens, des oscillations spécifiques à basse fréquence et particulièrement dans les bandes thêta (6-11Hz) et Delta (1-5Hz) ont pu être isolées et associées à la compulsion (Welter et al., 2011). Il a été démontré de plus que l'intensité du signal enregistré était

corrélée avec l'intensité des symptômes compulsifs et permettait également de prédire l'efficacité du traitement par SCP-HF (Welter et al., 2011; Rappel et al., 2018).

De par son utilisation relativement simple, la SCP-HF est un outil thérapeutique très puissant mais, à cause de son mécanisme complexe, son utilisation pour identifier les circuits nécessaires aux effets thérapeutiques s'avère complexe. Dans cette optique, de nouvelles approches de neuromodulation permettent d'atteindre un nouveau niveau d'exploration fonctionnelle.

2) L'optogénétique : l'utilisation de la lumière permet une modulation encore plus spécifique

a) Principe de la technique

L'optogénétique est une technologie qui permet un contrôle rapide et précis de certains paramètres cellulaires sur tissu vivant (Deisseroth, 2011). En utilisant une combinaison d'outils génétiques et un appareillage optique, il est possible d'obtenir un gain ou une perte de fonction pour certaines fonctions physiologiques sur le tissu considéré. Dans la majorité des applications en neurosciences, cette méthode permet d'activer ou d'inhiber l'activité électrique de populations neuronales spécifiques, avec une très grande précision temporelle de l'ordre de la milliseconde (Deisseroth, 2011). L'intérêt majeur de cette technique est de contrôler une population cellulaire donnée tout en laissant les populations voisines intactes, ce qui permet d'atteindre un très haut niveau de spécificité. Elle consiste à faire exprimer par les neurones d'intérêt des protéines transmembranaires photosensibles : les opsines, qui une fois activées par un rayon lumineux de longueur d'onde spécifique vont permettre un flux d'ions au travers de la membrane plasmique et ainsi modifier son potentiel électrique.

Les opsines ont pour la première fois été isolées dans les années 1970, à partir de bactéries capables de réguler les flux ioniques au travers de leurs membranes plasmiques grâce à différentes protéines ; bactériorhodopsine, channelrhodopsine et halorhodopsine, qui agissent comme des pompes ioniques lorsqu'elles sont exposées à des photons du spectre visible (Oesterhelt and Stoerkenius, 1971; Matsuno-Yagi and Mukohata, 1977; Nagel et al., 2002). L'optogénétique a véritablement émergé dans les années 2000 lorsque les gènes des opsines microbiennes ont été introduits avec succès dans des cultures neuronales qui sont devenues sensibles à la lumière (Boyden et al., 2005). Plusieurs études ont ensuite montré

qu'il était possible de stimuler ou d'inhiber une population neuronale, offrant ainsi un contrôle bidirectionnel sur l'activité électrique avec une très grande précision temporelle (Li et al., 2005; Zhang et al., 2006, 2007; Gradinaru et al., 2008). Ces propriétés ont ensuite été étendues au tissu nerveux de mammifère puis ont été utilisées chez des animaux vigiles et mobiles (Adamantidis et al., 2007; Aravanis et al., 2007). L'apport de technologies issues des télécommunications a par ailleurs facilité l'utilisation de l'optogénétique pour des manipulations chroniques, et a notamment amélioré sa compatibilité avec les tests comportementaux et les enregistrements électrophysiologiques in-vivo (Gradinaru et al., 2008; Stuber et al., 2011; Sparta et al., 2012). Plus particulièrement, cela a permis de faciliter le contrôle spécifique des terminaisons axonales des neurones marqués par les opsines (Gradinaru et al., 2007; Petreanu et al., 2007). Cette particularité de pouvoir exercer un contrôle spécifique au niveau des projections constitue un des atouts majeurs de l'optogénétique, facilitant l'analyse du rôle de sous-parties du réseau au sein d'une même population ou permettant d'étudier très précisément le fonctionnement de sous-populations neuronales données.

Si la résolution temporelle dépend uniquement des propriétés des opsines, la résolution spatiale, elle, dépend directement de la sélection de populations neuronales. Elle peut donc s'effectuer selon plusieurs stratégies en fonction du degré de spécificité que l'on souhaite obtenir (Figure 15). Les premiers outils disponibles faisaient appel à des virus ou des modèles transgéniques murins pour induire l'expression des opsines sous le contrôle de promoteurs ubiquitaires, qui ne permettaient pas d'obtenir une résolution spatiale suffisante. Ces outils ont ensuite été raffinés afin de cibler plus précisément des populations en fonctions de leur propriétés physiologiques et de promoteurs spécifiques (ex : promoteur CaMKIIa pour les neurones glutamatergiques, transporteur de la dopamine « DAT » pour les neurones dopaminergiques ou « acétylcholine transférase » pour les neurones cholinergiques). Il suffit alors d'injecter ces virus lors d'une chirurgie stéréotaxique, les particules virales vont transfecter les cellules avoisinantes et induire l'expression des opsines si les promoteurs sont reconnus (Gradinaru et al., 2009; Yizhar et al., 2011). En revanche, un nouveau niveau de précision supplémentaire a pu être atteint avec l'utilisation de virus dépendant des recombinaisons Cre et Flipase. Ceux-ci ne peuvent être exprimés qu'en présence des recombinaisons, et en les associant avec des lignées transgéniques murines exprimant ces protéines dans des types cellulaires bien spécifiques et déterminés, le pattern d'expression des opsines devient très spécifique (Tsai et al., 2009).

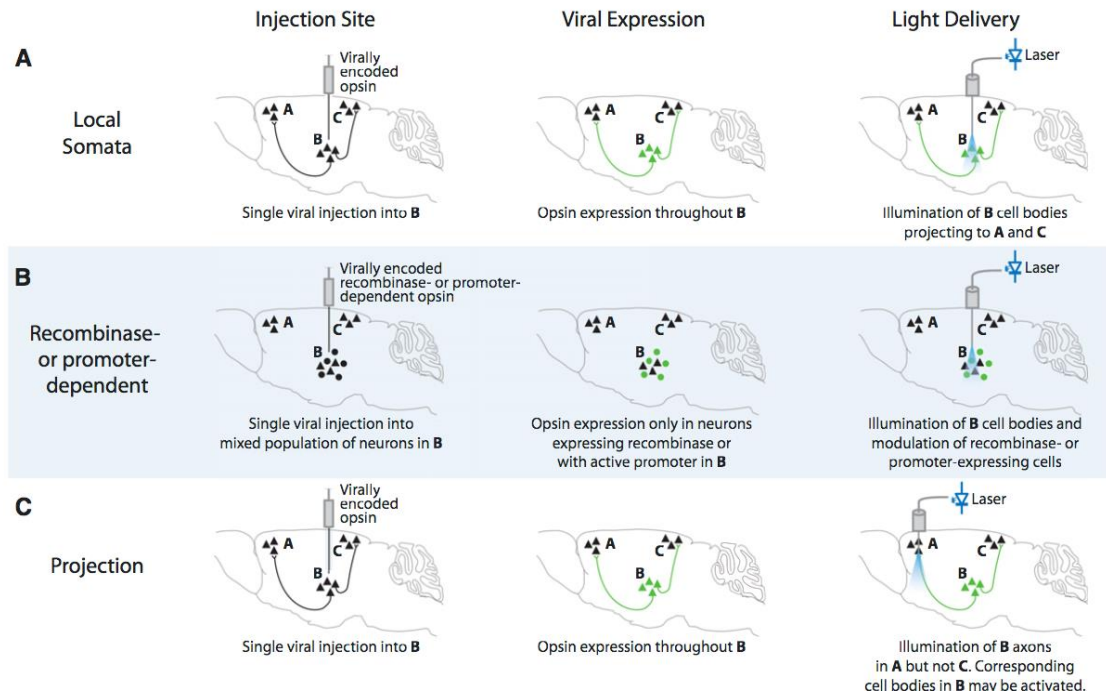


Figure 15 : Exemple de différentes stratégies de contrôle optogénétique. A. La modulation s'effectue de façon locale en injectant le virus et en implantant les fibres optiques dans la même région cérébrale. B. Une population particulière de la zone B est sélectionnée en utilisant une séquence virale dépendante de la recombinase CRE ou contrôlée par un promoteur spécifique. C. Exemple de modulation distante de fibre, le virus est injecté dans la zone B et une fois exprimé, en implantant une fibre optique au-dessus de la zone A il est possible de perturber l'activité des projections B>A. D'après Yizhar et al.,2011.

En parallèle, différents types d'opsines ont été développés, pour répondre au besoin de combiner plusieurs de ces outils au sein d'un même système. Des modifications dans les séquences géniques ont permis d'augmenter l'intensité des courants ioniques, de modifier le spectre d'excitation des opsines, et d'améliorer leur compatibilité avec les processus cellulaires (export depuis le réticulum endoplasmique, adressage à la membrane, ions transportés, etc.). Ceci afin de disposer d'une gamme complète d'outils pour perturber l'activité cellulaire (Gradinaru et al., 2008; Gunaydin et al., 2010; Berndt et al., 2011, 2014; Yizhar et al., 2011; Mattis et al., 2012). Ces outils permettent, lorsque les lignées transgéniques sont difficilement disponibles (rats ou primate), de cibler de façon précise nombre de populations neuronales afin d'en contrôler l'activité. Il s'agit précisément de l'approche que nous avons suivie dans notre étude optogénétique, en utilisant des séquences

contrôlées par le promoteur CaMKIIa, qui a montré une certaine spécificité pour les neurones glutamatergiques du cortex (Gradinaru et al., 2009).

b) Limites et précautions

Les premières limites concernant l'utilisation de l'optogénétique portaient au démarrage sur la question de la spécificité et du risque de lésion à cause de l'exposition prolongée des cellules à un flux de photons (Deisseroth, 2011; Yizhar et al., 2011). Ces premières critiques ont pu être levées progressivement en montrant de manière empirique que l'application de l'optogénétique n'induisait pas de dommages spécifiques sur le tissu mais elles ont néanmoins permis de disposer d'une certaine gamme de travail pour utiliser les sources lumineuses. Elles ont mis en évidence, et tout particulièrement pour les tests in-vivo l'importance de disposer d'un groupe contrôle dépourvu d'opsines pour s'assurer que les effets observés ne pouvaient pas être un artéfact de la stimulation lumineuse ou de la transfection virale (Yizhar et al., 2011; Deisseroth, 2015). La manipulation des projections axonales par optogénétique bien que très facile dans le cas d'une stimulation, est susceptible d'entraîner une activation antidromique et orthodromique des axones collatéraux, ce qui réduit fortement la spécificité d'une telle manipulation (Gradinaru et al., 2009; Deisseroth, 2015). A l'inverse, les courants des opsines inhibitrices peuvent se révéler de trop faible amplitude pour inhiber efficacement certains neurones et notamment les projections axonales, d'autant qu'une illumination continue est souvent requise ; pour contourner cette difficulté des canaux inhibiteurs photosensibles ont été développés (Berndt et al., 2014; Wietek et al., 2014). Il a en outre été rapporté que certaines opsines inhibitrices peuvent provoquer une activation des terminaisons synaptiques durant une illumination prolongée (Mahn et al., 2016).

A l'heure actuelle, un des défis majeurs reste sa faible compatibilité avec des approches thérapeutiques chez le patient. En effet l'application de l'optogénétique requiert tout d'abord une thérapie génique afin de rendre les cellules d'intérêt sensibles à la lumière. Cette étape en elle seule concentre plusieurs difficultés à la fois d'un point de vue éthique mais aussi technique pour assurer une transfection efficace sur d'importants volumes cérébraux, tout en s'assurant de l'absence d'effets secondaires liés à ces modifications géniques. Les difficultés du passage de cette technique du rongeur au primate montrent à quel point le changement d'échelle peut être problématique. Le deuxième écueil vient de la difficulté à disposer de sources lumineuses implantables pour illuminer un très grand volume

de tissu. Ces éléments font de l'optogénétique une technique avec un faible potentiel thérapeutique, mais qui en revanche constitue un excellent outil pour l'analyse et l'investigation des fonctions supportées par les réseaux neuronaux en conditions normales ou pathologiques.

c) NST et optogénétique

Les premières expériences d'optogénétique sur le NST ont été faites sur des modèles parkinsoniens (Gradinaru et al., 2009). Cette étude a permis de mettre en évidence la contribution de la voie hyperdirecte pour les effets thérapeutiques de la SCP-HF. En revanche, les auteurs n'ont pas pu montrer d'effet concernant la stimulation ou l'inhibition directe du NST par optogénétique, alors que l'inactivation par lésion améliore les symptômes moteurs (Bergman et al., 1990). D'autres études ont depuis mis en évidence que l'inhibition optogénétique est en mesure de réduire les symptômes parkinsoniens (Yoon et al., 2014, 2016), et la contribution de la voie hyperdirecte a pu être confirmée (Sanders and Jaeger, 2016; Chu et al., 2017). Par ailleurs d'autres fonctions non-motrices ont commencé à être explorées. Ainsi l'activation du NST est suffisante pour arrêter une action de léchage de nourriture sucrée, alors que l'inactivation va prolonger ce comportement malgré la présence de signaux distracteurs (Fife et al., 2017), ce qui confirme le rôle du NST dans les mécanismes d'impulsivité et d'inhibition comportementale qui avait déjà été précédemment décrit. Cependant de nombreuses autres fonctions du NST, en particulier en lien avec la motivation n'ont pas encore été explorées. Il est important de noter que, hormis l'approche étudiant spécifiquement la voie hyperdirecte, les études optogénétiques au niveau du NST n'ont pas tenté de cibler une sous-population particulière, mais plutôt une modulation d'activité de la structure dans son ensemble, comme une lésion. Les hypothèses actuelles d'existence de sous-populations neuronales distinctes au sein de NST devraient conduire à des études optogénétiques plus intéressantes dans l'avenir.

3) La chémogénétique : une combinaison d'outils chimiques et génétiques pour altérer l'activité cellulaire

La chémogénétique a été définie comme une méthode d'ingénierie des protéines pour les faire interagir avec des ligands chimiques artificiels qui n'étaient pas reconnus préalablement (Roth, 2016). Comme pour l'optogénétique, plusieurs groupes de protéines ont été spécialement modifiés pour être utilisables par les biologistes et en particulier dans les

neurosciences. Parmi les différents types de protéines, on retrouve ainsi des récepteurs couplés aux protéines G, des canaux ioniques activés par un ligand, des kinases ou d'autres protéines à activité enzymatique. Parmi toutes ces catégories, l'une des plus utilisées en neurosciences sont les DREADDs (« Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs »), qui font partie de la classe des récepteurs couplés aux protéines G (Armbruster and Roth, 2005; Armbruster et al., 2007). La Clozapine-N-Oxyde (CNO) constitue le principal agent chimique utilisé pour l'activation des DREADDs. Il s'agit d'un ligand artificiel apparemment inerte d'un point de vue pharmacologique et comportemental lorsqu'il est administré à des rongeurs selon des doses modérées entre 0.1-3mg/kg (Guettier et al., 2009; Ferguson et al., 2011, 2013; Farrell et al., 2013; Urban et al., 2016). Le CNO possède une affinité élevée pour les récepteurs DREADDs et une affinité réduite pour les récepteurs endogènes ayant une structure proche de celle des DREADDs. La fixation du CNO sur le récepteur permet son activation et le déclenchement de cascades de réaction intracellulaires via les protéines G, ce qui aboutit à une modification de l'activité de la cellule (Figure 16). Afin d'augmenter l'activité neuronale et activer la voie de signalisation Gq, le récepteur hM3Dq représente la forme la plus utilisée (Armbruster et al., 2007; Alexander et al., 2009). Lorsque les DREADDs couplés à la Gq ont été conçus, 3 versions ont été créées à partir de 3 formes du gène humain codant pour le récepteur muscarinique à l'acétylcholine : hM1Dq, hM3Dq, and hM5Dq (Armbruster et al., 2007; Roth, 2016). Ces trois variantes permettent une libération intracellulaire de calcium après fixation du CNO sur le récepteur (Armbruster et al., 2007). La première étude qui a démontré que le récepteur hM3Dq pouvait dépolariser et exciter des neurones d'une population ciblée date de 2009 (Alexander et al., 2009). Bien que les trois variantes puissent être utilisées pour augmenter l'activité des neurones, la forme hM3Dq reste la plus utilisée. L'utilisation de ces outils a permis de disséquer un certains nombres de circuits et leurs fonctions associées, avec par exemple la formation de synapses striatales (Kozorovitskiy et al., 2012), certains mécanismes de contrôle de la satiété (Krashes et al., 2011; Atasoy et al., 2012), ou en lien avec la mémoire (Garner et al., 2012) ou les comportements sociaux (Peñagarikano et al., 2015).

Concernant l'inhibition neuronale, le récepteur le plus utilisé correspond à la forme hM4Di, même s'il existe une autre variante hM2Di, et le récepteur KORD qui dérive d'un récepteur opioïde. Les récepteurs hM4Di et KORD permettent l'inhibition de populations neuronales par un mécanisme double. D'abord ils hyperpolarisent la membrane en modifiant les courants d'entrée du potassium, qui sont mis en place par l'activation des canaux GIRK

par les protéines G (Armbruster et al., 2007; Vardy et al., 2015). Ensuite ils inhibent la libération de neurotransmetteurs au niveau présynaptique (Stachniak et al., 2014; Vardy et al., 2015). Ce mécanisme marque une différence fondamentale avec l'optogénétique, car les opsines bactériennes réalisent une forte hyperpolarisation de la membrane, alors que les DREADDs, en revanche, permettent une hyperpolarisation plus faible mais une forte inhibition de la libération de neurotransmetteurs par les axones (Stachniak et al., 2014; Vardy et al., 2015).

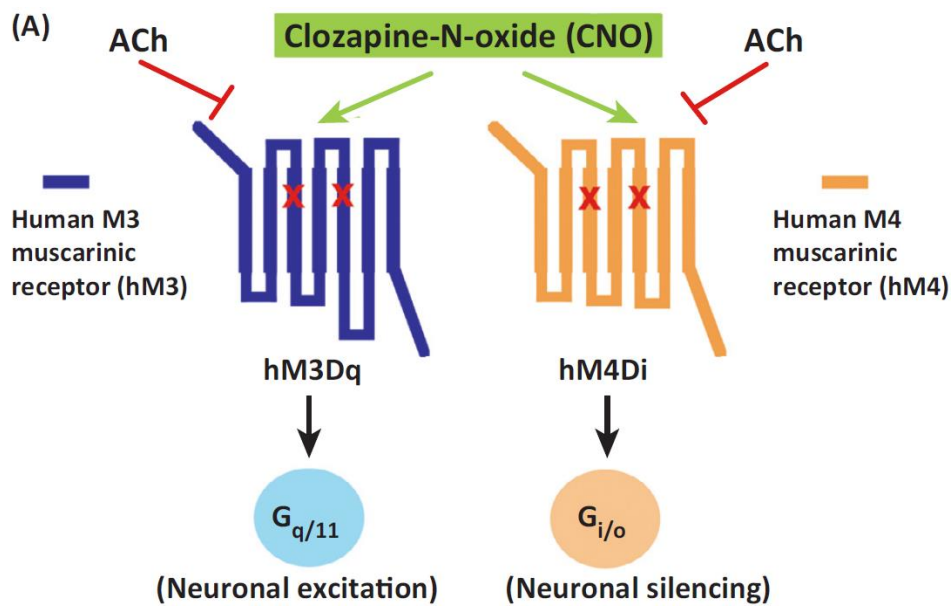


Figure 16 : Effet des ligands endogène et artificiel sur l'activité des DREADDs. L'acétylcholine (ACh) n'est plus en mesure de se lier au récepteur car les sites de liaison ont été mutés. La fixation du CNO sur le récepteur permet de l'activer et de réaliser une excitation du neurone (hM3Dq) ou une inhibition (hM4Di). Modifié d'après Wess et al., 2013.

La spécificité du CNO a récemment été remise en question par plusieurs études. En effet, le CNO peut-être métabolisé en clozapine par une rétro-transformation endogène chez le cochon d'inde, le rongeur et l'homme (Jann et al., 1994; Gomez et al., 2017). Bien que le CNO ait la possibilité de pénétrer dans le système nerveux central après une injection systémique, cette capacité est inférieure à celle de la clozapine (Bender et al., 1994; Gomez et al., 2017). En revanche les deux drogues restent présentes sur une large fenêtre temporelle, ce qui permet sans doute une activation robuste et prolongée des récepteurs (Alexander et al., 2009; Krashes et al., 2013). En conséquence, il est nécessaire de contrôler l'absence d'effets secondaires liés aux propriétés antipsychotiques de la clozapine, par exemple l'hypotension,

la sédation, ou un syndrome anticholinergique (Roth, 2016). Par ailleurs, il a été montré que le CNO administré à des concentrations de 3-5 mg/kg pouvait altérer certains comportements locomoteurs et opérants chez le rat (MacLaren et al., 2016). En conséquence, il est particulièrement important d'utiliser les contrôles appropriés, à savoir l'administration de CNO à des animaux exprimant la GFP ou une protéine similaire inerte, ce qui permet de s'assurer de l'absence d'effets secondaires liés à l'injection de CNO ou à sa rétro-conversion (Roth, 2016; Gomez et al., 2017; Mahler and Aston-Jones, 2018).

Les procédures pour induire l'expression de DREADD au sein du système nerveux est très semblable aux procédures développées pour l'optogénétique (Figure 17). On notera cependant une variante développée pour les DREAADD qui correspond à une technique appelée « Rétro-DREADD ». L'utilisation d'adénovirus canin exprimant la recombinaise Cre (Cav-Cre) permet l'expression des DREADD selon des projections spécifiques. Ceci est permis car les virus Cav-Cre sont transportés de manière rétrograde jusqu'au corps cellulaires des neurones (Soudais et al., 2001; Salinas et al., 2014; Junyent and Kremer, 2015). Ainsi au niveau du soma, la recombinaison avec des construits AAV-DIO-DREADD permet une expression des récepteurs de façon extrêmement ciblée et dépendante de la projection axonale considérée (Boender et al., 2014; Marchant et al., 2016).

De par leur conception dérivée de protéines humaines et leur mode d'action spécifique et réversible via des ligands spécifiques, les DREADDs disposent d'un potentiel thérapeutique intéressant. Plusieurs applications et approches ont été évoquées, notamment pour des pathologies telles que le diabète, l'abus de psychostimulants ou d'alcool, les troubles liés au stress post-traumatique, etc. (Pour détails voir : English and Roth, 2015; Roth, 2016). Les DREADDs ont été exprimés avec succès chez le primate non-humain sans effets toxiques apparents et ont permis de moduler l'activité électrophysiologique de certains circuits tout en modifiant le comportement de ces primates (Eldridge et al., 2016), ce qui laisse entrevoir des possibilités encourageantes pour le transfert de ces technologies chez le patient. Il reste néanmoins plusieurs étapes importantes à accomplir. En effet, même si l'utilisation d'AAV pour réaliser des transfections mises en place dans de très nombreux essais cliniques et même si les résultats en termes de sécurité et de profils d'expression sont encourageants, le choix du ligand reste un sujet épineux, étant donné que le CNO semble un mauvais candidat à cause sa rétro-conversion en clozapine (Jann et al., 1994; Roth, 2016). D'autres ligands comme la

salvorine B et la perlapine et même la clozapine administrée à des doses sous-liminales constituent des pistes intéressantes qui sont actuellement explorées.

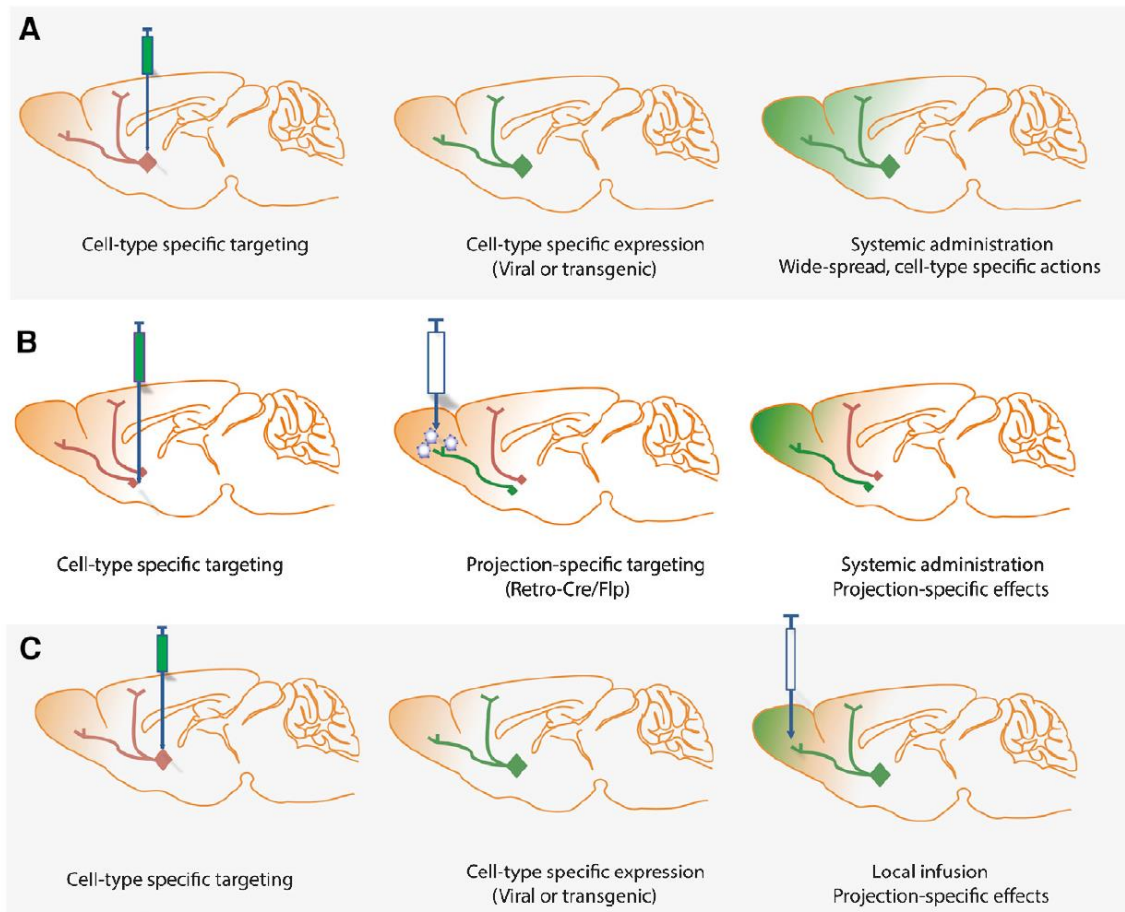


Figure 17 : Stratégies de modulation utilisant les DREADDs. A. Exemple de modulation directe d'une population cellulaire donnée, celle-ci est sélectionnée par l'injection virale qui induit l'expression du DREADD, la modulation est réalisée par une injection systémique. B. Sélection d'une double injection virale, le premier virus injecté contient le DREADD sous forme inactive due à la présence de séquences conditionnelles, le deuxième virus rétrograde permet une expression du DREADD par sa capacité à remonter les projections axonales. Le DREADD est ainsi exprimé uniquement dans une partie spécifique des projections (vert) et peut être activé par une injection systémique de ligand. C. Exemple de modulation distale, le virus codant pour le DREADD est injecté dans une zone du cerveau, le ligand est ensuite injecté directement dans le cerveau dans une zone où les projections sont présentes. (D'après Roth 2016).

E. Problématiques soulevées par le rôle du NST dans les comportements motivés.

Au travers des éléments évoqués précédemment nous avons pu mettre en évidence que le NST constituait un élément fondamental du système nerveux central de par sa position au sein des ganglions de la base. Cette structure intervient dans de nombreux processus moteurs, associatifs, limbiques et motivationnels. En particulier, sa capacité à discriminer différents types de récompense ainsi que son rôle dans les comportements motivés en font un acteur majeur des circuits limbiques. Enfin le fait que la lésion et la SCP-HF du NST induisent une augmentation de la motivation pour la nourriture et une baisse de la motivation pour la cocaïne, nous a poussés à explorer davantage les mécanismes associés à ce potentiel thérapeutique évident. Étant donné que le NST présente des signatures biologiques spécifiques associées à de nombreuses pathologies du SNC, le premier objectif visait à déterminer si des signatures biologiques spécifiques pouvaient se développer au sein du NST lors la prise de cocaïne chez le rat. Afin de répondre à cette question, nous avons réalisé des enregistrements électrophysiologiques au cours du processus d'escalade de la prise de cocaïne, ce qui constitue le premier volet des résultats présentés dans ce manuscrit. Ces résultats nous ont amenés ensuite à nous intéresser à ces mêmes signatures électrophysiologiques, mais dans un contexte nous permettant d'évaluer la compulsion des rats vis-à-vis de la cocaïne. Nous avons pu ainsi mettre en évidence dans une deuxième étude que des activités spécifiques enregistrées lors de l'escalade permettaient de prédire quels seraient les animaux montrant une recherche compulsive de cocaïne. Dans un deuxième temps, nous avons montré que manipuler l'activité du NST permet d'altérer la compulsivité des rats. Étant donné que la SCP du NST apparaît comme une piste thérapeutique majeure pour l'addiction à la cocaïne, mais que les éléments du réseau susceptibles de supporter les effets thérapeutiques restent mal décrits, nous avons cherché à déterminer la contribution du NST dans ce processus. Dans une troisième étude nous avons cherché à identifier la contribution spécifique du NST dans l'expression des comportements motivés pour la nourriture sucrée et la cocaïne grâce aux outils optogénétiques. Enfin comme le cortex préfrontal et le NST partagent de nombreuses fonctions et sont connectés par l'intermédiaire de la voie hyperdirecte, nous avons cherché dans un 4^e chapitre à comprendre quelle était la contribution de la voie hyperdirecte dans les comportements motivés.

II. Résultats expérimentaux

A. Premier article : rôle des oscillations pathologiques du STN dans le développement de l'escalade de la prise de cocaïne

1) Résumé de l'étude

Ce premier article se concentre dans un premier temps sur le développement d'oscillations au sein du NST qui accompagne l'escalade de la prise de cocaïne. Dans un deuxième temps, nous explorons l'efficacité de la lésion et de la SCP-HF du NST pour prévenir et réduire l'escalade de la prise de cocaïne. L'apparition de ces oscillations suggère la mise en place progressive d'une forme de plasticité au sein du NST alors que les animaux augmentent progressivement leur prise de cocaïne. Nos résultats montrent également que bloquer ces oscillations lors de la période de transition vers un mode de consommation intensif ou après une période d'abstinence suffit à réduire la consommation des animaux.

Ma contribution sur cet article concerne principalement les données oscillatoires en potentiel de champs locaux. J'ai réalisé les enregistrements, les expériences comportementales et l'analyse des données en collaboration avec Yann Pelloux. Nous avons mis à profit l'expérience concernant l'enregistrement et l'analyse de potentiels de champs locaux que j'avais obtenue dans un autre laboratoire, et nous avons adapté ces méthodes pour pouvoir les appliquer dans notre laboratoire. Avec Mickaël Degoulet, nous avons préparé le dispositif expérimental afin de mesurer l'activité locomotrice des rats dans un open-field. J'ai également mis au point tous les scripts de vidéo-tracking qui ont permis de récolter et analyser ces données. J'ai également pris une part active dans l'écriture du manuscrit et durant le processus de révision.

2) Résumé de l'approche méthodologique

a) Chirurgies

Les rats ont été anesthésiés avec un mélange de kétamine (Imalgen, Merial, 100mg/kg, s.c.) et médétomidine (Domitor, Janssen, 30mg/kg, s.c ; anesthésique réversible.). Ils ont d'abord été implantés avec un cathéter en silicone placé au niveau de la veine jugulaire droite.

Le cathéter a été introduit sur 2.5-3cm puis immobilisé avec des ligatures et de la colle. Le guide canule, renforcé au ciment dentaire, servant à connecter le cathéter a été placé au niveau du dos.

Les rats ont ensuite été placés dans un cadre stéréotaxique pour la chirurgie de lésion ou d'implantation des électrodes. Les animaux ont reçu une injection bilatérale d'acide iboténique (9.4µg/µl; 0.5µl injectés; n=33) ou de solution contrôle (PB; 0.1M, n=27) (AP: -3.7mm; L: ±2.4mm depuis le bregma; DV: -8.35mm depuis la surface du crâne). Dix-sept autres animaux ont été implantés avec des électrodes à ces mêmes coordonnées, les électrodes ont été fixées sur le crâne à l'aide de 4 vis d'ancrage et de ciment dentaire. La vis au niveau du lobe frontal droit a été utilisée comme référence électrique pour les enregistrements en potentiels de champs locaux (LFP : « local field potentials »). Afin de faciliter le réveil des rats une injection d'atipamezol (Antisedan, Janssen, 0.15mg/kg, *i.m.* : antagoniste de la médétomidine) a été réalisée.

Les animaux ont bénéficié d'une période de récupération post-opératoire de 10 jours. Les cathéters ont été testés quotidiennement pour le retour sanguin et nettoyés avec de l'héparine (Sanofi, 3g/L) and de l'enroflorilexine (Baytril, Bayer, 8g/L) dissous dans une solution saline (0.9%) pour empêcher les infections et la formation de caillots sanguins. Les cathéters ont été régulièrement testés au propofol (Propovet, Abbott, 10 mg/ml) pour confirmer leur bon état.

b) Auto-administration

Des boîtes opérantes dédiées à l'auto-administration ont été utilisées. Chaque session démarrait par l'allumage de la lumière et la distribution d'une injection gratuite de cocaïne (250µg/90µL diluée dans une solution saline à 0.9%). Selon une procédure de renforcement continu (FR1), chaque entrée au niveau du trou actif provoquait l'activation du stimulus lumineux associé durant 5s, la distribution d'une injection, et initiait une période de pause 20s durant laquelle les entrées au niveau du trou actif étaient comptées comme des persévérations. Une entrée au niveau du trou inactif n'entraînait aucune conséquence. Après acquisition d'un niveau stable d'injections en conditions d'accès court avec des sessions de 2h (ShA), les

animaux ont été placés quotidiennement en accès prolongé durant 6h (LgA) pendant 15 à 20 jours.

c) Enregistrement et analyse de l'activité LFP

Des électrodes bipolaires en platines ont été utilisées pour les enregistrements LFP. Les animaux ont été connectés à l'interface d'enregistrement, puis placés dans la boîte opérante. Les LFP ont été enregistrés durant 10 sessions de ShA et 10 sessions de LgA (jours 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12 and 13). L'activité LFP a été enregistrée 15 min avant tout accès à la cocaïne et durant les 30 premières minutes d'accès à la cocaïne. D'autre part, pour évaluer les effets de la SCP sur les oscillations, les LFP ont été enregistrés avant et après une unique session de 6h de SCP-HF du NST (équivalent à une session de LgA). Des enregistrements additionnels ont été faits 2 et 4 jours après cette session.

Les signaux ont été amplifiés, filtrés (1-475Hz) et enregistrés via l'interface Neularynx8 avec le logiciel SciWorks (Datawave Tech, USA). Avant analyse, un filtre passe-bas (<100Hz) a été appliqué ainsi qu'un filtre Notch (50Hz) pour éliminer le bruit causé par l'appareillage électrique environnant. Les données ont ensuite été traitées avec les logiciels Spike2 et Matlab. Pour déterminer l'activité spécifique de chaque STN, la différence de potentiel entre les deux contacts de chaque électrode a été calculée.

d) Stimulation cérébrale profonde du NST

La SCP-HF a été appliquée au moyen d'un générateur de signal (DS8000, WPI) couplé à une unité d'isolement (DLS100, WPI) et d'un commutateur tournant raccordés aux électrodes implantées. La stimulation a été appliquée à une fréquence de 130Hz, une durée de pulse de 80µs. L'intensité a été ajustée pour chaque rat et chaque hémisphère (50-150µA) en dessous du seuil d'induction de mouvements hyperkinétiques de la patte contralatérale. La SCP-HF a été appliquée pendant la durée des sessions comportementales.

3) Résultats

Les principaux résultats de l'article peuvent être résumés de la sorte :

- Des oscillations à basses fréquences dans la bande thêta (6-12Hz) et bêta (13-30Hz) augmentent au sein du NST en absence de cocaïne (enregistrements durant la baseline) progressivement au cours de l'escalade de la prise de cocaïne. Cette augmentation pourrait constituer un marqueur biologique associé à la transition vers une consommation non contrôlée.
- L'accès à la cocaïne et son auto-administration est associée à une augmentation des oscillations gamma corrélée à la dose injectée.
- L'inactivation du NST par lésion ainsi que la SCP-HF du NST permettent de prévenir l'augmentation progressive du nombre d'injections de cocaïne dans le modèle d'escalade et empêchent donc la perte de contrôle sur la consommation.
- La SCP-HF du NST permet de réduire l'activité oscillatoire au sein du NST, quelle que soit la bande (thêta, bêta et gamma).
- Enfin nous avons testé l'effet thérapeutique de la lésion du NST chez des rats ayant donc déjà subi le processus d'escalade, puis ayant eu une période d'abstinence consécutive à la chirurgie. Les rats lésés ne ré-escaladent pas au même niveau que le groupe contrôle (Sham).
- L'effet thérapeutique de la SCP-HF a été testé également après une première escalade suivie d'une période d'abstinence. Les rats du groupe qui n'ont pas reçu la stimulation ont vu leur consommation de cocaïne augmenter à nouveau au cours de la ré-escalade, contrairement au groupe recevant la SCP-HF.

La lésion et la SCP-HF du NST sont donc en mesure d'empêcher le développement de l'escalade et de réduire la ré-escalade de la prise de cocaïne après une abstinence prolongée. Ces résultats ont une valeur translationnelle intéressante par rapport au problème de rechute récurrent chez les usagers de drogues qui ont perdu le contrôle de leur consommation et qui tentent d'arrêter.

ARTICLE N°1



Subthalamic nucleus high frequency stimulation prevents and reverses escalated cocaine use

Yann Pelloux^{1,6} · Mickaël Degoulet¹ · Alix Tiran-Cappello^{1,2} · Candie Cohen¹ · Sylvie Lardeux¹ · Olivier George³ · George F. Koob³ · Serge H. Ahmed^{4,5} · Christelle Baunez¹

Received: 8 June 2017 / Revised: 7 March 2018 / Accepted: 4 April 2018
© Macmillan Publishers Limited, part of Springer Nature 2018

Abstract

One of the key features of addiction is the escalated drug intake. The neural mechanisms involved in the transition to addiction remain to be elucidated. Since abnormal neuronal activity within the subthalamic nucleus (STN) stands as potential general neuromarker common to impulse control spectrum deficits, as observed in obsessive–compulsive disorders, the present study recorded and manipulated STN neuronal activity during the initial transition to addiction (i.e., escalation) and post-abstinence relapse (i.e., re-escalation) in rats with extended drug access. We found that low-frequency (theta and beta bands) neuronal oscillations in the STN increase with escalation of cocaine intake and that either lesion or high-frequency stimulation prevents the escalation of cocaine intake. STN–HFS also reduces re-escalation after prolonged, but not short, protracted abstinence, suggesting that STN–HFS is an effective prevention for relapse when baseline rates of self-administration have been re-established. Thus, STN dysfunctions may represent an underlying mechanism for cocaine addiction and therefore a promising target for the treatment of addiction.

These authors contributed equally: Yann Pelloux, Mickaël Degoulet.

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1038/s41380-018-0080-y>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Christelle Baunez
christelle.baunez@univ-amu.fr

¹ Institut de Neurosciences de la Timone, UMR 7289 CNRS & Aix-Marseille Université, 27 Bld J. Moulin, F-13000 Marseille, France

² Département de Biologie, Ecole Normale Supérieure de Lyon, 69007 Lyon, France

³ Department of Neuroscience, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA

⁴ Université de Bordeaux, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, 146 rue Léo-Saignat, F-33000 Bordeaux, France

⁵ CNRS, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, 146 rue Léo-Saignat, F-33000 Bordeaux, France

⁶ Present address: Department of Neuroscience and Physiology, Neuroscience Institute, New York University Medical Center, New York, NY 10016, USA

Introduction

The subthalamic nucleus (STN) is a small nucleus within the basal ganglia that has been historically associated with basic motor functions. Abnormal neuronal activity within the STN, mostly increased beta oscillations (12–30 Hz), marks and drives motor symptoms of Parkinson's disease (PD) [1]. Although their exact origins remain largely unknown, these abnormal beta oscillations may be a secondary consequence of the PD-associated degeneration of midbrain dopamine (DA) neurons. Importantly, neutralizing beta activity by blocking STN activity with high-frequency stimulation (HFS) is a current effective treatment for PD [2, 3].

Over the past 15–20 years, the STN has progressively been shown also to be involved in non-motor functions, such as impulse control, encoding of reward, and motivational regulation [4–11]. As a result, abnormal STN activity has been reinterpreted as a general neuromarker common to impulse control spectrum deficits, as observed in obsessive–compulsive disorders (OCD) [6]. Since addiction is a form of impulse control spectrum disorder, the present study aimed first at identifying these possible abnormal activities within the STN during the transition to addiction. Previous research has shown that extended, as opposed to limited, access to drugs of abuse causes rats to develop

several core addiction-like behavioral symptoms, including escalated drug intake and increased drug motivation despite the negative consequences [12, 13].

Since STN inactivation reduces the initial motivation to self-administer cocaine in individuals that have limited access to the drug, while simultaneously increasing the motivation for sweet food [14, 15], targeting STN has been proposed as potential therapeutic strategy for cocaine addiction [16]. Whether and to what extent STN inactivation can affect the transition to more compulsive cocaine self-administration remains to be demonstrated. Here, we thus tested the effects of STN lesions or HFS during both the initial transition to addiction (i.e., escalation of cocaine use) and re-escalation after protracted abstinence.

Materials and methods

Animals

Adult Lister Hooded males (~380 g, Charles River) were housed in groups of two in Plexiglas cages and maintained on an inverted 12 h light/dark cycle (light onset at 7 pm) with food and water available *ad libitum*, in a temperature- and humidity-controlled environment. Animal care and use conformed to the French regulation (Decree 2010-118) and were approved by local ethic committee and the University of Aix-Marseille under #03129.01.

Surgery

As previously described [14, 15], animals were anesthetized with ketamine (Imalgén, Merial, 100 mg/kg, *s.c.*) and medetomidine (Domitor, Janssen, 30 mg/kg, *s.c.*) to first implant homemade silicone catheter in the right jugular vein and were then placed in a Kopf stereotaxic apparatus for either lesion or electrode implantation surgery. Animals received a bilateral microinjection of ibotenic acid (9.4 µg/µl; 0.5 µl injected; $n = 33$) or vehicle solution (PB; 0.1 M, $n = 27$) in the STN (AP: −3.7 mm; L: ±2.4 mm from bregma; DV: −8.35 mm from skull) [17]. Ninety-seven other animals were implanted with electrodes at these coordinates. Electrodes and four anchoring screws (one on the right frontal lobe designated as the electric reference allowing LFP recordings in some animals) were secured with dental cement.

After surgery, all rats were awakened with an injection of atipamezole (Antisedan, Janssen, 0.15 mg/kg, *i.m.*). They were allowed to recover for 10 days. Catheters were daily checked for blood reflux and flushed with heparin (Sanofi, 3 g/l) and enrofloxacin (Baytril, Bayer, 8 g/l) in 0.9% saline to prevent blood clots and infection during the recovery period and until the end of experiments. Catheters

were also regularly tested with propofol (Propovet, Abbott, 10 mg/ml) to confirm their patency.

Self-administration paradigms

The classical self-administration chambers used are described in Supplementary materials. Each session started with the illumination of the house light and the delivery of a free infusion (250 µg/90 µl) of hydrochloride cocaine (Coopérative pharmaceutique française, dissolved in 0.9% NaCl). A continuous fixed-ratio 1 schedule of reinforcement (FR1) was used: a single nose poke in the active hole (randomized assignment) resulted in a 5-s illumination of the associated cue-light and cocaine delivery, that initiated a time-out period of 20 s during which nose pokes in the active hole were counted as perseverative responses. Alternatively, nose poke in the inactive hole had no programmed consequence. After acquisition of a stable baseline of cocaine consumption over the 2 h-short access (ShA) sessions, they were given daily 6 h-long access (LgA) to cocaine for 15 or 20 days.

One group of animals ($n = 13$ STN lesion and 11 sham) was tested during this procedure for preventive effect of the lesion on escalation. In parallel, another group ($n = 12$ ON and 12 OFF) was tested with STN-HFS.

An additional group of animals was only tested with STN-HFS ($n = 10$ ON and 8 OFF) applied during 15 ShA sessions to test the specificity of STN-HFS effects on escalation process.

In another experiment ($n = 16$), STN lesion ($n = 8$) was performed after rats had escalated their cocaine intake. They were then tested for ten LgA sessions after a post-surgical recovery period of 10 days.

In parallel, in a group of animals that had escalated their drug intake during 15 sessions of LgA ($n = 16$), STN-HFS was applied immediately from the 16th session for 15 consecutive sessions ($n = 10$) or remained OFF ($n = 6$).

Finally, in a last experiment, STN-HFS was tested on re-escalation in animals that had escalated their drug intake. After the 15 LgA session establishing escalation, a 35 days period of abstinence was observed before the animals were re-exposed to the drug for 10 LgA sessions under STN-HFS (ON, $n = 8$) or not (OFF, $n = 8$).

Recording and analysis of LFP activity

Bilateral bipolar platinum electrodes were used for LFP recordings and HFS (see Supplementary methods for details).

Animals ($n = 8$) were connected to the recording interface and placed in the operant chamber. LFPs were recorded for ten sessions of the ShA and for ten sessions (days 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12, and 13) over the LgA. STN electric activity was recorded for 15 min before any access to

cocaine and then during the first 30 min of the self-administration session. After the recording, the animals were immediately transferred to another operant chamber to complete their self-administration session.

In a separate experiment ($n = 9$), LFPs were recorded for 15 min before and after a single 6 h STN–HFS session (equivalent to an LgA session) with no access to cocaine. Additional recordings (15 min) were also performed 2 and 4 days after this HFS session.

Signals were amplified and filtered using a Neuralinx8 amplifier. Data were acquired using Sciworks software (Datawave Tech, USA) with a sampling rate of 1 kHz in the range of 1–475 Hz. Signals were filtered off-line with a Chebyshev low-pass filter (corner 98 Hz, order 10, ripple 0.5) and a notch filter was applied, to remove 50 Hz noise created by surrounding electrical devices, using Spike2 software (CED). Data were then carefully examined to ensure removal of electrical noise and ultimately treated using Matlab (Mathworks) software. As such, the analysis was limited to the following frequency bands: 5–45 Hz and 65–95 Hz. The specific activity of the STN, i.e., the difference of potential between the two wires within the same STN, was then calculated.

Correlational analysis

Relationships between behavioral performances during ShA or LgA (i.e., number of cocaine injections) and STN oscillatory power in the theta, beta, and gamma bands were assessed by plotting for each individual STN LFP powers and the number of cocaine injections taken either the day before each recording session ($n = 9$ for ShA and LgA) for the baseline recordings (i.e., 15 min before cocaine intake) or during the first 30 min of the self-administration sessions ($n = 10$ for ShA and LgA) for recordings during cocaine consumption. Power data used in these analyses were derived from all ten recording sessions during ShA and for ten sessions of LgA on days 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12, and 13.

High-frequency deep brain stimulation

HFS was delivered to the STN by a digital stimulator (DS8000, WPI) via a stimulus isolator (DLS100, WPI) and a rotating commutator (Plastics One) wired to the implanted electrodes (see supplementary methods). Stimulation parameters were adapted from previous studies [15, 18]. Briefly, stimulation parameters were set with frequency at 130 Hz and 80 μ s pulse width. Stimulation intensity (50–150 μ A) was individually adjusted below the threshold of induction of hyperkinetic movements. STN–HFS was turned ON just prior the start of each behavioral session and applied during the entire session.

Histology

At the end of the experiment, the rats were killed with pentobarbital (Dolethal; i.p.). Brains were removed and frozen into liquid isopentane (-80°C) to be further cut in 50- μ m-thick frontal slices with a cryostat in a blinded manner. Histological controls, for extend of the lesions and position of the electrodes, were performed after staining with cresyl violet (Supplementary Figure S1). Out of 33 animals tested for STN lesions, ten were discarded from final analysis for missed lesion (no shrinkage and gliosis reaction within the STN). Eleven animals were excluded from the LFP or STN–HFS experiments for mislocation of the electrodes. The final n values after histological verification and exclusion of some animals due to catheter patency issue ($n = 18$) or head cap loss ($n = 3$) are indicated in the figure legends.

Statistical analyses

No statistical methods were used to predetermine sample size, but the samples are comparable to those reported in previous studies [14, 15, 19, 20]. However, power analysis (two groups, two tails, and equal variance model) was performed to confirm that our sample sizes were sufficient to detect reliable changes in escalation (power $\geq 80\%$ at a level of confidence $P < 0.05$). Group assignment was mostly done in a random fashion, except for re-escalation procedure (Fig. 5), where rats were assigned to treatment group in a counterbalanced manner based on their first escalation level. Data are expressed as mean $\pm$ SEM with the sample size indicated for each group. Analyses were performed with Prism (GraphPad) and Matlab (Mathworks) softwares. Only P values < 0.05 were considered significant. Most data were analyzed with two-tailed t -test or one- or two-way ANOVA with group (sham or STN lesion; HFS ON or OFF) as a between factor and sessions, and/or blocks of sessions, or time bins (LFP and locomotor activity experiments) as repeated measures, followed by Bonferroni post hoc test or Student's t test. Correlations between LFPs power and the number of cocaine injections were statistically validated with ANCOVA controlling for inter-individual differences, since rats were treated as a covariate.

Results

Oscillations within the STN during the process of escalation

To monitor STN oscillations during the development of cocaine escalation, rats implanted with bipolar HFS electrodes were trained to self-administer cocaine under an

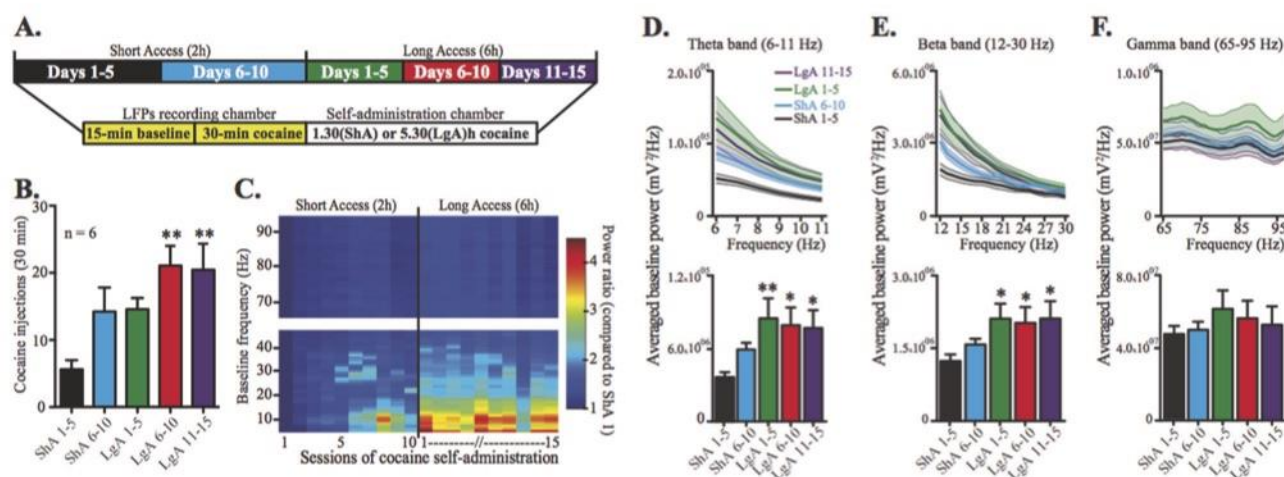


Fig. 1 Progressive development of low-frequency oscillations within the STN during baseline recording, i.e., in absence of cocaine (15 min before access to cocaine) parallels escalation of cocaine intake. **a** Schematic of the experiment. **b** Increase in cocaine intake during the first 30 min of self-administration averaged by blocks of five daily sessions over ShA (black bar: days 1–5, blue bar: days 6–10) and LgA conditions (green bar: days 1–5, red bar: days 6–10, purple bar: days 11–15; block effect: $F_{4,20} = 6.952$, $P = 0.011$, $n = 6$, repeated measure one-way ANOVA). **c** Daily time-frequency analysis of the power spectrum, equivalent to a measurement of the signal amplitude. Values

indicate the ratio of power spectrum normalized to the first day of ShA. **d–f** Highlights (upper panels, bold lines indicate average power values, light-colored areas indicate SEM; LgA 6–10 data have been omitted for clarity of presentation) and global quantifications of baseline power (bottom panels) for the theta (**d**), beta (**e**), and gamma (**f**) bands. Cocaine escalation induces an increase in oscillation power during LgA sessions only in the theta and beta bands (**d** $F_{4,20} = 4.308$, $P < 0.05$; **e** $F_{4,20} = 4.633$, $P < 0.01$; **f** $F_{4,20} = 1.917$, n.s., repeated measures one-way ANOVA). All bars are mean with SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. ShA 1–5 (Bonferroni post hoc test)

FR1 schedule of reinforcement with daily ShA to cocaine for 10 sessions and then for 15 LgA sessions (Fig. 1a). As expected, escalation in the drug intake was observed during LgA sessions (i.e., significant increased number of cocaine injections during the first 30 min spent in the electrophysiological recording chamber) (Fig. 1b).

Baseline activity (before access to cocaine): STN low-frequency oscillations as possible neuromarkers of reduced control over cocaine use?

LFPs recordings started 15 min before the self-administration sessions, allowing measure of the baseline activity in absence of cocaine (Fig. 1a). There were few variations in STN baseline oscillations recorded before the first ShA sessions, when the animals were naive to cocaine. However, over the course of the experiment, the oscillatory activity significantly increased within the STN during the LgA phase to reach a plateau, in parallel with the increased cocaine self-administration (escalation). Indeed, in absence of cocaine, during the baseline recording, the oscillations in low frequencies increased progressively as a function of the sessions (Supplementary Figure S2), and this increase was even more striking in comparison to the first day of ShA, when the rats had no experience with cocaine (Fig. 1c). Of note, variations in STN oscillatory activities were only observed in low-frequency oscillations. Indeed, specific band analysis revealed a significant progressive power increase in both theta (6–11 Hz) and beta (specifically in its

lowest part, 12–20 Hz) bands during the self-administration protocol (Fig. 1d, e), while the gamma band (60–95 Hz) remained stable (Fig. 1f).

A significant correlation was observed between baseline activity and the number of cocaine injections taken on the previous day during ShA sessions for theta and beta oscillations for most animals. This correlation disappeared during the LgA sessions, when the amount of cocaine injected was very high (Fig. 2a, b). No correlation was found for the gamma oscillations neither in ShA nor in LgA phases (Fig. 2c).

Oscillatory activity during cocaine access: loss of cocaine influence on STN theta and beta activity, but gamma activity as a possible neuromarker of cocaine intake

During the first 30 min of the ShA sessions, cocaine injections reduced the activity in the low-frequency bands (theta and beta) compared to baseline, with no effect on gamma band (Fig. 3a–d). However, during the first 30 min of the LgA sessions, following an increased baseline activity for theta and beta bands, the cocaine injections failed to reduce oscillatory activity (Fig. 3b, c). In contrast, while the baseline activity in the gamma band remained stable between ShA and LgA sessions, the access to cocaine induced a significant increase of the activity (Fig. 3a, d). Here, the increase in oscillatory activity in the gamma band was correlated with the number of cocaine injections taken during these 30 min of recording for most rats in ShA but

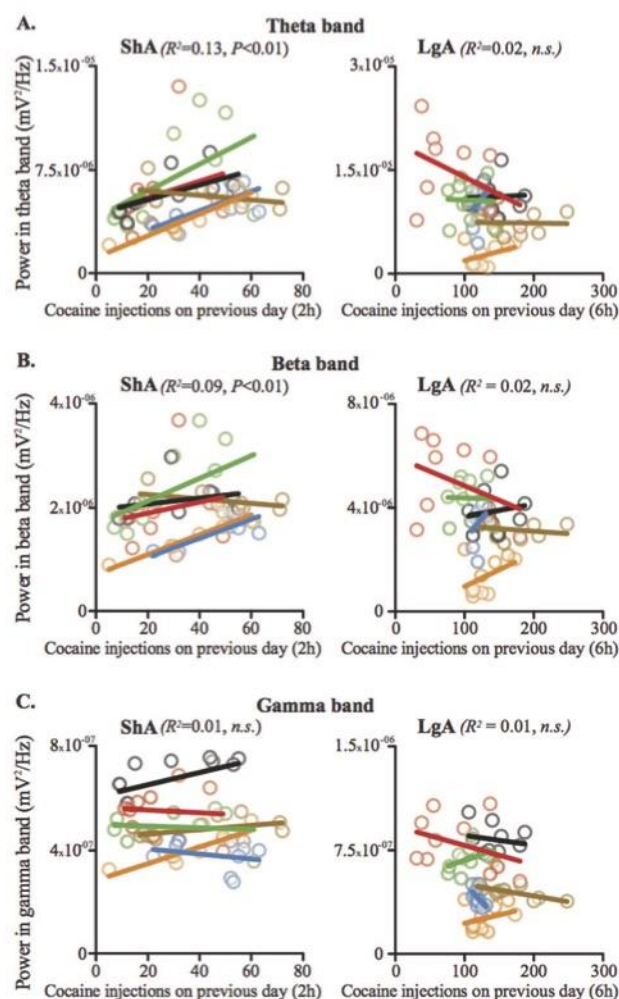


Fig. 2 During baseline recording, theta and beta oscillations in the STN show a correlation with the number of cocaine injections taken the day before during ShA, but not LgA sessions. Diagrams showing the correlations (bold lines) between STN oscillation power of the theta (a), beta (b), and gamma bands (c) and the amount of cocaine taken on the previous day during the baseline recordings preceding ShA (left panels) and LgA sessions (right panels) for each animal (light shaded-color circles). A significant correlation was found for the theta and beta, but not for the gamma, bands for ShA (a $F_{1,42}=9.2917, P<0.01$; b $F_{1,42}=7.55, P<0.01$; c $F_{1,42}=2.14, n.s.$; ANCOVA controlled for inter-individual differences). In contrast, no correlation was found during the baseline sessions preceding LgA sessions (a $F_{1,48}=2.34, n.s.$; b $F_{1,48}=1.09, n.s.$; c $F_{1,48}=2.78, n.s.$)

not in LgA (Fig. 3e). In contrast, no correlation was found for theta and beta activities (Supplementary Figure S3). This result positions gamma oscillatory activity within STN as a discriminative signature of controlled cocaine consumption.

STN inactivation prevents cocaine intake escalation

STN lesions prevent cocaine intake escalation

Sham and STN lesion rats subjected to the escalation procedure took the same amount of cocaine during ShA

sessions (Fig. 4a). In contrast, different patterns of intake were revealed when the animals were subjected to LgA sessions. As expected, sham control animals exhibited an escalation in their cocaine intake under extended access, showing a progressive increase in the total number of cocaine injections taken per 6 h session. In contrast, the STN lesion rats exhibited a lower intake than sham rats (Fig. 4a).

For a better comparison of the cocaine intake during ShA and LgA, the first 2 h of the LgA sessions were analyzed and pooled in blocks of five consecutive sessions and compared to the number of injections taken during the ShA sessions. Consistent with previous studies [12], the sham control animals progressively increased their drug intake during the first 2 h of the LgA sessions and reached a level much higher than that observed during the ShA sessions (Fig. 4b). STN lesion had a preventive effect on escalation since STN lesion rats took less cocaine than the controls during these first 2 h of the LgA sessions with no escalation in their intake (Fig. 4b). It is important to note that this reduced cocaine intake was not observed in animals only subjected to repeated ShA sessions, but was seen in a progressive ratio procedure [14] and was not related to a possible reduced motor activity in animals with STN lesions, since the lesion has no effect on spontaneous or drug-induced locomotor activity (Supplementary Figure S4A-C).

STN-HFS prevents escalation in cocaine intake

To test the effects of STN-HFS on escalation, rats were divided into two groups: the control group remaining OFF stimulation and the group ON stimulation. The two groups were subjected to 15 LgA sessions. As expected, the OFF group exhibited an escalation of cocaine intake under extended access to the drug. Conversely, the ON group did not (Fig. 4c). STN-HFS significantly decreased the amount of cocaine consumed during the entire LgA sessions when compared with the controls (Fig. 4c), as well as during the first 2 h of the LgA sessions (Fig. 4d). This effect of STN-HFS was specific to escalation processes since it was not seen in animals subjected to 15 consecutive 2 h ShA sessions (Supplementary Figure S5).

STN-HFS not only prevented escalation, but also reduced the number of perseverative responses (nose pokes in the active hole during the time-out following an injection) in the ON group, compared to the increase in the OFF group (Supplementary Figure S6). These responses can be either interpreted as an index of compulsivity or motivation for cocaine. Similar to what was observed in the lesion experiment, STN-HFS did not affect spontaneous or cocaine-induced locomotor activity (Supplementary Figure S4D-F).

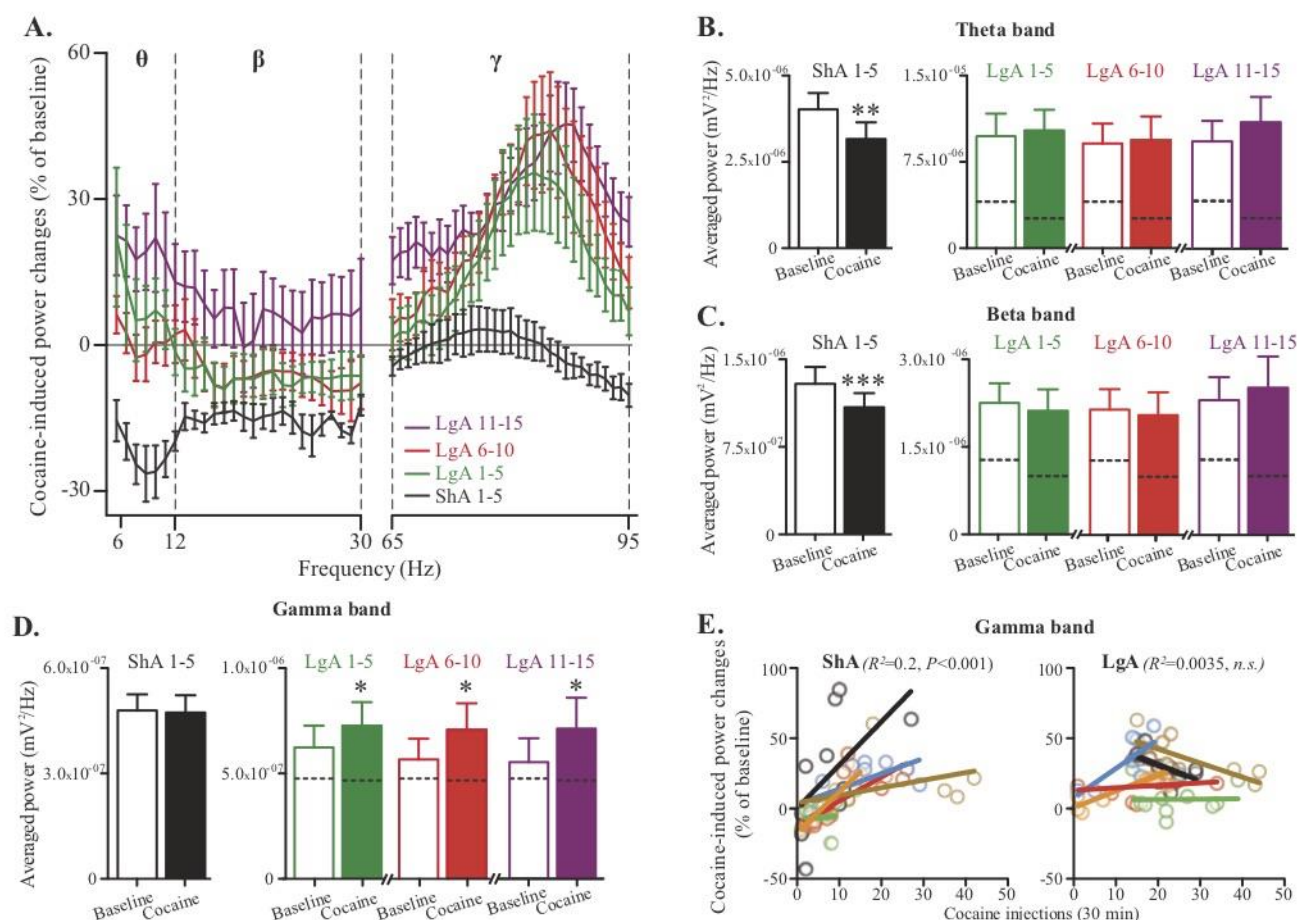


Fig. 3 Cocaine induces STN theta and beta oscillations decrease when compared to baseline in ShA, but not LgA sessions, while STN gamma oscillations appear as a marker of cocaine intake. **a** Graph showing the variations in STN oscillation powers induced by cocaine consumption, compared to baseline recordings, during the first 30 min of ShA (days 1–5, black line) and LgA sessions (days 1–5, green line; days 6–10, red line; days 11–15 purple line). When expressed as percentage of the baseline, cocaine induced a decreases in LFPs power spectrum for the low (theta and beta bands) frequencies during ShA that disappeared during LgA sessions, where high-frequency oscillations increased in the gamma band. **b–d** Bar graphs showing the averaged STN oscillation powers during baseline (open bars) and cocaine recordings (filled bars) for ShA (days 1–5, black bars) and LgA sessions (days 1–5, green bars; days 6–10, red bars; days 11–15 purple bars) in theta (**b**), beta (**c**), and gamma (**d**) bands. (ShA 1–5: **b**

$t_5 = 5.138, P < 0.01$; **c** $t_5 = 7.213, P < 0.001$; **d** $t_5 = 0.396, n.s.$; LgA 1–5: **b** $t_5 = 0.9415, n.s.$; **c** $t_5 = 1.416, n.s.$; **d** $t_5 = 2.873, P < 0.05$; LgA 6–10: **b** $t_5 = 0.5672, n.s.$; **c** $t_5 = 0.9004, n.s.$; **d** $t_5 = 3.607, P < 0.05$; LgA 11–15: **b** $t_5 = 2.256, P = 0.0738, n.s.$; **c** $t_5 = 0.9542, P = 0.3838, n.s.$; **d** $t_5 = 3.847, P = 0.012$, paired *t*-test). Dotted lines in the LgA bars indicate the level reached during ShA sessions. **e** Diagrams showing the correlations (bold lines) between STN oscillation power of the gamma band and the amount of cocaine taken during the first 30 min of ShA (left panel) and LgA sessions (right panel) for each animal (light shaded-color circles). A significant correlation was found during ShA ($F_{1,48} = 18.39, P < 0.001$; ANCOVA controlled for inter-individual differences) that disappeared during the LgA session ($F_{1,46} = 1.96, n.s.$). All data are means with SEM, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs. baseline, paired *t*-test

Effects of STN-HFS on STN oscillatory activity

Given that oscillations developed during escalation that is prevented by STN lesions and HFS, we tested whether or not STN-HFS could directly affect oscillatory activity. The results show that STN-HFS applied at 130 Hz immediately drastically diminishes the general oscillatory activity (Supplementary figure S7A) in an indiscriminate manner between bands (Supplementary figure S7B–D) and this effect recovers progressively over time.

Possible therapeutic effect of STN inactivation on cocaine intake after escalation?

To assess whether or not STN lesions could reduce cocaine intake even after a history of escalated intake, they were performed after rats had gone through the escalation procedure. As shown in Fig. 5a, while sham animals re-escalated their overall intake during the 6 h sessions, STN lesion rats did not re-escalate to the same extent. There was a trend toward significant group effect during re-escalation.

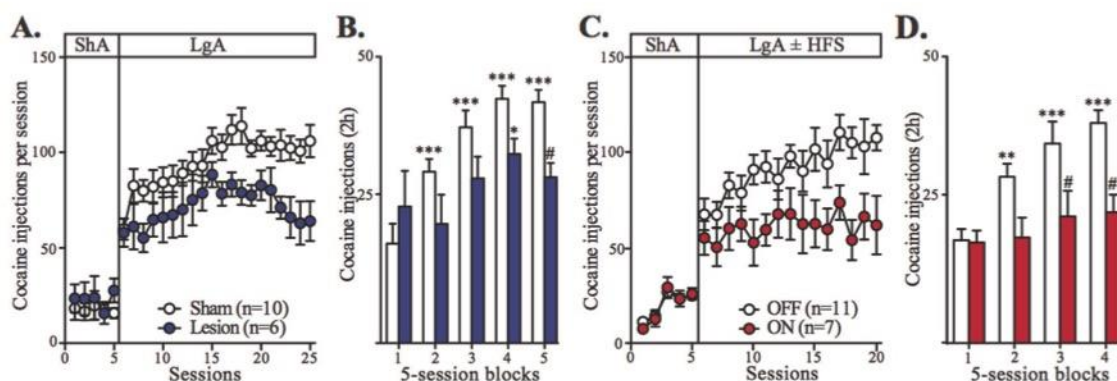


Fig. 4 STN manipulations have preventive effects on cocaine escalation. **a** Summary time graph presenting the effect of STN lesion on the total cocaine intake throughout the 5 last ShA and 20 LgA sessions. While STN lesion has no effect on ShA, it reduces the development of cocaine escalation (ShA: group effect: $F_{1,56} = 0.5683$, n.s., LgA: session effect: $F_{19,266} = 5.231$, $P < 0.0001$; group effect, $F_{1,266} = 8.939$, $P < 0.01$, mixed two-way ANOVA; sham group, $n = 10$, white dots; STN lesion group, $n = 6$, blue dots). **b** Summary bar graph showing that STN lesion also reduces the cocaine intake during the first 2 h of each session averaged per blocks of five ShA (block 1) and LgA (blocks 2–5) sessions (block $\times$ group interaction: $F_{4,56} = 4.329$, $P < 0.01$, mixed two-way ANOVA). **c** Summary time graph showing the effect of STN–HFS applied during 15 LgA sessions on the total

cocaine intake (OFF group: $n = 11$, white dots; ON group: $n = 7$, red dots). While both groups exhibit comparable intake during ShA, STN–HFS blocks the development of cocaine escalation (ShA: group effect: $F_{1,64} = 0.01819$, n.s.; LgA: session effect: $F_{14,224} = 1.863$, $P < 0.05$; group effect, $F_{1,224} = 13.51$, $P < 0.01$, mixed two-way ANOVA). **d** Summary bar graph of averaged cocaine intake during the first 2 h of each session per blocks of five ShA (block 1) and LgA (blocks 2–4) also shows that STN–HFS also blocks cocaine escalation development (block $\times$ group interaction: $F_{3,48} = 3.081$, $P < 0.05$, mixed two-way ANOVA). All data are means with SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs. ShA (block 1); # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs. sham group or OFF group (Bonferroni post hoc test)

Similar effects were observed during the first 2 h of the LgA sessions (Fig. 5b).

In the parallel experiment using STN–HFS, no significant effect of STN–HFS was observed when stimulation was activated immediately after escalation (Supplementary Figure S8).

Therapeutic effect of STN–HFS on re-escalation after protracted abstinence

Inactivation of STN immediately after escalation (Supplementary Figure S8) or after a 10-day period of abstinence (Fig. 5a, b) did not result in significant reduction of cocaine intake. We questioned whether or not a longer period of abstinence could allow possible therapeutic effect of STN manipulation. As shown in Fig. 5c, after an abstinence of 35 days, the OFF group exhibited re-escalation, unlike the ON group, indicating that STN–HFS prevented re-escalation of the number of cocaine injections taken overall. Similar effects were observed when analyzing the first 2 h (Fig. 5d).

Discussion

Escalation of drug intake is a hallmark of the transition from use to addiction. In animals, it is associated with decreased reward threshold, increased motivation to work for the drug and resistance to punishment, which are partly mediated by

negative reinforcement [12, 21–24]. We show here that STN low-frequency (theta and beta) oscillations, measured before daily cocaine access, increase during the escalation process, while gamma oscillations increase during cocaine consumption. A 130 Hz STN–HFS reduces STN oscillatory activity on the one hand and prevents escalation of cocaine intake on the other hand, suggesting that increased STN oscillatory activity represents an important process in mediating escalation of drug intake. Finally, when applied after a period of protracted abstinence, STN–HFS can then reduce re-escalation of cocaine intake. These results suggest that STN inactivation prevents compulsive-like responding for cocaine possibly through reduction of oscillations in the STN and can restore a controlled consumption even after a history of drug intake escalation.

How can extended access to cocaine lead to oscillatory activity within the STN?

During the controlled consumption phase (ShA), basal low-frequency oscillations (theta and beta) correlate with the amount of cocaine taken the day before. Since the drug intake remained stable when rats were maintained in ShA for 15 days, it is highly probable that the LFPs would not change during this period for these animals according to the correlation observed between STN LFPs and cocaine intake. In contrast, these correlations disappear during the escalation phase (LgA) while low oscillation powers keep increasing, suggesting they are not a direct consequence of

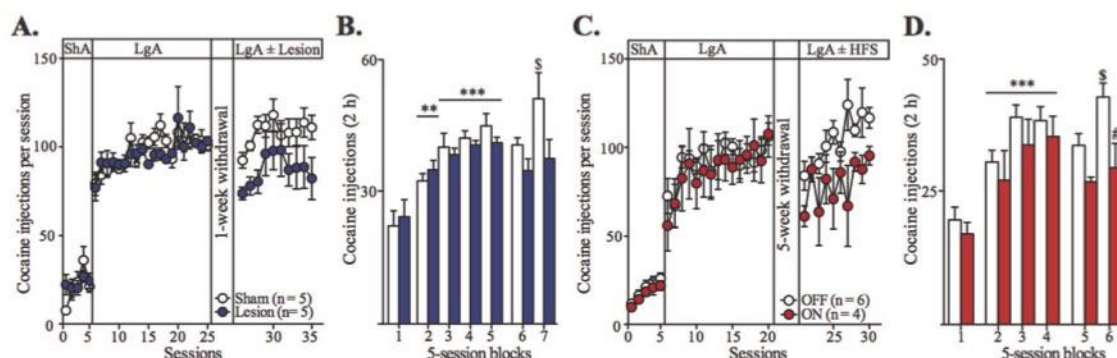


Fig. 5 STN manipulations have therapeutic effects after cocaine escalation. **a** Summary time graph presenting the effect of STN lesion, performed after escalation, on the total cocaine intake during ten LgA sessions following the surgery recovery period (10-day abstinence). Both groups (sham group: $n = 5$, white dots; STN lesion group: $n = 5$, blue dots) display comparable cocaine intake during escalation (session effect $F_{19,152} = 4.084$, $P < 0.0001$, session $\times$ group interaction $F_{19,152} = 0.8126$, n.s., mixed two-way ANOVA). Although not significant, STN lesion tends to reduce cocaine re-escalation observed in sham control animals after abstinence (session effect: $F_{9,72} = 3.083$, $P < 0.01$; group effect: $F_{1,72} = 4.762$, $P = 0.06$, mixed two-way ANOVA). **b** Summary bar graph showing the cocaine intake during the first 2 h of each session averaged per blocks of five ShA (block 1), four blocks of five pre-surgical LgA (blocks 2–5) and two blocks of five post-surgical re-escalation LgA (blocks 6–7) sessions. Both groups escalate their cocaine intake before surgery (block effect $F_{4,32} = 24.27$, $P < 0.0001$; group effect $F_{1,32} = 0.07691$, n.s., mixed two-way ANOVA). Again, STN lesion tends to reduce cocaine re-

escalation after abstinence (block effect: $F_{1,8} = 6.564$, $P < 0.05$, group effect: $F_{1,8} = 3.756$, $P = 0.08$, mixed two-way ANOVA). **c** Summary time graph showing the effect of STN-HFS on the total cocaine intake during ten LgA sessions following a 35-day period of protracted abstinence (OFF group: $n = 6$, white dots; ON group: $n = 4$, red dots). While both groups display comparable intake during escalation (session effect: $F_{14,112} = 2.861$, $P = 0.01$; group effect: $F_{1,112} = 0.1888$, n.s., mixed two-way ANOVA), STN-HFS reduces the re-escalation of cocaine escalation (session effect: $F_{9,72} = 2.546$, $P < 0.05$, group effect: $F_{1,72} = 10.01$, $P < 0.05$, mixed two-way ANOVA). **d** Summary bar graph, averaging the first 2 h of each session per blocks of five ShA (Block 1), three LgA of pre-HFS LgA (Blocks 2–4) and two blocks of five HFS LgA sessions, shows that STN DBS also reduces the cocaine re-escalation (block effect: $F_{1,8} = 7.086$, $P < 0.05$, group effect: $F_{1,8} = 9.186$, $P < 0.05$, mixed two-way ANOVA). All data are means with SEM. $**P < 0.01$, $***P < 0.001$ vs. ShA (block 1); $^{\$}P < 0.05$ vs. first block of re-escalation, $^{\#}P < 0.05$ vs. OFF group (Bonferroni post hoc test)

the increased drug intake. Consequently, this pathological increase may thus represent a biomarker of loss of control over drug intake.

Beta oscillations in particular have been associated with a DA depletion, as they are found in PD patients and animal models [1, 25, 26]. Interestingly, these oscillations are only present in STN after a chronic DA depletion, but not an acute DA blockade [26], suggesting their development required a long-term plasticity process. This could imply that repeated LgA exposures to cocaine may trigger a long-lasting process mimicking a DA depletion when recorded for baseline after an 18 h period of abstinence, a time-point during which reward efficacy is decreased [27]. In line with previous reports showing that DA replacement therapy reduces PD-abnormal STN oscillations [1], we show here that cocaine consumption reduces STN beta and theta oscillations.

In contrast, access to cocaine increases STN gamma oscillations, in line with their proposed involvement in some aspects of addiction and motor behaviors related to DA activation [28–31]. As for basal low frequencies, gamma band power correlates with the amount of cocaine taken in the ShA phase, but no longer during the LgA phase. This loss of correlation can be either due to a ceiling effect resulting from high amount of cocaine intake or may be interpreted as another biomarker of loss

of control over drug intake, independent on the amount of drug consumed.

What are the consequences in the brain and on behavior of STN oscillations?

Although they can be recorded in various sensorimotor regions of the basal ganglia structures, STN LFP oscillations correlate with cholinergic striatal interneurons as well as basal ganglia downstream structures (SNr, GPe, and GPi), but not with medium spiny striatal neurons [31, 32]. Beta activity induced by DA depletion is both higher in the STN than in its surroundings and correlates with increased single neuron or neuronal assembly activity in STN [26, 32, 33]. We thus hypothesize here that the progressive increased beta power observed during escalation process reflects an increased neuronal activity within the STN during baseline, which should result in a general reduction of motor activity. However, our results indicate that animals are not motorically impaired to a level that could prevent them from self-administering the drug since they are able to escalate their intake. In fact, beta oscillations and motor behavior do not always correlate, as acute DA antagonists seriously affect motor behavior without inducing any pathological beta activity in the STN, as in the case of catalepsy [34].

If one considers that STN activity increases in absence of cocaine in the escalated phase, this should lead to increased activity in the NAc, via the direct projections from STN to striatum. In contrast, NAc activity is progressively reduced during the development of escalation and also during re-escalation after protracted abstinence, especially in the shell [19]. This observation further suggests that the reduced NAc activity is probably due to another source of changes during escalation that might be more related to the DA system and confirms that STN oscillatory activity does not correlate with striatal activity [32]. However, STN oscillatory activity has been shown to correlate with motor cortical activity in PD rats [26]. It would thus be interesting to further investigate whether or not the STN biomarkers identified here have a correlate in the motor cortex or are indeed synchronized, as observed in PD, in which case desynchronization either at STN or cortical level might represent an interesting therapeutic strategy to prevent escalated drug intake.

The synchronization between STN and cortical activities has also been reported for gamma band oscillations [35]. Gamma oscillations have also been associated with arousal to emotional stimuli under DA influence in PD patients [36]. The increased gamma power observed here may therefore possibly affect the sensitivity to DA during cocaine intake and also prevent a proper treatment of emotional context. Indeed, lesion of STN reduces affective responses in rats [37].

STN lesions and HFS effects?

STN lesions and HFS have a preventive effect on escalation that is specific to the LgA phase since they have no effect on animals' consumption during ShA. One hypothesis to explain the efficacy of STN inactivation on blocking escalation of cocaine self-administration would be that abnormal synchronization within the STN network could be prevented by manipulating STN activity. Indeed, STN-HFS reduces oscillatory activity in all bands which is in line with former work showing that beta oscillations observed in PD patients are blocked by either L-DOPA [38] or STN-HFS [3]. L-DOPA and STN-HFS silence STN neurons in both PD macaques [25] and intact rats [20]. These physiological consequences have been classically associated with the beneficial effect of STN lesion or HFS on motor Parkinsonian symptoms [3, 39]. In a non-Parkinsonian brain, STN inactivation has here no effect on spontaneous or cocaine-induced locomotor activity, but has been shown to increase impulsivity of action that could favor drug self-administration [39, 40]. However, it also slows motor responses in tasks also requiring choice and reduces impulsivity of choice [5, 41, 42], which is often associated with compulsivity, consistent with the STN-HFS beneficial

effect on compulsivity in OCD patients [43]. Here, STN-HFS reduces the number of perseverations during the cocaine escalation, an index of either compulsivity or motivation for the drug. Thus, our previous and present data confirm that STN inactivation reduces the animal's motivation for cocaine [14, 15].

In addition to its local effects, HFS affects STN network activity because stimulation may propagate both orthodromically and antidromically along the axons to disrupt abnormal synchronization of the basal ganglia functional circuits [25, 31] and also to reduce excessive cortical coupling between beta oscillations and broadband activity observed in PD [44]. STN-HFS also reduces c-fos activity in the NAc shell in absence of drug [20] and abolishes the cocaine-induced increased c-fos expression in both NAc core and shell [45]. As such, during escalation, STN-HFS might therefore counteract the changes induced by cocaine in the NAc.

Immediately after cocaine escalation has developed, STN-HFS had no therapeutic-like effect in a procedure during which rats experienced a daily 18 h period of abstinence. Despite a trend, STN lesions also failed to significantly reduce re-escalation of cocaine intake after a 10-day period of abstinence. However, STN-HFS reduces re-escalation after a 35-day period of abstinence. This difference between STN lesions and HFS may be due to the procedure used, since excitotoxic lesions only affect STN neurons, while the HFS mostly inhibits the cells, but also activates the passing fibers. This highlights the issue that to obtain beneficial effects, it is important to reduce STN activity, while acting simultaneously on its network. However, it is more likely that the duration of abstinence is a more critical factor than the procedure. The 10-day period of abstinence imposed by the post-surgery recovery period presumably was too short. This suggests that a prolonged period of abstinence such as 35 days, possibly allowing a return to homeostasis resembling the naive state of the first escalation, seems required to allow STN-HFS effectiveness on cocaine relapse. Future experiments will be required to investigate this issue.

Deep brain stimulation is currently an FDA-approved surgical treatment for some neurodegenerative and psychiatric disorders [46]. Regarding addiction, the best target remains a matter of debate [15, 47, 48, 49]. Since it is important to treat the addiction to a drug without diminishing the desire for alternative, non-drug rewards such as food [14, 15], the STN appears as a solid candidate [16]. Favoring our proposed target, STN-HFS can reduce L-DOPA addiction in PD patients [50]. Accordingly, we identified here an addiction-associated pattern of STN abnormal activity whose reduction may contribute to HFS preventive and therapeutic effects. Furthermore, since addiction evolves through multiple cycles of abstinence/

relapse, our data evidence a potential clinical window for STN-HFS application, which may normalize drug intake after abstinence in cocaine abusers.

Acknowledgements The authors thank Drs. P Carrieri, C Bernard, P Belin, F Brocard, and G Masson for critical reading of the manuscript and the technical support from J. Baurberg and animal facilities personal. This research was funded by CNRS, Aix-Marseille Université (AMU), the “Agence Nationale pour la Recherche” (ANR_2010-NEUR-005-01 in the framework of the ERA-Net NEURON to CB and supporting to YP), the Fondation pour la Recherche Médicale (FRM DPA20140629789 to CB), National Institutes of Health grants DA (DA029821 to GFK) from the National Institute on Drug Abuse and the Fondation de l’Avenir (ET2-655 to CB).

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Brown P, Oliviero A, Mazzone P, Insola A, Tonali P, Lazzaro VD. Dopamine dependency of oscillations between subthalamic nucleus and pallidum in Parkinson’s disease. *J Neurosci*. 2001;21:1033–8.
- Limousin P, Pollak P, Benazzouz A, Hoffmann D, Broussolle E, Perret JE, et al. Effect of parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation. *Lancet* 1995;345: 91–95.
- Eusebio A, Cagnan H, Brown P. Does suppression of oscillatory synchronisation mediate some of the therapeutic effects of DBS in patients with Parkinson’s disease? *Front Integr Neurosci*. 2012; 6:47.
- Baunez C, Lardeux S. Frontal cortex-like functions of the subthalamic nucleus. *Front Syst Neurosci*. 2011;5.
- Eagle DM, Baunez C. Is there an inhibitory-response-control system in the rat? Evidence from anatomical and pharmacological studies of behavioral inhibition. *Neurosci Biobehav Rev*. 2010;34:50–72.
- Welter M-L, Burbaud P, Fernandez-Vidal S, Bardin E, Coste J, Piallat B, et al. Basal ganglia dysfunction in OCD: subthalamic neuronal activity correlates with symptoms severity and predicts high-frequency stimulation efficacy. *Transl Psychiatry*. 2011;1:e5.
- Darbaky Y, Baunez C, Arecchi P, Legallet E, Apicella P. Reward-related neuronal activity in the subthalamic nucleus of the monkey. *Neuroreport*. 2005;16:1241–4.
- Lardeux S, Pernaud R, Pateressompoulle D, Baunez C. Beyond the reward pathway: coding reward magnitude and error in the rat subthalamic nucleus. *J Neurophysiol*. 2009;102:2526–37.
- Lardeux S, Pateressompoulle D, Pernaud R, Cador M, Baunez C. Different populations of subthalamic neurons encode cocaine vs. sucrose reward and predict future error. *J Neurophysiol*. 2013;110: 1497–510.
- Breyse E, Pelloux Y, Baunez C. The good and bad differentially encoded within the subthalamic nucleus in rats. *eNeuro*. 2015;2: e0014–15.
- Zénon A, Duclos Y, Carron R, Witjas T, Baunez C, Régis J, et al. The human subthalamic nucleus encodes the subjective value of reward and the cost of effort during decision-making. *Brain J Neurol*. 2016;139:1830–43.
- Ahmed SH, Koob GF. Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science*. 1998;282: 298–300.
- Ahmed SH. The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience*. 2012;211:107–25.
- Baunez C, Dias C, Cador M, Amalric M. The subthalamic nucleus exerts opposite control on cocaine and ‘natural’ rewards. *Nat Neurosci*. 2005;8:484–9.
- Rouaud T, Lardeux S, Panayotis N, Pateressompoulle D, Cador M, Baunez C. Reducing the desire for cocaine with subthalamic nucleus deep brain stimulation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:1196–1200.
- Pelloux Y, Baunez C. Deep brain stimulation for addiction: why the subthalamic nucleus should be favored. *Curr Opin Neurobiol*. 2013;23:713–20.
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2013. 7th edn. Academic Press, Cambridge.
- Darbaky Y, Forni C, Amalric M, Baunez C. High frequency stimulation of the subthalamic nucleus has beneficial anti-parkinsonian effects on motor functions in rats, but less efficiency in a choice reaction time task. *Eur J Neurosci*. 2003;18:951–6.
- Guillem K, Ahmed SH, Peoples LL. Escalation of cocaine intake and incubation of cocaine seeking are correlated with dissociable neuronal processes in different accumbens subregions. *Biol Psychiatry*. 2014;76:31–9.
- Wade CL, Kallupi M, Hernandez DO, Breyse E, de Guglielmo G, Crawford E, et al. High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus blocks compulsive-like re-escalation of heroin taking in rats. *Neuropsychopharmacol*. 2017;42:1850–9.
- Roth ME, Carroll ME. Sex differences in the escalation of intravenous cocaine intake following long- or short-access to cocaine self-administration. *Pharmacol Biochem Behav*. 2004;78: 199–207.
- Wee S, Mandym CD, Lekic DM, Koob GF. Alpha 1-noradrenergic system role in increased motivation for cocaine intake in rats with prolonged access. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2008;18:303–11.
- Mantsch JR, Yuferov V, Mathieu-Kia A-M, Ho A, Kreek MJ. Effects of extended access to high versus low cocaine doses on self-administration, cocaine-induced reinstatement and brain mRNA levels in rats. *Psychopharmacology*. 2004;175:26–36.
- Vanderschuren LJMJ, Everitt BJ. Drug seeking becomes compulsive after prolonged cocaine self-administration. *Science*. 2004;305:1017–9.
- Meissner W, Leblois A, Hansel D, Bioulac B, Gross CE, Benazzouz A, et al. Subthalamic high frequency stimulation resets subthalamic firing and reduces abnormal oscillations. *Brain*. 2005;128:2372–82.
- Mallet N, Pogossyan A, Sharott A, Csicsvari J, Bolam JP, Brown P, et al. Disrupted dopamine transmission and the emergence of exaggerated beta oscillations in subthalamic nucleus and cerebral cortex. *J Neurosci* 2008;28:4795–806.
- Ahmed SH, Kenny PJ, Koob GF, Markou A. Neurobiological evidence for hedonic allostasis associated with escalating cocaine use. *Nat Neurosci*. 2002;5:625–6.
- Alcaro A, Panksepp J. The SEEKING mind: primal neuro-affective substrates for appetitive incentive states and their pathological dynamics in addictions and depression. *Neurosci Biobehav Rev*. 2011;35:1805–20.
- Magill PJ, Bolam JP, Bevan MD. Dopamine regulates the impact of the cerebral cortex on the subthalamic nucleus-globus pallidus network. *Neuroscience*. 2001;106:313–30.
- Levy R, Ashby P, Hutchison WD, Lang AE, Lozano AM, Dostrovsky JO. Dependence of subthalamic nucleus oscillations on movement and dopamine in Parkinson’s disease. *Brain J Neurol*. 2002;125:1196–209.
- Hamani C, Florence G, Heinsen H, Plantinga BR, Temel Y, Uludag K, et al. Subthalamic nucleus deep brain stimulation: basic concepts and novel perspectives. *eNeuro*. 2017;4:140–17.

32. Deffains M, Iskhakova L, Katabi S, Haber SN, Israel Z, Bergman H. Subthalamic, not striatal, activity correlates with basal ganglia downstream activity in normal and parkinsonian monkeys. *eLife*. 2016;5:e16443.
33. Bergman H, Wichmann T, Karmon B, DeLong MR. The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *J Neurophysiol*. 1994;72:507–20.
34. Degos B, Deniau J-M, Thierry A-M, Glowinski J, Pezard L, Maurice N. Neuroleptic-induced catalepsy: electrophysiological mechanisms of functional recovery induced by high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *J Neurosci*. 2005;25:7687–96.
35. Delaville C, McCoy AJ, Gerber CM, Cruz AV, Walters JR. Subthalamic nucleus activity in the awake hemiparkinsonian rat: relationships with motor and cognitive networks. *J Neurosci*. 2015;35:6918–30.
36. Huebl J, Spitzer B, Brücke C, Schönecker T, Kupsch A, Alesch F, et al. Oscillatory subthalamic nucleus activity is modulated by dopamine during emotional processing in Parkinson's disease. *Cortex*. 2014;60:69–81.
37. Pelloux Y, Meffre J, Giorla E, Baunez C. The subthalamic nucleus keeps you high on emotion: behavioral consequences of its inactivation. *Front Behav Neurosci*. 2014;8:414.
38. Priori A, Foffani G, Pesenti A, Tamma F, Bianchi AM, Pellegrini M, et al. Rhythm-specific pharmacological modulation of subthalamic activity in Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2004;189:369–79.
39. Baunez C, Nieoullon A, Amalric M. In a rat model of parkinsonism, lesions of the subthalamic nucleus reverse increases of reaction time but induce a dramatic premature responding deficit. *J Neurosci*. 1995;15:6531–41.
40. Baunez C, Robbins TW. Bilateral lesions of the subthalamic nucleus induce multiple deficits in an attentional task in rats. *Eur J Neurosci*. 1997;9:2086–99.
41. Baunez C, Humby T, Eagle DM, Ryan LJ, Dunnett SB, Robbins TW. Effects of STN lesions on simple vs choice reaction time tasks in the rat: preserved motor readiness, but impaired response selection. *Eur J Neurosci*. 2001;13:1609–16.
42. Adams WK, Vonder Haar C, Tremblay M, Cocker PJ, Silveira MM, Kaur S, et al. Deep-brain stimulation of the subthalamic nucleus selectively decreases risky choice in risk-preferring rats. *eNeuro*. 2017;4:e94–17.
43. Mallet L, Polosan M, Jaafari N, Baup N, Welter M-L, Fontaine D, et al. Subthalamic nucleus stimulation in severe obsessive-compulsive disorder. *N Engl J Med*. 2008;359:2121–34.
44. de Hemptinne C, Swann NC, Ostrem JL, Ryapolova-Webb ES, San Luciano M, Galifianakis NB, et al. Therapeutic deep brain stimulation reduces cortical phase-amplitude coupling in Parkinson's disease. *Nat Neurosci*. 2015;18:779–86.
45. Hachem-Delaunay S, Fournier M-L, Cohen C, Bonneau N, Cador M, Baunez C, et al. Subthalamic nucleus high-frequency stimulation modulates neuronal reactivity to cocaine within the reward circuit. *Neurobiol Dis*. 2015;80:54–62.
46. Paul Krack, Marwan I. Hariz, Christelle Baunez, Jorge Guridi, Jose A. Obeso. Deep brain stimulation: from neurology to psychiatry? *Trends in Neurosciences*. 2010;33:474–84.
47. Luijckes J, van den Brink W, Feenstra M, van den Munckhof P, Schuurman PR, Schippers R, et al. Deep brain stimulation in addiction: a review of potential brain targets. *Mol Psychiatry*. 2012;17:572–83.
48. Vassoler FM, Schmidt HD, Gerard ME, Famous KR, Ciraulo DA, Kometsky C, et al. Deep brain stimulation of the nucleus accumbens shell attenuates cocaine priming-induced reinstatement of drug seeking in rats. *J Neurosci*. 2008;28:8735–9.
49. Creed M, Pascoli VJ, Lüscher C. Addiction therapy. Refining deep brain stimulation to emulate optogenetic treatment of synaptic pathology. *Science*. 2015;347:659–64.
50. Eusebio A, Witjas T, Cohen J, Fluchère F, Jouve E, Régis J, et al. Subthalamic nucleus stimulation and compulsive use of dopaminergic medication in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013;84:868–74.

Supplementary Information:

Methods

Electrode design for STN HFS or local field potentials (LFP) recordings

The electrodes were made out of 2 Platinum-Iridium wires coated with Teflon (75 μ m). Coating was removed over 0.2mm at the tips and the two wires were then inserted into a 16mm-stainless steel tubing to form an electrode. The distance between the two wires was 0.5mm approximately. Two bipolar electrodes were maintained separated by a distance of 4.8mm (according to the distance between the two STN target sites) and then soldered to an electric connector. Electrodes (Impedance of 20 k Ω $\pm$ 2.25) and connector were subsequently deeply bound with dental cement and tested with an isolated battery to avoid electrical short circuits.

Self-administration apparatus

All behavioral experiments took place during the dark phase in rat operant chambers located in sound-attenuating cubicles (MedAssociates). Each chamber was equipped with a house light and two holes with a cue-light. During *i.v.* cocaine self-administration, catheters were connected through steel-protected silicone tubing to a swivel (Plastics One) and then an infusion pump (MedAssociates). Data were acquired with MED-PC IV (MedAssociates).

Effects of STN-lesion on spontaneous and cocaine-induced locomotor activity:

Locomotor activity was recorded in Perspex cages with a grid floor, equipped with infrared beams located 3cm above the floor along the long axis of the cage (Imetronic). The locomotor activity was analyzed by the sum of each photocell beam interruption.

Sham (n=8) and STN-lesion (n=8) rats were left in cages for a habituation of 90min before testing each day of testing. They were organized into sub-groups according to a pseudo-Latin Square design to receive either saline (NaCl 0.9%, s.c.) or cocaine (5 mg/kg, s.c.) in a

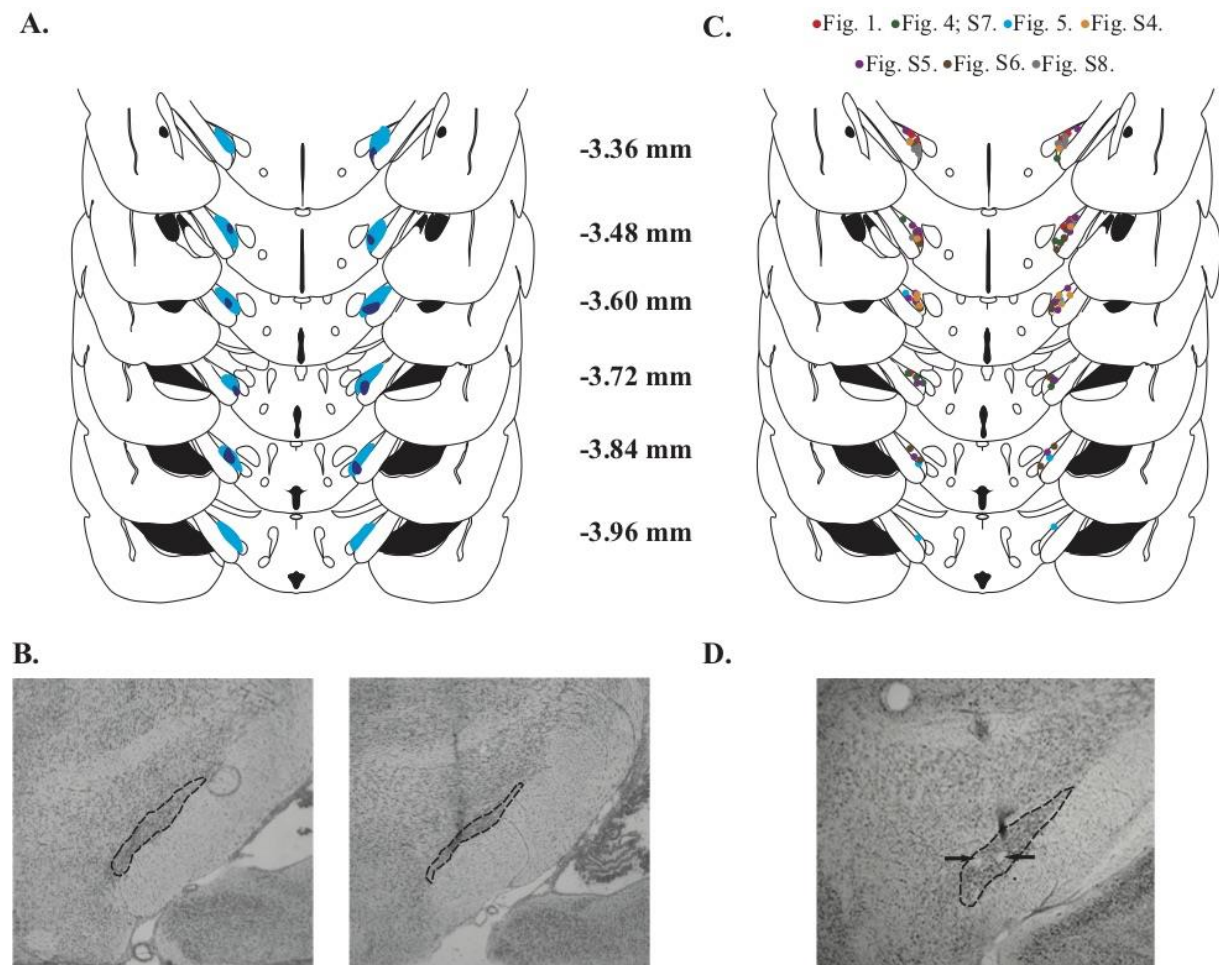
different order. They were then placed in the locomotor activity cages for 3 hours (Supplementary Figure S4A-C.).

Effects of STN HFS on spontaneous and cocaine-induced locomotor activity:

Locomotor activity was measured as the distance traveled (in meters) in a circular home-made Perspex open field (60 cm diameter). A video tracking system was placed above the open field. Data were acquired by the software Bonsai (Open Ephys), recorded on a PC computer and analyzed offline with Matlabs.

Treatment order (saline-OFF, cocaine-OFF, saline-ON and cocaine-OFF) was counterbalanced between animals with a 7-day period between them, to avoid possible effects of treatment order. The day before the start of the experiment, each individual was tested for adjustment of the stimulation parameters, as described in the methods section. After a 1h period of habituation in the open field, animals (n=6) were injected with either saline (0.9% NaCl, 1 ml/kg) or a low dose of cocaine (5 mg/kg, s.c.) and HFS was turned ON. Spontaneous and cocaine-induced locomotion were then recorded for 1 h. (Supplementary Figure S4D-F).

Supplementary figures



Supplementary Figure S1: Histologically verified lesion extends and electrodes placements.

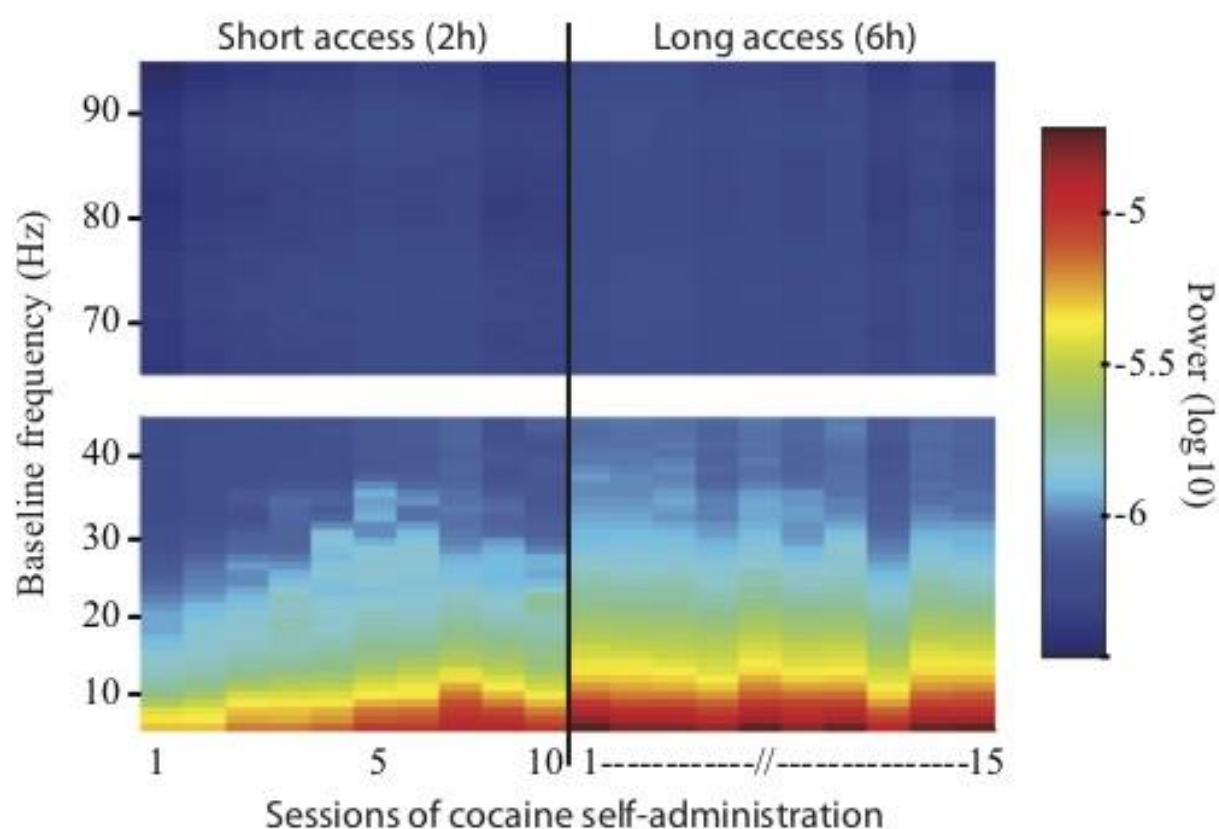
A: Reconstruction of the largest (blue) and the smallest (dark blue) extent of the lesion for the various experiments at each level of anteriority, indicated as the distance to bregma according to the Paxinos and Watson atlas¹⁷ on the right-hand side.

B: Left: Photograph of a brain slice of a sham representative animal at the level of the STN. Dotted line delineates the STN. Right: photograph of a brain slice of a STN-lesion representative animal at the level of the STN. The dotted line delineates the STN that has shrunk and exhibits gliosis reaction.

C: Reconstruction of the localization of the electrodes for the various experiments according

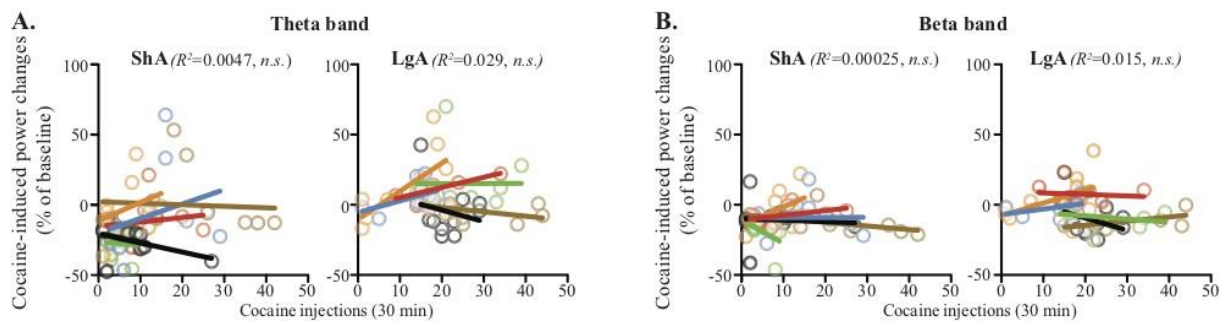
to the color code indicated above. The numbers on the right hand side indicate the distance to bregma according to the Paxinos and Watson atlas.¹⁷

D: Photograph of a brain slice of a rat subjected to STN HFS. The dotted line delineates the STN and the arrows indicate the tip of the two wires of one bipolar electrode.



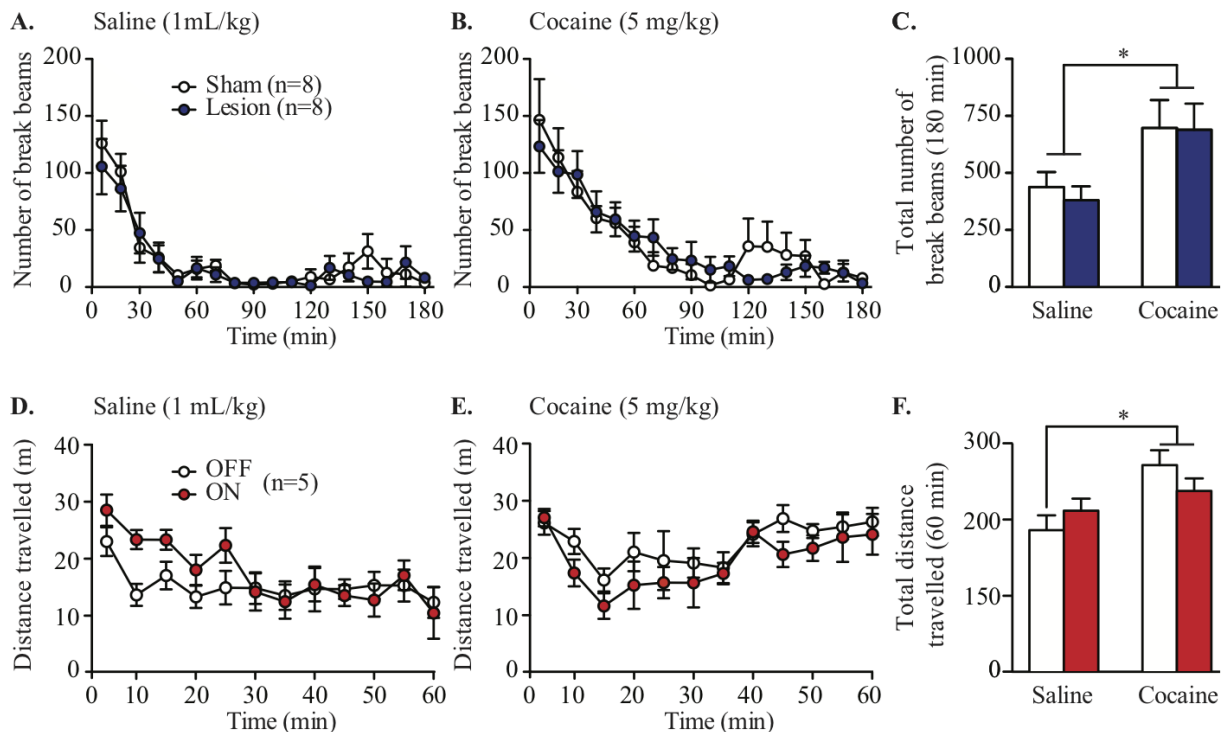
Supplementary Figure S2: Power spectrum across baseline recording before sessions in ShA and LgA.

Baseline activity was recorded for 15min before access to cocaine. The daily time-frequency analysis of the power spectrum, equivalent to a measurement of the signal amplitude, shows a progressive increase of the low frequency power as a function of the sessions. The values illustrated correspond to the logarithmic values of the power spectrum.



Supplementary Figure S3: Correlation analysis of STN activity in theta and beta band during cocaine self-administration for each rat.

Each dot represents a value of averaged power in the theta (A) and beta (B) bands associated with the number of injections taken on the same day during the first 30 minutes of cocaine self-administration under ShA or LgA condition. The values for each rat are illustrated in a different color.



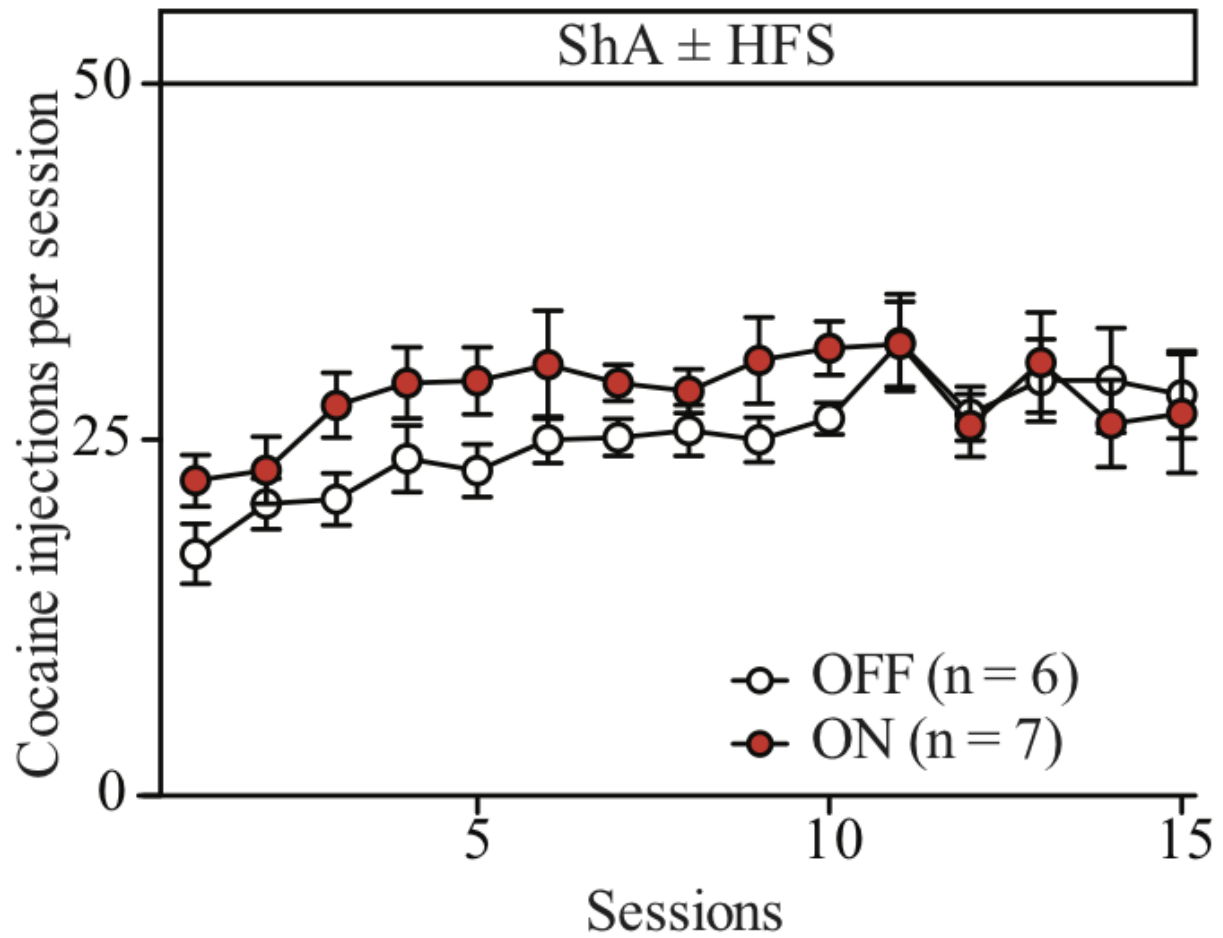
Supplementary Figure S4: Effects of STN lesions and STN HFS on locomotor activity.

A-B: Averaged time course of locomotor activity following (A) saline and (B) cocaine

injection. Compared to the sham control lesion (n=8), STN lesion (n=8) has no effect spontaneous- or cocaine-induced locomotion (**A.** group effect: $F_{1,238}=0.4122$, *n.s.*, **B.** group effect: $F_{1,238}=0.0022$, *n.s.*, mixed two-way ANOVA). **C.** Summary bar graph of total locomotor activity recorded during 3h. Cocaine significantly increases locomotor activity in both groups (cocaine effect: $F_{1,14}=14.68$, $P<0.01$, cocaine x group interaction: $F_{1,14}=0.02578$, *n.s.*, mixed two-way ANOVA).

D-E: Averaged time course of locomotor activity following (**D**) saline and (**E**) cocaine injection. STN HFS (n=6) has no effect on spontaneous- or cocaine-induced locomotion (**A.** condition effect: $F_{1,110}=2.092$, *n.s.*, **B.** condition effect: $F_{1,110}=1.408$, *n.s.*, mixed two-way ANOVA). **F.** Summary bar graph of total distance travelled during 1h. Cocaine significantly increases locomotor activity in both ON- and OFF-conditions compared to saline-OFF condition (cocaine effect: $F_{1,20}=6.697$, $P<0.05$, cocaine x condition interaction: $F_{1,20}=3.451$, *n.s.*, mixed two-way ANOVA).

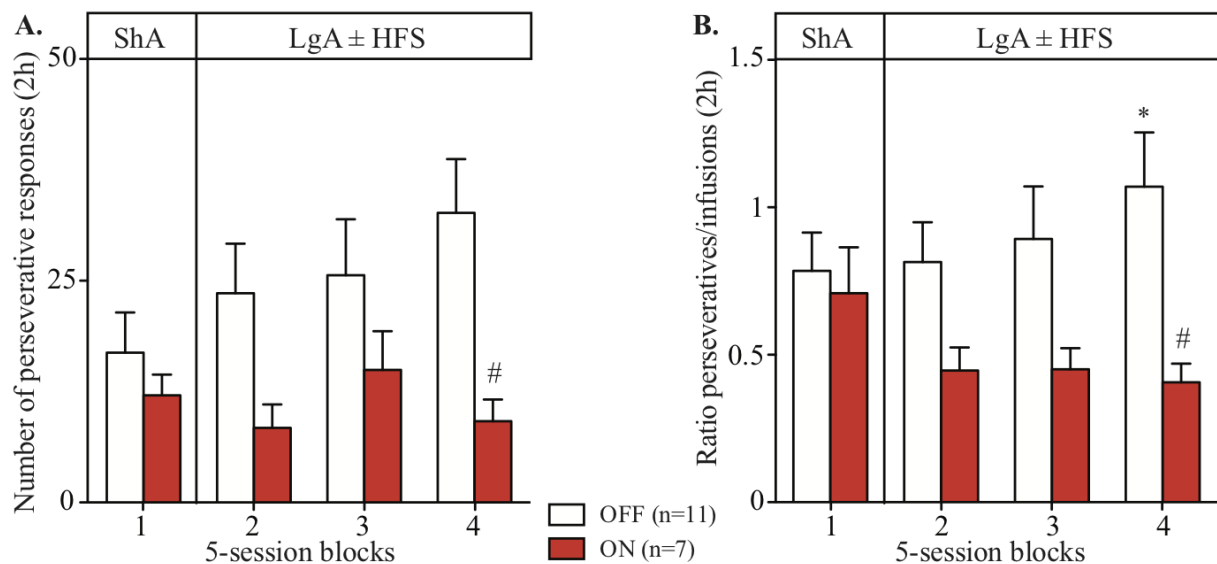
All data are mean with SEM. * $P<0.05$ (Bonferroni *post-hoc* test).



Supplementary Figure S5: Effect of STN HFS on cocaine intake during ShA sessions.

Averaged time course showing the total cocaine intake during 15 daily sessions of ShA. STN HFS was ON throughout the sessions. Both groups (OFF-group: n=6; ON-group: n=7) display a comparable amount of cocaine intake, indicating that STN HFS has no effect on basal cocaine consumption during ShA (group effect: $F_{1,154}=1.546$, *n.s.*, mixed two-way ANOVA).

All data are mean with SEM.

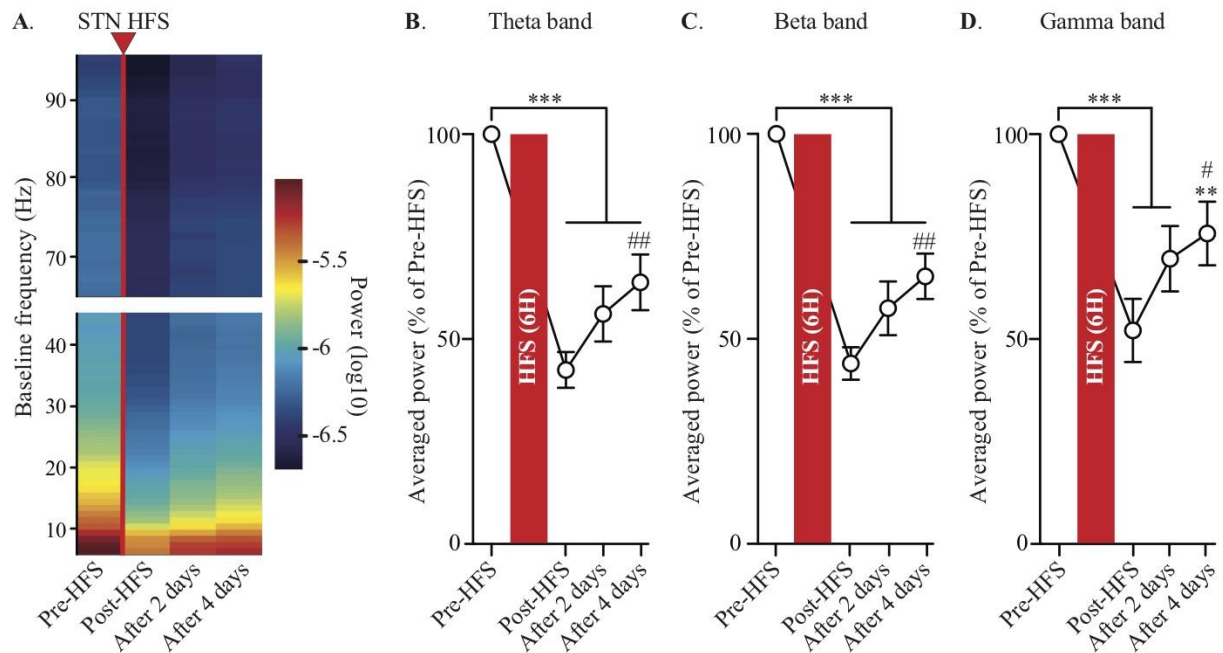


Supplementary Figure S6: Effect of STN HFS on perseverative responses.

A. Summary time graph showing the mean number of perseverative responses (repetitive nose-pokes in active hole during the inactive period) during the first 2h of each session averaged per blocks of 5 ShA (block 1) and 3 blocks of 5 LgA sessions. STN HFS (ON-group, $n=7$, red bars) reduces the perseverative responses when compared to the OFF-group ($n=11$, white bars) (group effect $F_{1,48}=5.107$, $P<0.05$, mixed 2-way ANOVA).

B. Summary time graph showing the mean ratio of perseverative responses made per active response (*i.e.* nose poke in the active hole triggering a cocaine infusion). While the ratio progressively increases during the escalation process in the OFF-group, STN HFS diminishes it (block x group interaction: $F_{3,48}=3.031$, $P<0.05$, group effect: $F_{1,48}=4.7$, $P<0.05$, mixed 2-way ANOVA).

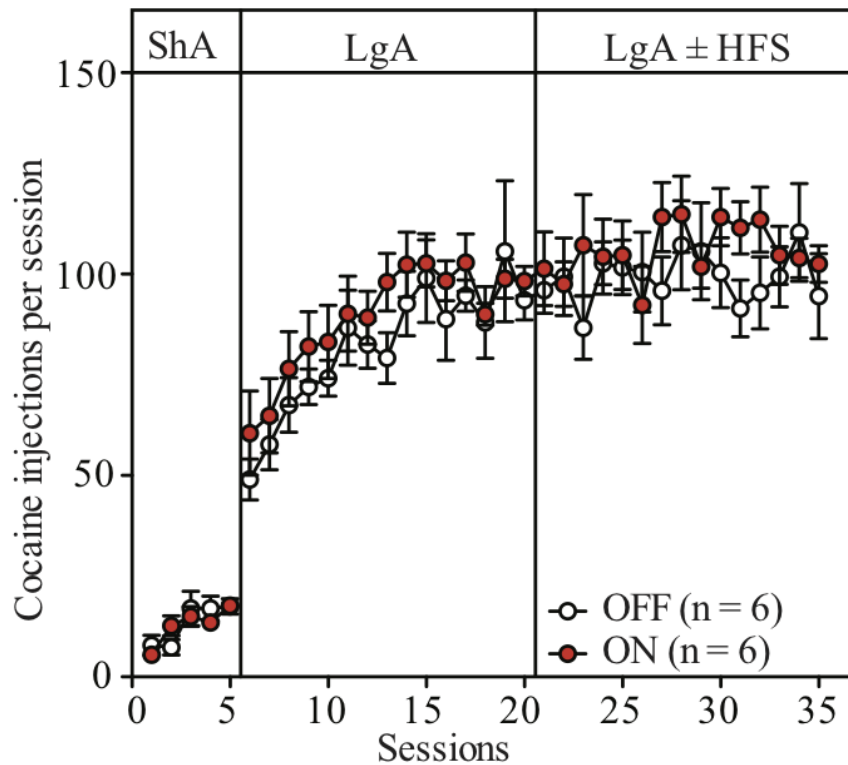
All bars are mean with SEM. * $P<0.05$ vs. block 1, # $P<0.05$ vs. OFF-group (Bonferroni *post-hoc* test).



Supplementary Figure S7: Effect of HFS on STN oscillatory activities.

A. Time-frequency power spectrum showing the effect of 6h HFS (arrowhead) on STN oscillatory activities in naïve rats ($n=9$). The right panel indicates the color-coded logarithmic values of the power spectrum. **B-D.** Summary averaged time courses (normalized to pre-HFS) showing that 6h STN HFS significantly reduced oscillatory activities in theta (**B**), beta (**C**) and gamma (**D**) which partially recovered over days (**B**: $F_{3,24}=26.63$, **C**: $F_{3,24}=35.2$, **D**: $F_{3,24}=12.47$; repeated measure one-way ANOVA).

All data are mean with SEM. $**P<0.01$, $***P<0.01$ vs. Pre-HFS, $\#P<0.05$, $##P<0.01$ vs. Post-HFS (Bonferroni *post-hoc* test).



Supplementary Figure S8: Effects of STN HFS when applied after escalation of cocaine intake.

Averaged time course showing the effect of STN HFS, applied during 15 LgA sessions following cocaine escalation, on total cocaine intake. Both groups (OFF-group, $n=6$, white dots; ON-group, $n=6$, red dots) escalate their cocaine intake in a comparable manner (session effect: $F_{14,140}=10.86$, $P<0.0001$; session x group interaction $F_{14,140}=0.4128$, *n.s.*, mixed two-way ANOVA). When applied right after cocaine escalation, *i.e.* with no period of abstinence, STN HFS has no effect on cocaine intake (session x group interaction $F_{14,140}=0.1049$, *n.s.*, mixed two-way ANOVA).

B. Deuxième article : Oscillations du NST et usage compulsif de drogue

1) Résumé de l'étude

Cet article analyse comment les oscillations qui se développent lors de l'escalade de la prise de cocaïne permettent de prédire une caractéristique de l'addiction qui est la recherche compulsive de drogue. Cette dernière est modélisée chez le rat en testant la capacité des animaux à poursuivre leur recherche de la cocaïne malgré les conséquences négatives liées à cette recherche (un choc électrique). Nous montrons dans cette étude que la plupart des rats, ayant pourtant escaladé leur consommation de cocaïne au préalable, arrêtent de s'auto-administrer lorsque la punition est introduite et que ces individus « sensibles » ne présentent pas de changements dans l'activité oscillatoire de leur NST durant l'escalade. Inversement, certains individus continuent à s'auto-administrer de la cocaïne même lorsque la recherche de celle-ci est punie. De manière intéressante, ces individus « résistants » sont ceux chez qui on observe l'augmentation progressive des activités oscillatoires (surtout dans les très basses fréquences à partir de 6Hz et jusqu'à 40 Hz) dans le NST durant l'escalade.

Afin de vérifier si cette activité oscillatoire pouvait être un marqueur prédictif de la vulnérabilité à la compulsion, nous avons testé la causalité entre ces observations. Ainsi, nous avons vérifié si l'application d'une stimulation à basse fréquence (8Hz) chez des rats « sensibles » pouvait les faire devenir « résistants » à la punition. C'est exactement ce qui a été observé, ce qui permet de conclure qu'une activité oscillatoire anormale dans les très basses fréquences contribue à la compulsion vers la cocaïne.

Inversement, nous avons testé si la SCP du NST à différentes fréquences (130 et 30 Hz) pouvait réduire la recherche compulsive de cocaïne. Nous avons observé que l'application d'un rythme de 30Hz au sein du NST chez des animaux « résistants » les rend « sensibles » à la punition.

Cet article explore donc le caractère bidirectionnel des manipulations permettant d'altérer le caractère compulsif ou non de la recherche de cocaïne.

Sur cet article, j'ai contribué à l'analyse des données en potentiels de champs locaux récoltées sur les rats « sensibles » et « résistants » à la punition. J'ai également participé à l'analyse de certaines données comportementales en écrivant des programmes permettant

l'extraction et le traitement de ces données, ainsi qu'au travail d'écriture et de relecture du manuscrit.

2) Résumé de l'approche méthodologique

a) Protocole d'auto-administration

Après la chirurgie, les animaux ont été progressivement entraînés au protocole de recherche-prise de cocaïne décrit par Pelloux et collaborateurs (Pelloux et al., 2007). Ce protocole est divisé en 4 phases : acquisition du comportement de prise, entraînement à l'enchaînement recherche-prise, escalade de la prise de cocaïne et enfin introduction de la punition.

Acquisition du comportement de prise

Cette phase initiale permet l'apprentissage de l'auto-administration selon une procédure de FR1. La session dans la boîte débute avec l'allumage de la lumière principale et la sortie d'un levier qui permet le déclenchement d'une injection de cocaïne (250µg/90mL). L'injection est associée avec l'illumination d'un CS lumineux au-dessus du levier de prise (5s), la rétractation du levier de prise. Après un time-out de 20s un nouvel essai est initié. L'entraînement est effectué durant 6 à 8 sessions jusqu'à ce que les animaux présentent un niveau de prise stable avant d'être soumis à l'étape suivante de la procédure.

Entraînement à l'enchaînement recherche-prise

Les sessions débutent avec l'illumination de la lumière principale, la sortie du levier de recherche et la rétractation du levier de prise. Un appui sur le levier de recherche aboutit à la rétraction de ce levier et la sortie du levier de prise.

Une fois que les animaux ont acquis cet enchaînement, un intervalle variable est introduit dans la procédure. Le premier appui sur le levier de recherche initie le démarrage d'un intervalle variable durant au maximum 2s, qui est progressivement augmenté jusqu'à 15, 30, 60, et 120s au travers de 5 sessions consécutives. Les appuis sur le levier durant l'intervalle variable n'induisent aucune conséquence. Le premier appui après la fin de l'intervalle provoque la rétractation du levier de recherche et la sortie du levier de prise, qui permet de déclencher l'injection de cocaïne selon la procédure de renforcement continu

décrite dans l'étape précédente dès l'appui. L'ensemble forme la séquence de recherche-prise. Chaque cycle est suivi d'un time-out d'une durée de 2min progressivement augmentée jusqu'à 10min.

Pendant les sessions, les rats ont été entraînés à répondre au niveau de la mangeoire afin d'obtenir 0.04mL d'une solution à 20% de saccharose selon une procédure avec intervalle variable qui a été progressivement augmenté jusqu'à 60s. La prise de sucre se déroule en même temps et de manière totalement indépendante des séquences de recherche-prise, permettant d'obtenir une mesure d'un comportement de recherche de récompense naturelle. A la fin de l'entraînement à la procédure de recherche-prise les animaux avaient la possibilité d'effectuer 10 cycles pour l'obtention (intervalle variable 2min, et time-out 10min) d'une injection de cocaïne et jusqu'à 120 distributions de solution sucrée pendant une session de durée fixe (2h).

Escalade de la prise de cocaïne

Une fois que les animaux ont atteint la dernière étape décrite dans le paragraphe précédent, les animaux sont soumis au protocole d'escalade de la prise de cocaïne en conditions d'accès prolongé. Ils sont placés dans les boîtes d'auto administration 6h par jour dans une procédure de FR1 durant 15 sessions consécutives afin de permettre la perte de contrôle sur la consommation de cocaïne. Les conditions expérimentales étaient identiques à celles de la phase « acquisition du comportement de prise » excepté pour la durée des sessions. Après 15 jours d'escalade les animaux ont été soumis à nouveau au protocole à la procédure de recherche-prise pour 5 sessions consécutives permettant d'établir un niveau de base après escalade de la prise de cocaïne. La punition associée à la recherche de cocaïne a été ensuite introduite.

Introduction de la punition

. Les animaux ont été soumis à 8 sessions consécutives durant lesquelles 50% des cycles de recherche se terminaient par un choc électrique modéré au niveau des pattes (0.5mA, 0.5s). Le choc était administré suite au premier appui sur le levier de recherche après la fin de l'intervalle variable, et empêchait l'accès au levier de prise. Les 50% restants des cycles permettaient l'accès au levier de prise. En conséquence, les animaux pouvaient recevoir jusqu'à 5 injections et 5 chocs électriques au maximum. Le score de compulsivité a

été défini comme le nombre moyen de cycles complétés (injections + chocs) sur les 4 derniers jours du protocole de punition.

Le caractère compulsif des animaux (ils persistent à rechercher la cocaïne malgré le risque de recevoir le choc électrique) n'émerge que lorsqu'ils ont été soumis au protocole d'escalade. En effet, les animaux n'ayant pas été soumis au protocole d'escalade arrêtent rapidement de rechercher la drogue lors de l'introduction de la punition et leur score de compulsivité ne dépasse pas 2.5. Ceci a permis de définir le score de 2.5 (25% de cycles complétés) comme un marqueur du caractère compulsif des animaux après accès prolongé à la cocaïne (Pelloux et al., 2007). On peut ainsi définir 2 populations de rats : les individus « sensibles », qui arrêtent de rechercher la drogue lors de l'introduction de la punition et les individus « résistants », qui persistent à rechercher la cocaïne malgré les conséquences négatives associées à cette recherche.

b) Enregistrement de l'activité LFP

L'activité LFP du NST a été enregistrée au cours de l'escalade de la prise de cocaïne en utilisant les mêmes paramètres d'enregistrement et les mêmes électrodes que ceux décrits pour l'article 1. Brièvement, l'activité spécifique du NST a été enregistrée en calculant la différence de potentiel électrique entre les deux brins d'une même électrode, et les signaux ont été filtrés pour l'analyse des bandes 4-40Hz et 65-90Hz. Les animaux ont été enregistrés durant les jours : 1, 4, 8, 12 et 15 de l'escalade avant l'accès à la cocaïne (activité basale) et après les 6h d'auto-administration.

SCP du NST

L'effet de différentes fréquences de stimulation a été testé dans cette étude. Les paramètres de stimulation ont été établis à partir des études précédentes. L'intensité a été ajustée individuellement sous le seuil d'induction des mouvements hyperkinétiques de la patte contralatérale (130Hz, 80µs de pulse). Par la suite, seule la fréquence de stimulation a été variée, mais la durée du pulse et l'intensité de stimulation n'ont pas été modifiées.

Pour tester la causalité entre les oscillations à très basse fréquence dans le NST et la compulsivité, des stimulations à 8 et 70Hz ont été appliquées lors de la 2^e escalade d'animaux

ayant été identifiés comme « sensibles » à la punition. Un groupe d'animaux « sensibles » a été stimulé à une fréquence de 8 Hz, un autre groupe à 70 Hz et un autre groupe contrôle n'a pas été stimulé durant cette 2^{ème} escalade (série de 15 sessions de 6h d'auto-administration de cocaïne).

Pour tester les effets « thérapeutiques » potentiels de la SCP du NST, les stimulations à 130 et 30Hz n'ont été appliquées que durant le protocole de punition chez des animaux préalablement identifiés comme « sensibles » et « résistants » et les données comportementales ont été comparées à celles de rats n'ayant pas été stimulés, mais dont le profil « sensible » ou « résistant » avait été également caractérisé.

3) Résultats

Les principaux résultats de l'article peuvent être résumés de la sorte :

- Les rats présentent des caractéristiques de recherche compulsive de cocaïne uniquement après avoir été soumis au modèle d'escalade de la prise de cocaïne. Ce phénotype est observable dans une sous-population
- Des oscillations à basses fréquences θ et β augmentent progressivement dans le NST pendant la baseline au cours de l'escalade uniquement chez les rats qui montreront ensuite un comportement compulsif vis-à-vis de la cocaïne.
- Des rats sensibles à la punition, deviennent compulsifs suite à l'application de SCP à 8Hz dans le NST lors d'une seconde escalade. En contrepartie des animaux exposés à une SCP à 70Hz ou sans SCP ne changent pas leur comportement et restent sensibles à la punition.
- L'application d'une SCP à 30Hz durant les sessions de punition permet de réduire le comportement de recherche compulsive de cocaïne chez les animaux résistants à la punition. Par contre, la SCP-HF à 130Hz ne semble pas affecter ce comportement.

Ces résultats montrent l'existence de signatures électrophysiologiques spécifiques dans le NST et permettent de prédire le futur comportement des rats dans la tâche de résistance à la punition. La SCP du NST permet d'assurer un effet bidirectionnel sur la recherche

compulsive de drogue, ce qui permet d'établir un intérêt potentiel de la stimulation à 30Hz pour une éventuelle application thérapeutique dans les cas d'addiction à la cocaïne.

ARTICLE N°2

Reversing compulsive cocaine seeking with low frequency deep brain stimulation of the subthalamic nucleus

Low frequency and STN: two key factors to reverse compulsive cocaine seeking

Mickaël Degoulet², Alix Tiran-Cappello¹, Christelle Baunez¹ and Yann Pelloux^{1†}

TEXT

Addictive individual continue to seek and take drugs of abuse despite obvious negative consequences for their personal, professional and social life.¹ Although significant advances have been made in our understanding of brain mechanisms leading to compulsive drug seeking/taking, there is still no FDA-approved pharmacological treatment for cocaine addiction. Resurgence of surgical techniques such as deep brain stimulation (DBS) for the treatment of neurodegenerative and psychiatric diseases, including Parkinson's disease (PD), obsessive compulsive disorders (OCD) and depression,²⁻⁴ has recently opened new therapeutic perspectives for the treatment of addictive disorders. Although the ideal brain target is still a matter of debate,⁵⁻⁷ the subthalamic nucleus (STN) stands as a solid candidate since its 130 Hz DBS reduces drug-induced addiction-like behaviors.⁸⁻¹⁰ Here we used a rat model of compulsive cocaine seeking^{11,12} in which, after extended cocaine taking history, a subset of rats compulsively seek cocaine despite intermittent punishment by mild electric footshock. We show that the emergence of compulsive cocaine seeking goes with a progressive increase in STN low frequency (<40 Hz, and mostly in the theta band (6-12 Hz) oscillation power. Conversely, when the subset of rats sensitive to shock was re-exposed to extended access and stimulated at very low frequency (8 Hz) in the STN, they became resistant to punishment, demonstrating that very low frequency oscillatory activity in the STN can be a predictive marker of compulsivity. Finally, we also demonstrate that 30 Hz, but not 130 Hz, STN DBS can have a beneficial effect at reducing compulsive cocaine seeking in 'shock-resistant' animals. By evidencing a frequency-dependent bidirectional control of STN DBS on compulsive cocaine seeking, our results outline the critical contribution of the STN to the onset and maintenance of pathological cocaine seeking behaviors and further emphasize the therapeutic potential of STN DBS for the treatment of addiction.

²Institut de Neurosciences de la Timone, UMR7289 CNRS & Aix-Marseille Université, Marseille, France. [†]Present address: Department of Neuroscience and Physiology, Neuroscience Institute, New York University Medical Center, New York, NY 10016, USA.

Whereas the majority of cocaine users quit as they experience the negative consequences of drug use, some lose control over their drug taking and compulsively seek drugs. Identifying possible predictive biomarkers of who might become compulsive drug seeker thus remains a key challenge for both the prevention and the treatment of addiction. Here, we used a rat model of addiction, in which animals had to run the risk of punishment when seeking the opportunity to take drug. This model was previously shown to induce pathological compulsive seeking behaviors in a small sub-population of rats.^{11,12} Animals were first extensively trained in a cocaine seeking-taking chained schedule of reinforcement consisting in 10-daily seeking cycles (2 h-sessions), which completion (see online methods for details) triggered access to the cocaine taking lever. Once acquired, when animals were exposed immediately to the punishment protocol for eight days in which 50% of the cycles ended with the opportunity to take cocaine and the other 50% unpredictably triggered a mild foot shock punishment (0.5 mA, 0.5 sec) with no access to the taking lever. Punishment introduction suppressed cocaine seeking in all animals (Extended data Fig. 1). In contrast, in another group in which animals were previously exposed to a cocaine escalation procedure (6 h-daily access to cocaine for 15 days; Fig. 1a), which induced loss of control over cocaine intake¹³ (Extended data Fig. 2a), the exposure to the punishment protocol revealed that a small subset of animals pursued to seek cocaine despite the punishment (Fig. 1b, c), as previously reported.^{11,12,14,15} The compulsivity score, calculated as the averaged number of completed seeking cycles during the last four punishment sessions, identified ~1/3 of the animals as 'shock-resistant' or 'compulsive' (Extended data Fig. 2b), which completed more than 25% of the 10-daily seeking cycles. Remarkably, 'shock-resistant' and 'shock-sensitive' rats could not be differentiated behaviorally (in terms of cocaine intake during escalation, basal cocaine seeking (number of cycles completed or lever presses on the last baseline session), or *a posteriori* correlation between number of lever presses and compulsivity score; Fig. 1b, c; Extended data Fig. 2a, c, d) before exposure to punishment. In other words, neither level of cocaine consumption nor basal seeking responses for drug could predict animals' compulsivity status. During cocaine seeking sessions, animals were given the opportunity to nosepoke for an unpunished sucrose reward. Importantly, sucrose seeking was not altered during punished cocaine seeking sessions in both 'sensitive' and 'resistant' rats populations (Extended Fig. 1e), indicating that the effect of punishment was specific to the punished seeking response and did not reflect a general suppression of responding.

It is well established that pathological drug consumption induces functional alterations within the prefrontal cortex neurocircuitry in both humans and rodents,^{11,15–17} which normally drives decision-making and reward seeking.¹⁸ However, lesion of the prefrontal cortex does not promote pathological cocaine seeking in rats that had not escalated their cocaine intake.¹⁹ This suggests that impaired prefrontal function is an emergent characteristic consequent to long-term cocaine use. The STN, a part of the basal ganglia, receives specific hyperdirect projections from the prefrontal cortex.²⁰ The STN has recently received much attention in compulsive-like consummatory behaviors, including addiction. Indeed, STN high frequency DBS (~130Hz; a surgical procedure consisting in passing electric current through implanted electrodes into brain subcortical nuclei to modulate dysfunctional neural network) prevents both escalation of cocaine intake and re-escalation of cocaine⁸ or heroin¹⁰ intake, normally observed after protracted abstinence. Furthermore, development of cocaine escalation induces a pathological increase in STN low frequency oscillations, measured with local field potentials (LFPs), thus suggesting a key contribution of the STN to the emergence of loss of control over drug intake.⁸

These observations lead to hypothesize that STN oscillatory activity might be a way to differentiate ‘sensitive’ from ‘compulsive’ rats. To address this issue, we performed LFPs recordings, through DBS electrodes implanted in the STN, during the cocaine escalation protocol (15-min before and after the 6h-cocaine access on days 1, 4, 8, 12 and 15, Fig. 2a) before testing the animals in the punishment task. STN activities were analyzed after the punishment sessions, once the compulsivity status of each recorded rat was characterized (Fig. 2b). Analysis of LFPs power spectrum revealed two distinct patterns of activity during the development of cocaine escalation, depending on animals’ compulsivity status. Indeed, ‘future’ ‘shock-resistant’ animals exhibited a progressive increase in STN low (6-40 Hz), but not high (65-90Hz), frequency oscillation powers during LFPs baseline recordings (*i.e.* before cocaine access), that was not observed in ‘future’ ‘shock-sensitive’ rats (Fig. 2c, Extended data Fig. 3a). Band-specific analysis revealed significant power increases of STN oscillations in alpha/theta (6-13Hz) and low/high beta (14-40Hz), but not in the gamma (65-90Hz), bands during escalation of cocaine intake in shock-resistant rats (Fig. 2d-f). Interestingly, these pathological increases were no longer present after access to the drug (Fig. 2d-f, Extended data Fig. 3b). This effect of cocaine is in line with the ability of dopaminergic agonist treatment to reduce STN pathological oscillations in both PD monkeys and patients.^{21–23} Rather than reflecting an enhanced

craving or a withdrawal state following the daily 18 h-abstinence period experienced by all animals during the escalation protocol, we hypothesized that these pathological low frequency oscillations could serve as a predictive biomarker of compulsivity.

To determine the causal role of increased STN low frequency oscillations on the emergence of compulsive cocaine seeking, we next tested whether it could be possible to transform 'sensitive' animals into 'compulsive' ones by artificially mimicking alpha/theta band activity (that observed in the 'compulsive' animals during cocaine escalation (Fig. 2c, d), but also correlating with compulsive symptom severity in OCD patients²⁴), applying a stimulation at 8 Hz in the STN. After a first cocaine escalation-punishment protocol sequence (Fig. 3a), we identified a subpopulation of shock-sensitive rats (Fig. 3b, Extended data Fig. 4a). They were then stimulated (0 Hz, 8 Hz or 70Hz), through pre-implanted DBS electrodes in the STN, during a second escalation of cocaine intake (escalation 2) before re-exposure to the punishment protocol (punishment 2, Fig. 3a). STN DBS at 8 Hz or 70 Hz had no effect on cocaine intake during escalation 2 (Fig. 3b), confirming that only STN 130 Hz DBS can reduce re-escalation of drug intake,^{8,10} and did not change the rats' dynamic of cocaine consumption observed during escalation 1 (Extended data Fig. 4b). Likewise, there was no change in their basal level of cocaine seeking during baseline 2, compared to baseline 1 in the compulsive seeking task (Extended data Fig. 4 c, d). During punishment 2, in stark contrast to control (0 Hz) and 70Hz-stimulated animals that stopped seeking cocaine under punishment re-exposure, 8Hz-stimulated rats became resistant to punishment (Fig. 3d), as evidenced by the switch in their compulsivity score (Fig. 3e). Of note, as a control, levels of sucrose seeking between both punishment protocols were not altered in any groups (Extended data Fig. 4e). These manipulations did not affect the nociceptive perception of the electric foot shock, since 14 consecutive days of 8 Hz STN stimulation had no effect on animals' nociceptive responses on a hot-plate (Extended data Fig. 5). Thus, by specifically manipulating the STN alpha/theta band during escalation of cocaine, we switched the compulsivity status of shock-sensitive rats towards shock-resistant phenotypes, thereby confirming that pathological increase in STN low frequency oscillations during escalation represents a predictive biomarker of compulsive cocaine seeking trait.

Given its involvement in affecting the trait for compulsive cocaine seeking behavior, STN DBS was thus tested on its ability to affect response to punishment in 'compulsive' animals. Following the initial punishment protocol, the compulsive seeking phenotype was determined for each rat.

Frequency treatment order was counterbalanced between animals. Half of the animals received a 130 Hz-stimulation, while the other half received a 30 Hz-stimulation (*i.e.* ON) in the STN during five punishment sessions. All animals were then exposed to five punishment sessions with no stimulation (*i.e.* OFF) before being tested for another series of five-ON sessions at the other frequency (30 Hz for those that had received the 130 Hz and vice versa). These sessions were followed by five-OFF sessions (Fig. 4a). Although 130 Hz STN stimulation acutely worsened cocaine compulsive seeking of 'compulsive' rats on the first two days of its application (Fig. 4b), it had no global effect on cocaine seeking in both 'shock-sensitive' and 'compulsive' groups (Fig. 4c, d). In contrast, application of the 30 Hz STN stimulation during the punishment protocol progressively decreased pathological cocaine seeking of 'compulsive' animals, without affecting the behavior of 'shock-sensitive' animals (Fig. 4e-g). This effect was transiently reversed during the OFF-period, highlighting the reversibility of the DBS procedure. Interestingly, 30 Hz-STN stimulation did not cause noticeable side effects: it did not promote compensatory pathological sucrose seeking (Extended data Fig 7) and did not affect animals' locomotor activity (Extended data Fig. 8) nor nociceptive responses (Extended data Fig. 9).

We have thus identified a possible predictive biomarker of compulsivity in the STN, which may be of critical importance for the development of new preventive strategies in humans. Indeed, future investigations aiming at detecting cortical correlates of STN abnormal activities, as in PD,²⁵ may help to cautiously detect, in a non-invasive fashion (*e.g.* electroencephalography), vulnerable subjects that might develop pathological drug seeking and therefore addiction. In addition, we also describe a STN DBS therapeutic application for reducing pathological cocaine seeking in 'compulsive' animals, without noticeable side effects. However, our data emphasize the necessity to correctly apply STN DBS to avoid deleterious effects, as previously observed in PD patients²⁶. Indeed, 8 Hz STN DBS can trigger compulsive cocaine seeking in non-compulsive animals or 130 Hz STN DBS acutely increases pathological seeking of compulsive rats, although being beneficial at preventing re-escalation after protracted abstinence, suggesting a beneficial effect to prevent relapse.⁸ Here, we thus uncover a STN DBS bi-directional control over compulsive cocaine seeking (Extended data Fig. 10), which is frequency (8 Hz vs. 30 Hz)- and addiction stage (escalation vs. punished seeking)-dependent. Mechanisms responsible for such opposite effects remain to be elucidated. However, they may involve the reciprocal direct connections between the STN and the prefrontal cortex,^{20,27} since extended cocaine access reduces excitability of prefrontal cortex neurons, especially in 'compulsive' rats.

Interestingly, while optogenetic stimulation of prefrontal cortex neurons reduces compulsive cocaine seeking in shock-resistant rats, their photoinhibition promotes cocaine seeking in shock-sensitive animals.¹¹ Thus, 8 Hz or 30 Hz STN DBS may deleteriously or beneficially modify prefrontal neuron activities through antidromic propagation,²⁸ which would in turn drive controlled or pathological reward seeking behaviors.¹⁸

To date, there is no FDA-approved pharmacological treatment for patients suffering from addictive disorders. Our results evidence the STN critical contribution to the onset and maintenance of compulsive-like behaviors and further demonstrate the therapeutic potential of STN DBS for addiction. Given its efficiency and safety in other pathologies, our present and previous works^{8,9} may shape the framework of a STN DBS-based therapeutic sequence, where specific stimulation frequencies would be applied at precise addiction stages to reduce or reverse addiction criteria in order to normalize pathological seeking and consummatory behaviors toward a more recreational/controlled pattern of use.

METHODS

Animals. Adult Lister Hooded males (~380 g, Charles River, N = 102) were housed in groups of two, in Plexiglas cages and maintained on an inverted 12h light/dark cycle (light onset at 7 pm) with food and water available *ad libitum*, in a temperature- and humidity-controlled environment. All animal care and use conformed to the French regulation (Decree 2010-118) and were approved by local ethic committee and the University of Aix-Marseille (#3129.01).

Electrode design for STN DBS or LFP recordings. The electrodes were made out of Platinum-Iridium wires coated with Teflon (75 μ m). Coating was removed over 0.2 mm at the tips and two wires were inserted into a 16 mm stainless steel tubing to form an electrode. Two electrodes, separated by a distance of 4.8 mm (*i.e.* twice the STN laterality), were soldered to an electric connector, allowing connection with both recording and stimulation devices. Electrodes (impedance = 20 k Ω $\pm$ 2.25) and connector were subsequently deeply bound, using a custom mold and dental cement. Finally, electrodes were tested with an isolated battery to avoid electrical short circuits.

Catheter and stereotaxic surgeries. Rats were implanted with a chronically indwelling intravenous catheter, as previously described.^{8,9} Briefly, rats were anesthetized with ketamine (Imalgen, Merial, 100 mg/kg, s.c.) and medetominine (Domitor, Janssen, 30 mg/kg, s.c.) following a preventive long-

acting antibiotic treatment (amoxicillin, Duphamox LA, Pfizer, 100 mg/kg, s.c.). A homemade silicone catheter (0.012-inch inside diameter, 0.025-inch outside diameter, Plastics-One) was inserted and secured into the right jugular vein. The other extremity of the catheter was placed subcutaneously in the mid-scapular region and connected to a guide cannula secured with dental cement. Animals were then placed in a stereotaxic frame (David Kopf apparatus) and maintained under ketamine/medetomidine anesthesia. Electrodes were inserted bilaterally in the STN (in mm:²⁹ -3.7 AP, $\pm$ 2.4 L from Bregma, -8.35 DV from skull surface, with the incisor bar at -3.3 mm). Four anchoring screws (the one on the right frontal lobe designated as the electric reference allowing LFP recordings in some animals) were fixed into the skull. Electrodes, screws and skull were deeply bonded with dental cement. After surgery, rats were awakened with an injection of atipamezol (Antisedan, Janssen, 0.15 mg/kg *i.m.*) and allowed to recover for at least 7 days with *ad libitum* access to food and water. The catheters were daily flushed during the recovery period and just before and after each self-administration session with a saline solution containing heparin (Sanofi, 3 g/l) and enrofloxacin (Baytril, Bayer, 8g/L) to maintain their patency and to reduce infection. Catheters were also regularly tested with propofol (Propovet, Abbott, 10 mg/ml) to confirm their patency.

Behavioral apparatus.

Self-administration apparatus: behavioral experiments were performed during the dark phase and took place in standard rat operant chambers (MedAssociates), located in sound-attenuating cubicles, equipped with a house light, two retractable levers, which flanked a sucrose magazine, set 7 cm above the metallic grid floor through which an electric foot shock could be delivered via a generator (MedAssociates). A cue light was positioned 8 cm above each lever. For each rat, one lever was randomly paired with cocaine infusion (taking-lever) while the other one was designated as the seeking-lever. For intravenous drug administration, the stainless steel guide cannula of the catheter was connected through steel-protected silicone tubing to a swivel (Plastics One) and then an infusion pump (MedAssociates). Data were acquired on a PC running MED-PC IV (MedAssociates). Sessions lasted for 2 h or 6 h (see below for detailed procedures).

Locomotor activity apparatus: Locomotor activity was measured as the distance traveled (in meters) in a circular home-made Perspex open field (60 cm diameter). A video tracking system was placed above the open field. Data were acquired by the software Bonsai (Open Ephys), recorded on a PC computer and analyzed offline with Matlabs.

Hot plate apparatus: Animals were placed on a hot plate analgesia meter (Harvard apparatus) maintained at 52.0 ± 0.5 °C. Animal's behavior was recorded by a video tracking system. Data were acquired by the software Bonsai (Open Ephys). Latency to react (*i.e.*, paw licking, rapid movement, escape) was quantified offline by an experimenter blind to the DBS treatment.

Acquisition of cocaine self-administration under the seek-take task schedule. At least one week after surgery, rats began cocaine self-administration training using the seek-take chain schedule, adapted from the previously described procedure.¹² Self-administration training was divided into four distinct phases: acquisition of the taking response; training on the seek-take chain; extended self-administration and punishment.

Acquisition of the taking response. In this initial phase, each trial started with the illumination of the house light and the insertion of the taking-lever. One press on the lever, under a fixed ratio (FR-1), resulted in the delivery of a single infusion of cocaine (0.25 mg.kg^{-1} over 5 s, Coopérative pharmaceutique française). Cocaine infusions were paired with illumination of the cue light (5 s) above the taking lever, retraction of the taking-lever and extinction of the house light. Following a 20 s time out-period, another trial was initiated with the insertion of the taking-lever. Training of the taking response continued, typically for six to eight sessions, until animals reached a stable level of cocaine intake (< 20% changes across 3 consecutive sessions), after which they advanced to the seek-take chain schedule.

Training on the seek-take chain. Each cycle started with the illumination of the house light, insertion of the seeking-lever and retraction of the taking-lever. A single press on the seeking-lever resulted in the retraction of the seeking-lever and the insertion of the taking-lever, which activation then triggered cocaine delivery, illumination of the associated cue-light and retraction of the taking-lever and extinction of the house light. Following a 20 s time-out refractory period, another cycle was initiated with the insertion of the seeking-lever.

Once animals reached a stable level (< 20% variation in number of cycle completed across 3 consecutive sessions), a random interval (RI) schedule was introduced into the seeking-link of the chain schedule. Here, the first seeking-lever press initiated a RI schedule of 2 s, which progressively increased to 15, 30, 60 and 120 s during training. Seeking-lever presses within the RI had no programmed consequences. The first seeking-lever press following the end of the RI lead to the retraction of the seeking-lever and the insertion of the taking-lever, which press triggered the cocaine

delivery, paired with the illumination of the associated cue-light as during the training of the taking response, thereby ending the seek-take cycle. Each cycle was followed by a 2 min time-out (TO) period, where both levers were retracted, which progressively increases to 4 and 10 min throughout training, before initiation of the next seek-take cycle. Training on each RI-TO schedule persisted until animals displayed less than 20% variation in the numbers of cycle completed. Once an animal achieved stable cocaine seeking behavior at a RI-TO schedule, usually 5-7 days, it was advanced to the next RI-TO schedule.

During these sessions, rats were also trained to nose poke into the sucrose magazine to obtain 0.04 ml of a 20% sucrose solution, which was delivered under a RI schedule, which parameter was progressively increased to 60 s. Sucrose seeking-taking behavior occurred concurrently with cocaine seek-take behavior, thereby allowing us to specifically investigating 'natural' reward seeking.

At the end of the seek-take training, animals were allowed to complete up to 10 cocaine cycles and 120 sucrose deliveries in each 2 h session of the RI120-TO10 schedule.

Extended cocaine self-administration. After reaching the RI120-TO10 schedule criteria of the seek-take task, all animals (except those Extended data Figs. 1 and 6, which underwent punishment protocol right after completed RI120-TO10 schedule), were submitted to escalation protocol, in which they were allowed to self-administer cocaine over 6 h for 15 consecutive days to loss control over their cocaine intake,¹³ a cardinal criteria of human drug addiction.¹ Here, sessions started with the illumination of the house light and the insertion of the taking-lever. As in the training phase, each press on this lever triggered cocaine delivery and the illumination of the associated cue-light, followed by a 20 s TO. Sucrose seeking was unavailable during extended cocaine self-administration sessions. After 15 days, animals were re-subjected to the seek-take RI120-TO10 schedule, as described above, during five days to establish post-escalation cocaine seek-take baseline.

Punishment. After RI120-TO10 baseline, animals were subjected to 8 daily sessions under the resistance to punishment paradigm,¹² which mimics persistence of drug seeking-taking behavior despite negative consequences, a cardinal behavior observed in human addicts.¹ Here, half of the completed RI120-TO10 cycles resulted in randomly (50%) mild foot shock delivery (0.5 mA, 0.5 s) to the animals' paws: punishment was administered following the first press on the seeking-lever after the RI120 schedule, with no access to the taking lever. The other half of the RI120-TO10 completed cycles triggered the insertion of the taking lever, which press initiated cocaine delivery and illumination

of the associated cue-light. Thus, animals randomly received up to five foot-shocks and five cocaine infusions. Compulsivity score was defined as the average number of completed cycles (foot-shocks + cocaine delivery) during the last four sessions of the punishment paradigm. Animals with a compulsivity score > 2.5 (*i.e.*, completed more than 25% of the **10-daily seeking cycles** during the last four sessions of the punishment paradigm) were classified as 'compulsive' or 'shock-resistant'.

Spontaneous- and cocaine-induced locomotor activity measurement. Treatment order (saline-OFF, cocaine-OFF, saline-ON, cocaine-ON) was counterbalanced between animals with a seven-day period between each treatment. Animals were first placed in the open field and connected to the stimulation for a 60 min period of habituation. They were then injected with either saline (0.9% NaCl, 1 ml/kg) or a low dose of cocaine (5 mg/kg, *s.c.*) and their locomotor activity was recorded for 60 h with DBS ON or OFF.

Hot plate analgesia measurement. Basal nociceptive response was determined before the first STN DBS session. In Extended data Fig. 5, animals were subjected to 6 h-STN DBS (8 Hz) for 14 consecutive days accordingly with the procedure used to test the effects of this frequency applied during the escalation procedure and their nociceptive responses were tested before sessions 2, 5, 10 and after sessions 1 and 14. In Extended data Fig. 9, animals were subjected to 2 h-STN DBS (0, 30 or 130 Hz) for 5 consecutive days accordingly with the procedure used to test the effects of these frequencies on the compulsivity measures and their nociceptive responses were tested after sessions 1 and 5.

Recording and analysis of STN LFP activity. LFP recordings were performed in similar operant chambers as above with no access to cocaine. They were further equipped with wires connected to the acquisition setup. Animals were connected to the interface and placed in the chamber where they could freely move. STN electric activity was recorded 15-min before and after extended cocaine access on days 1, 4, 8, 12 and 15 of the escalation protocol.

Signals were amplified and filtered using a Neuralinx8 amplifier. Data were acquired using Sciworks software (Datawave Tech, USA) with a sampling rate of 1kHz in the range of 1- 475Hz. Signals were filtered off-line with a Chebyshev low pass filter (corner 98Hz, order 10, ripple 0.5) and a notch filter were applied, to remove 50Hz noise created by surrounding electrical devices, using Spike2 software (CED). Data were then carefully examined to ensure removal of electrical noise and ultimately treated using Matlab (Mathworks) software. As such, the analysis was limited to the

following frequency bands: 4-40 Hz and 65-90 Hz. The specific activity of the STN (*i.e.* difference of potential between the two wires within the same STN) was then calculated.

Deep brain stimulation. DBS was delivered to the STN by a digital stimulator (DS8000, WPI) via a stimulus isolator (DLS100, WPI) and a rotating commutator (Plastics-One) wired to the implanted electrodes. Stimulation parameters were adapted from previous studies.^{8,9} Briefly, individual stimulation intensity parameters was determine using 130 Hz frequency and 80 μ s pulse width stimulation. Intensity was progressively increased until the appearance of hyperkinetic movements. Stimulation intensity (50-150 μ A) was setup just below the hyperkinetic movement threshold.

Before each behavioral session, animals were connected to the stimulation device, STN DBS was turned ON and stimulation intensity was progressively increased to reach the pre-determined stimulation parameters prior the start of the session. Depending on the condition tested, 8, 30 or 130 Hz were applied during 1, 2 or 6 h.

Histology. At the end of the experiment, the rats were euthanized with an *i.p.* injection of pentobarbital (Dolethal). Brains were removed and frozen into liquid isopentane (-80°C) to be further cut in 40 μ m thick frontal slices with a cryostat. Histological controls for location of the electrodes were performed after staining with cresyl violet by an observer blind to treatment group (Extended data Figs. 3c, 4f, 5b, 6b, 7c, 8c, 9b). Animals with incorrect electrode placement were excluded from final statistical analysis

Statistical analyses:

No statistical methods were used to predetermine sample size, but our samples are comparable to those reported in previous studies.^{8,9,12} Group assignment was pseudo-randomized for most experiments, as rats were assigned to experimental group in a counterbalanced fashion based on their initial basal cocaine seeking levels. Treatment assignment was randomized between experimental groups. Data are expressed as mean $\pm$ s.e.m. with the exact sample size indicated for each group in figure legends. Using Prism 6.0 (GraphPad) and Matlab (Mathworks) softwares, data were analyzed with Kolmogorov-Smirnov test for population distribution, two-tailed *t* test, one- or two-way repeated measures ANOVAs, followed by Bonferroni *post hoc* test when applicable. Only *P*-values < 0.05 were considered significant. Power analysis was further performed with the G*Power software to confirm that our sample sizes were sufficient to detect reliable changes for critical experiments (power $\geq$ 80% at a level of confidence $p < 0.05$; values are reported in the statistical table).

REFERENCES

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Edition. in *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Edition* (American Psychiatric Publishing, Inc, 2013).
2. Limousin, P. *et al.* Effect of parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation. *Lancet Lond. Engl.* **345**, 91–95 (1995).
3. Mallet, L. *et al.* Subthalamic nucleus stimulation in severe obsessive-compulsive disorder. *N. Engl. J. Med.* **359**, 2121–2134 (2008).
4. Mayberg, H. S. *et al.* Deep brain stimulation for treatment-resistant depression. *Neuron* **45**, 651–660 (2005).
5. Luigjes, J. *et al.* Deep brain stimulation in addiction: a review of potential brain targets. *Mol. Psychiatry* **17**, 572–583 (2012).
6. Pelloux, Y. & Baunez, C. Deep brain stimulation for addiction: why the subthalamic nucleus should be favored. *Curr. Opin. Neurobiol.* **23**, 713–720 (2013).
7. Salling, M. C. & Martinez, D. Brain Stimulation in Addiction. *Neuropsychopharmacology* **41**, 2798–2809 (2016).
8. Pelloux, Y. *et al.* Subthalamic nucleus high frequency stimulation prevents and reverses escalated cocaine use. *Mol. Psychiatry* (2018). doi:10.1038/s41380-018-0080-y
9. Rouaud, T. *et al.* Reducing the desire for cocaine with subthalamic nucleus deep brain stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 1196–1200 (2010).
10. Wade, C. L. *et al.* High-Frequency Stimulation of the Subthalamic Nucleus Blocks Compulsive-Like Re-Escalation of Heroin Taking in Rats. *Neuropsychopharmacology* (2016). doi:10.1038/npp.2016.270
11. Chen, B. T. *et al.* Rescuing cocaine-induced prefrontal cortex hypoactivity prevents compulsive cocaine seeking. *Nature* **496**, 359–362 (2013).
12. Pelloux, Y., Everitt, B. J. & Dickinson, A. Compulsive drug seeking by rats under punishment: effects of drug taking history. *Psychopharmacology (Berl.)* **194**, 127–137 (2007).
13. Ahmed, S. H. & Koob, G. F. Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* **282**, 298–300 (1998).
14. Deroche-Gamonet, V., Belin, D. & Piazza, P. V. Evidence for addiction-like behavior in the rat.

- Science* **305**, 1014–1017 (2004).
15. Kasanetz, F. *et al.* Prefrontal synaptic markers of cocaine addiction-like behavior in rats. *Mol. Psychiatry* **18**, 729–737 (2013).
 16. Jentsch, J. D. & Taylor, J. R. Impulsivity resulting from frontostriatal dysfunction in drug abuse: implications for the control of behavior by reward-related stimuli. *Psychopharmacology (Berl.)* **146**, 373–390 (1999).
 17. Goldstein, R. Z. & Volkow, N. D. Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications. *Nat. Rev. Neurosci.* **12**, 652–669 (2011).
 18. Otis, J. M. *et al.* Prefrontal cortex output circuits guide reward seeking through divergent cue encoding. *Nature* **543**, 103–107 (2017).
 19. Pelloux, Y., Murray, J. E. & Everitt, B. J. Differential roles of the prefrontal cortical subregions and basolateral amygdala in compulsive cocaine seeking and relapse after voluntary abstinence in rats. *Eur. J. Neurosci.* **38**, 3018–3026 (2013).
 20. Kita, T. & Kita, H. The subthalamic nucleus is one of multiple innervation sites for long-range corticofugal axons: a single-axon tracing study in the rat. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **32**, 5990–5999 (2012).
 21. Priori, A. *et al.* Rhythm-specific pharmacological modulation of subthalamic activity in Parkinson's disease. *Exp. Neurol.* **189**, 369–379 (2004).
 22. Brown, P. *et al.* Dopamine dependency of oscillations between subthalamic nucleus and pallidum in Parkinson's disease. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **21**, 1033–1038 (2001).
 23. Tachibana, Y., Iwamuro, H., Kita, H., Takada, M. & Nambu, A. Subthalamo-pallidal interactions underlying parkinsonian neuronal oscillations in the primate basal ganglia. *Eur. J. Neurosci.* **34**, 1470–1484 (2011).
 24. Welter, M.-L. *et al.* Basal ganglia dysfunction in OCD: subthalamic neuronal activity correlates with symptoms severity and predicts high-frequency stimulation efficacy. *Transl. Psychiatry* **1**, e5 (2011).
 25. de Hemptinne, C. *et al.* Exaggerated phase-amplitude coupling in the primary motor cortex in Parkinson disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **110**, 4780–4785 (2013).
 26. Timmermann, L. *et al.* Ten-Hertz stimulation of subthalamic nucleus deteriorates motor symptoms in Parkinson's disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* **19**, 1328–1333 (2004).

27. Degos, B., Deniau, J.-M., Le Cam, J., Mailly, P. & Maurice, N. Evidence for a direct subthalamo-cortical loop circuit in the rat. *Eur. J. Neurosci.* **27**, 2599–2610 (2008).
28. Li, Q. *et al.* Therapeutic deep brain stimulation in Parkinsonian rats directly influences motor cortex. *Neuron* **76**, 1030–1041 (2012).
29. Paxinos, G. & Watson, C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. (Elsevier, 2007).

END NOTES

Supplementary information is available on the online version of the paper.

Acknowledgements: Eranet NEURON, CNRS, AMU, FRM

Author contributions: M.D., C.B. and Y.P. designed and planned all experiments; M.D., A.T.C. and Y.P. performed experiments and analyzed data; M.D., C.B. and Y.P. wrote the paper. C.B. obtained the fundings.

Author information: Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

The authors declare no conflict of interest. Correspondence and request for materials should be sent to C.B. christelle.baunez@univ-amu.fr

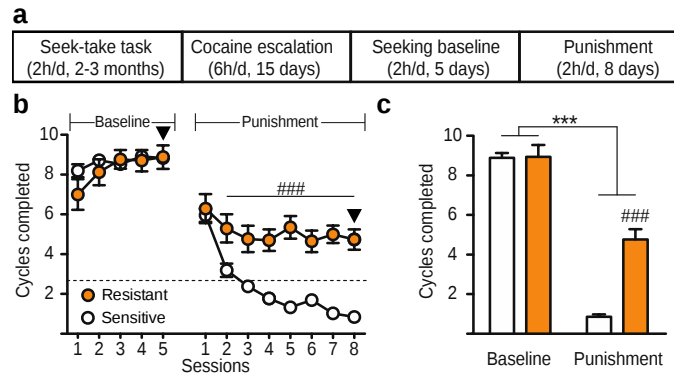


Figure 1. Extended cocaine self-administration promotes compulsive cocaine seeking in a subpopulation of rats. **a**, Experimental time course. Following extensive training on the seek-take task, animals were subjected to cocaine escalation protocol (Extended data Fig. 2a). After five days of baseline cocaine seeking, animals were then exposed to eight punishment sessions, during which foot shock (with no access to cocaine) was randomly delivered in 50% of the trials. Dashed line indicates compulsivity threshold below which animals are considered shock-sensitive (see methods). **b**, Punishment reduced the number of seeking cycles completed in all animals (punishment effect: $F_{(12,612)} = 117.2$, $P < 0.0001$). While both groups displayed equivalent level of cocaine seeking during baseline (group effect: $F_{(1,204)} = 0.559$, *n.s.*), shock-resistant rats (i.e. ‘compulsive’, $n = 17$) completed more seeking cycles than shock-sensitive rats ($n = 36$; punishment x group: $F_{(7,357)} = 7.927$, $P < 0.0001$; Bonferroni post hoc: $^{###}P < 0.001$ resistant vs. sensitive) during punishment. **c**, Number of seeking cycles completed during the last day of baseline and last day of punishment (arrowheads in **b**; session x group: $F_{(1,51)} = 35.63$, $P < 0.0001$; Bonferroni post hoc: $^{***}P < 0.001$ baseline vs. punishment, $^{###}P < 0.001$ resistant vs. sensitive). Line and bar graphs indicate mean $\pm$ s.e.m.

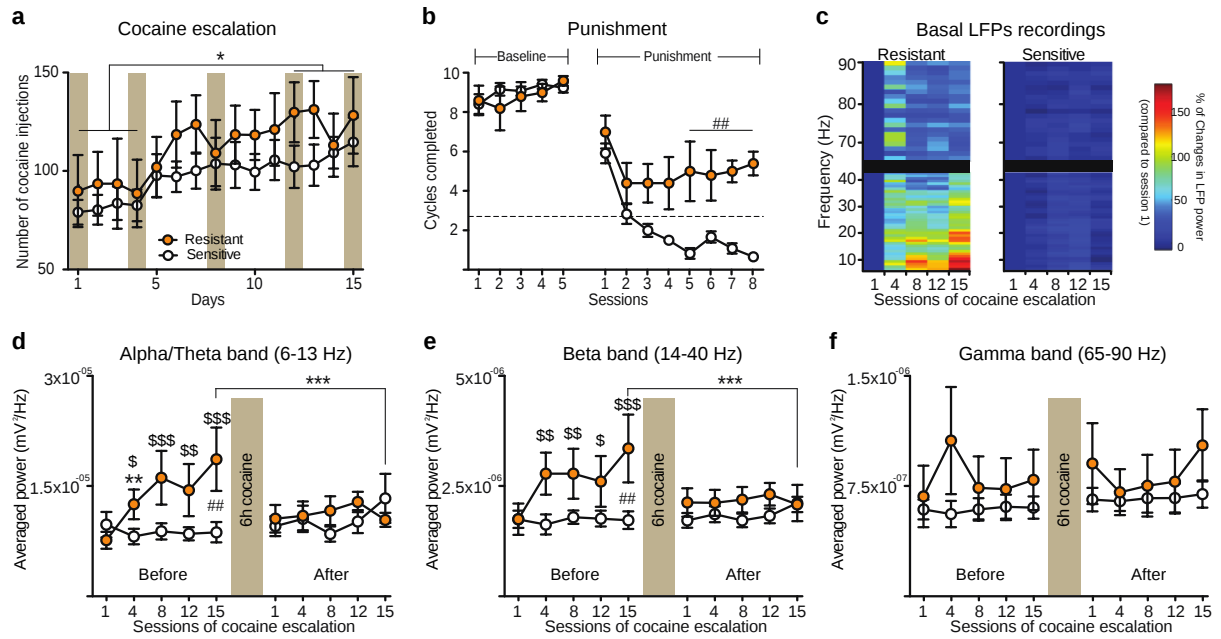


Figure 2. Compulsive rats exhibit pathological STN low frequency oscillations during cocaine escalation. **a**, Extended cocaine access (6 h/d, 15 d) induced similar cocaine escalation in ‘future’ shock-sensitive ($n = 12$) and -resistant (i.e. ‘compulsive’, $n = 5$) rats (session effect: $F_{(14,210)} = 6.675$, $P < 0.0001$; group effect: $F_{(1,210)} = 0.813$, $n.s.$; Bonferroni post hoc: $**P < 0.01$). Brown rectangles indicate LFPs recording sessions. **b**, Punishment reduced the number of seeking cycles completed in all animals (session effect: $F_{(12,168)} = 76.12$, $P < 0.0001$). While both groups displayed equivalent level of cocaine seeking during baseline (group effect: $F_{(1,60)} = 0.204$, $n.s.$), shock-resistant rats completed more seeking cycles than shock-sensitive rats (punishment $\times$ group: $F_{(7,105)} = 3.947$, $P = 0.0007$; Bonferroni post hoc: $^{***}P < 0.01$ resistant vs. sensitive) during punishment. Dashed line indicates compulsivity threshold below which animals are considered shock-sensitive. **c**, Session-frequency power spectrum showing basal (i.e. before cocaine) LFPs power changes normalized (in %) to session 1 in shock-resistant (left) and shock-sensitive (right) animals. **d-f**, Quantifications of LFPs power before and after cocaine consumption (6 h). During baseline recordings, shock-resistant rats showed a progressive power increase in alpha/theta (**d**, session effect: $F_{(4,60)} = 5.481$, $P = 0.0008$) and beta (**e**, session effect: $F_{(4,60)} = 4.119$, $P = 0.0051$; $^{\$}P < 0.05$, $^{\$\$}P < 0.01$, $^{$$$}P < 0.001$ vs. session 1; $^{**}P < 0.01$ vs. session 15), but not in gamma band (**f**, session effect: $F_{(4,60)} = 0.909$, $n.s.$), which was not observed in shock-sensitive animals (group effect: **d**, $F_{(1,60)} = 5.454$, $P = 0.034$; **e**, $F_{(1,60)} = 6.035$, $P = 0.027$; Bonferroni post hoc: $^{***}P < 0.01$ resistant vs. sensitive). Cocaine consumption reduces increased power on session 15 in both alpha/theta and beta bands (session $\times$ group effect: **d**, $F_{(9,135)} = 4.059$, $P =$

0.0001; **e**, $F_{(9,135)} = 3.514$, $P = 0.0001$; Bonferroni post hoc: $***P < 0.001$) but has no effect in the gamma band (session x group effect: $F_{(9,135)} = 1.393$, *n.s.*). Line graphs indicate mean $\pm$ s.e.m.

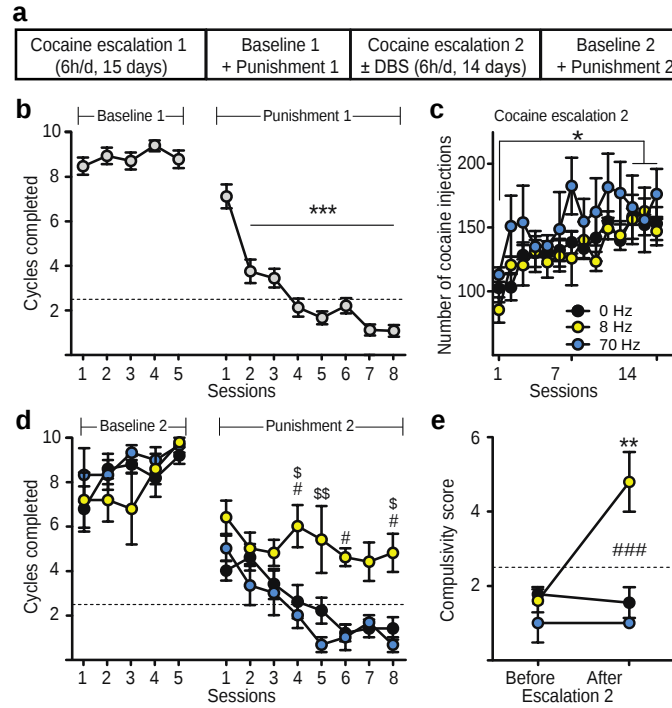


Figure 3. STN very low frequency DBS triggers cocaine compulsive seeking in shock-sensitive rats. **a**, Experimental time course. Following cocaine escalation and punishment protocols and characterization of the compulsive status of the animals, shock-sensitive rats were subjected to a second escalation procedure during which some of the animals received STN DBS at 8 Hz ($n = 5$) or at 70 Hz ($n = 3$), while the others remained OFF stimulation ($n = 5$). They were then all tested a second time in the punishment paradigm. **b**, Shock delivery during punishment 1 abolished cocaine seeking in all shock-sensitive rats ($n = 13$, $F_{(12,144)} = 150.7$ $P < 0.0001$; Bonferroni post hoc: $***P < 0.001$, baseline vs. punishment). **c**, STN DBS (black dots: 0 Hz, $n = 5$; yellow dots: 8 Hz, $n = 5$; blue dots: 70 Hz, $n = 3$) during cocaine escalation 2 did not alter escalation of cocaine intake (session effect: $F_{(13,130)} = 5.936$, $P < 0.0001$; group effect: $F_{(2,130)} = 2.099$, $n.s.$; Bonferroni post hoc: $*P < 0.05$). **d**, Punishment 2 reduced the number of seeking cycles completed in all groups (punishment effect: $F_{(12,120)} = 40.94$, $P < 0.0001$). While all groups displayed equivalent level of cocaine seeking during baseline 2 (group effect: $F_{(2,40)} = 0.529$, $n.s.$), 8 Hz-stimulated rats (yellow dots) completed more seeking cycles than 0 Hz- (black dots) and 70Hz-stimulated rats (blue dots) (punishment effect: $F_{(7,70)} = 9.108$, $P < 0.0001$; group effect: $F_{(2,70)} = 10.48$, $P = 0.0035$; Bonferroni post hoc: $^{\#}P < 0.05$, 8 Hz vs. 0 Hz; $^{\$}P < 0.05$, $^{\$\$}P < 0.01$, 8 Hz vs. 70 Hz) during punishment 2. **e**, Compulsivity score before and after cocaine escalation 2 (before/after $\times$ group effect: $F_{(2,10)} = 7.705$, $P = 0.0094$; Bonferroni post hoc:

****** $P < 0.001$, after vs. before, **###** $P < 0.001$, 8 Hz vs. 0 / 70 Hz). Dashed lines indicate compulsivity threshold below which animals are considered shock-sensitive. Line graphs indicate mean $\pm$ s.e.m.

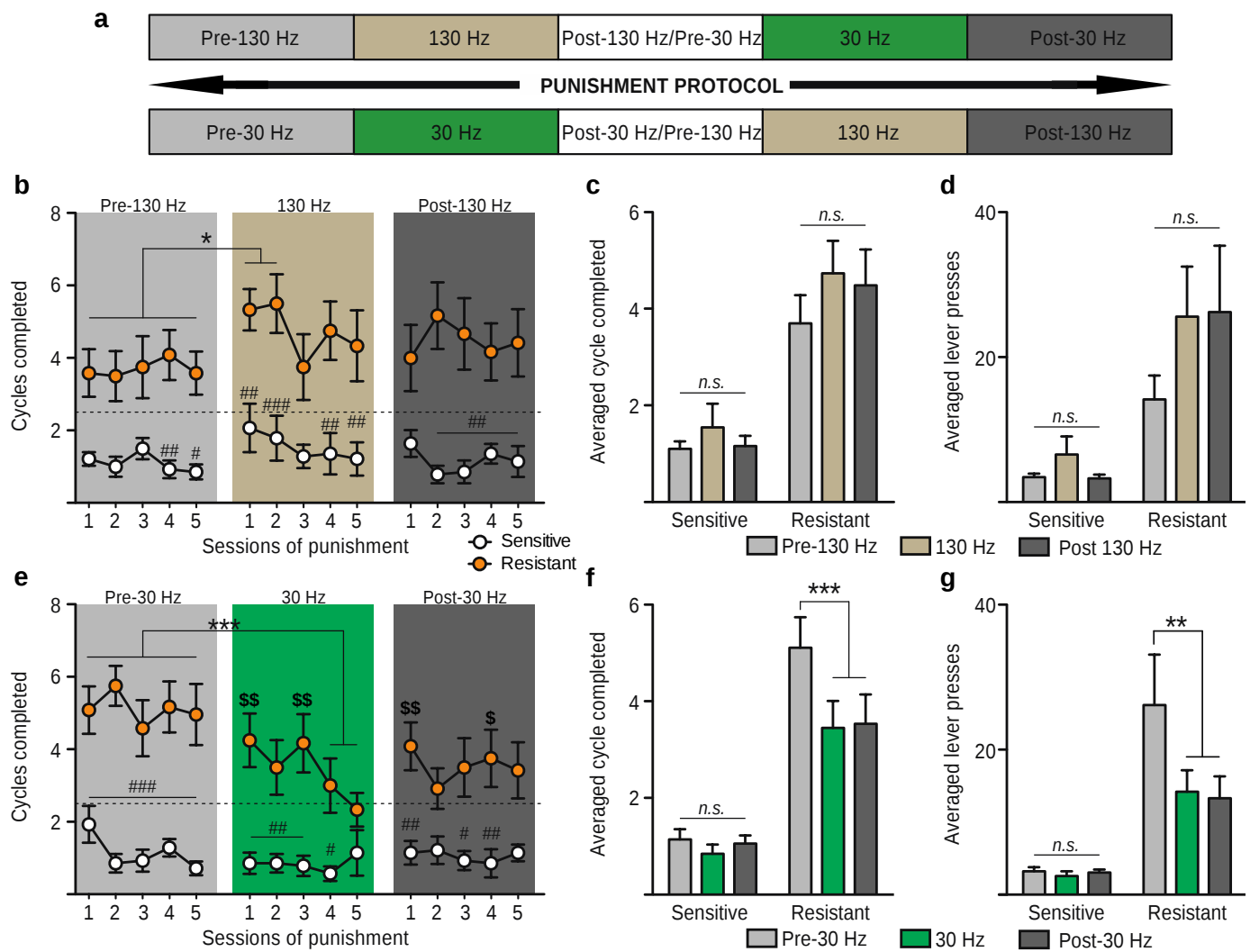
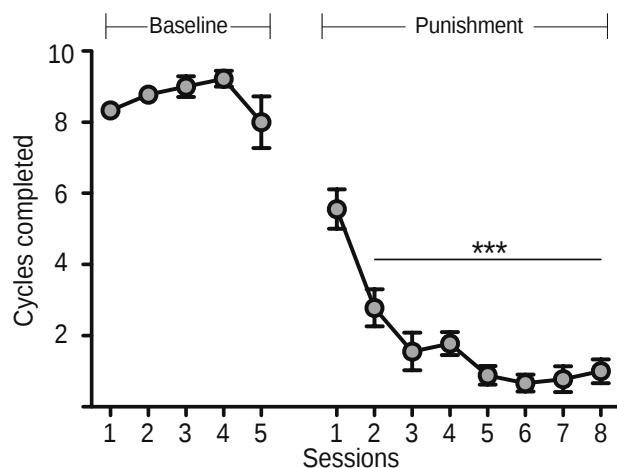


Figure 4. STN low frequency DBS reduces compulsive cocaine seeking during punishment. a, Experimental time course. Top: After five days of seeking under punishment and characterization of their compulsive status, animals were subjected to five days of 130 Hz STN DBS followed by 5 days with no DBS (Post-130 Hz/Pre-30 Hz). Animals were then stimulated for five sessions with 30 Hz DBS followed by 5 days with no DBS (Post-30 Hz). Bottom: Treatment order was counterbalanced for ~half of the rats. **b,** 130 Hz STN DBS acutely increased the number of seeking cycles completed by shock-resistant rats (orange dots; $n = 12$, DBS effect: $F_{(14,336)} = 1.764$, $P = 0.0427$), but had no effect in shock-sensitive animals (white dots; $n = 14$, group effect, $F_{(1,336)} = 26.01$, $P < 0.0001$; DBS x group effect: $F_{(14,336)} = 0.911$, $n.s.$; Bonferroni post hoc: * $P < 0.05$; # $P < 0.05$, ### $P < 0.01$, #### $P < 0.001$, resistant vs. sensitive). **c,** Averaged number of cycle completed by shock-sensitive (left) and -resistant (right) rats before (pale grey), during (brown) and after (dark grey) 130 Hz STN DBS (DBS effect: $F_{(14,336)} = 1.764$, $P = 0.0427$; group effect: $F_{(1,336)} = 26.01$, $P < 0.0001$; DBS x group effect: $F_{(14,336)} = 0.911$, $n.s.$). **d,**

Averaged number of lever presses by shock-sensitive (left) and resistant (right) rats before (pale grey), during (brown) and after (dark grey) 130 Hz STN DBS (DBS effect: $F_{(2,48)} = 1.716$, *n.s.*; group effect: $F_{(1,48)} = 15.48$, $P = 0.0006$; DBS x group effect: $F_{(2,48)} = 1.118$, *n.s.*). **e**, 30 Hz STN DBS reduced the number of seeking cycles completed by shock-resistant rats (DBS effect: $F_{(14,336)} = 3.494$, $P < 0.0001$), but had no effect in shock-sensitive animals (group effect, $F_{(1,336)} = 33.67$, $P < 0.0001$; DBS x group effect: $F_{(14,336)} = 2.848$, $P = 0.0005$; Bonferroni post hoc: $***P < 0.001$; $^{\$}P < 0.05$, $^{\$\$}P < 0.01$ vs. last session of 30 Hz DBS; $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$, $^{###}P < 0.001$, resistant vs. sensitive). **f**, Averaged number of cycle completed by shock-sensitive (left) and -resistant (right) rats before (pale grey), during (green) and after (dark grey) 30 Hz STN DBS (group effect: $F_{(1,48)} = 33.67$, $P < 0.0001$; DBS effect: $F_{(2,48)} = 9.416$, $P = 0.0004$; DBS x group effect: $F_{(2,48)} = 5.75$, $P = 0.0058$; Bonferroni post hoc: $**P < 0.01$). **g**, Averaged number of lever presses by shock-sensitive (left) and -resistant (right) rats before (pale grey), during (green) and after (dark grey) 30 Hz STN DBS (group effect: $F_{(1,48)} = 19.1$, $P = 0.0002$; DBS effect: $F_{(2,48)} = 4.996$, $P = 0.0107$; DBS x group effect: $F_{(2,48)} = 4.415$, $P = 0.0174$; Bonferroni post hoc: $**P < 0.01$). Dashed lines indicate compulsivity threshold below which animals are considered shock-sensitive. Line and bar graphs indicate mean $\pm$ s.e.m.

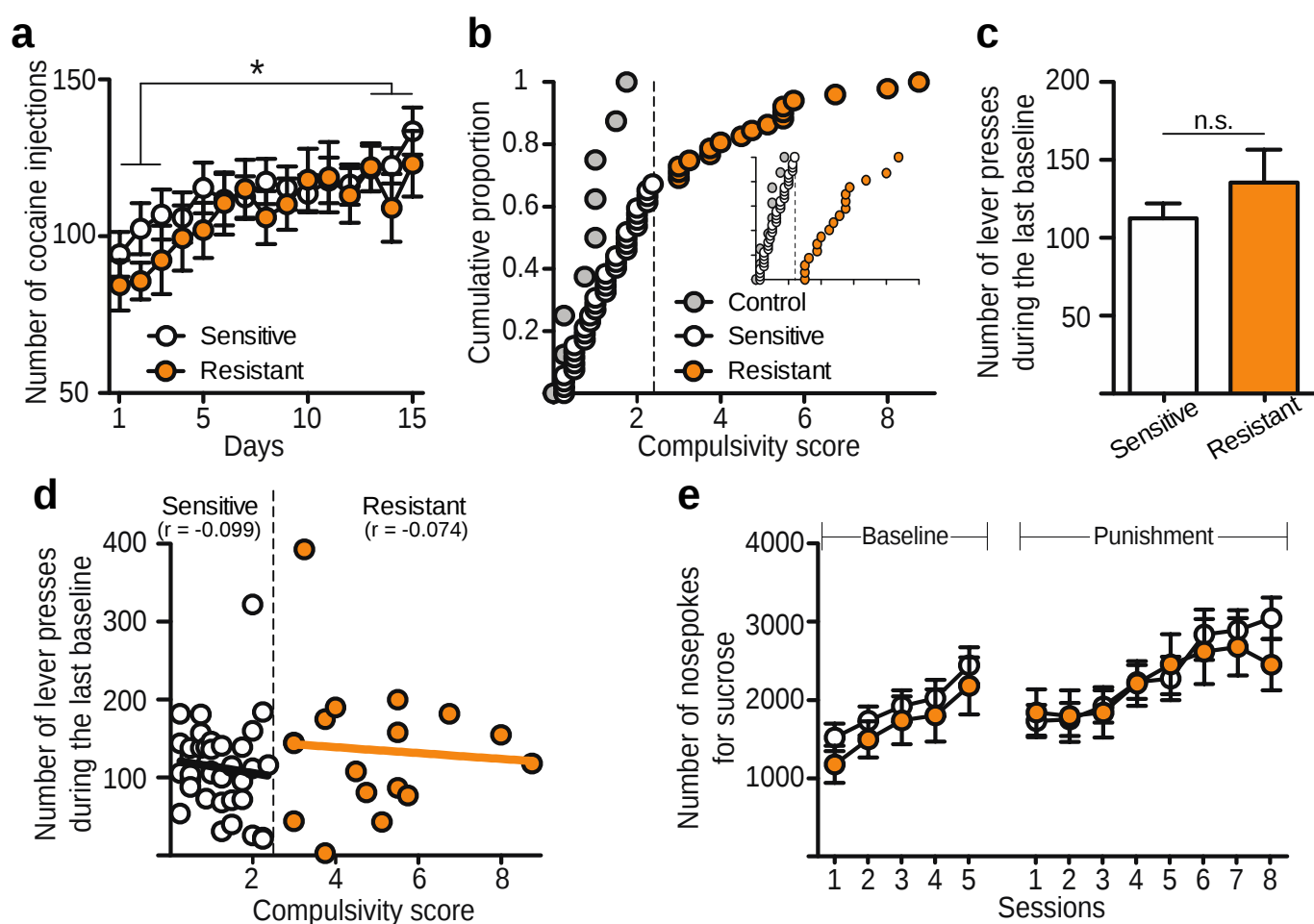
EXTENDED DATA FIGURES



Extended data

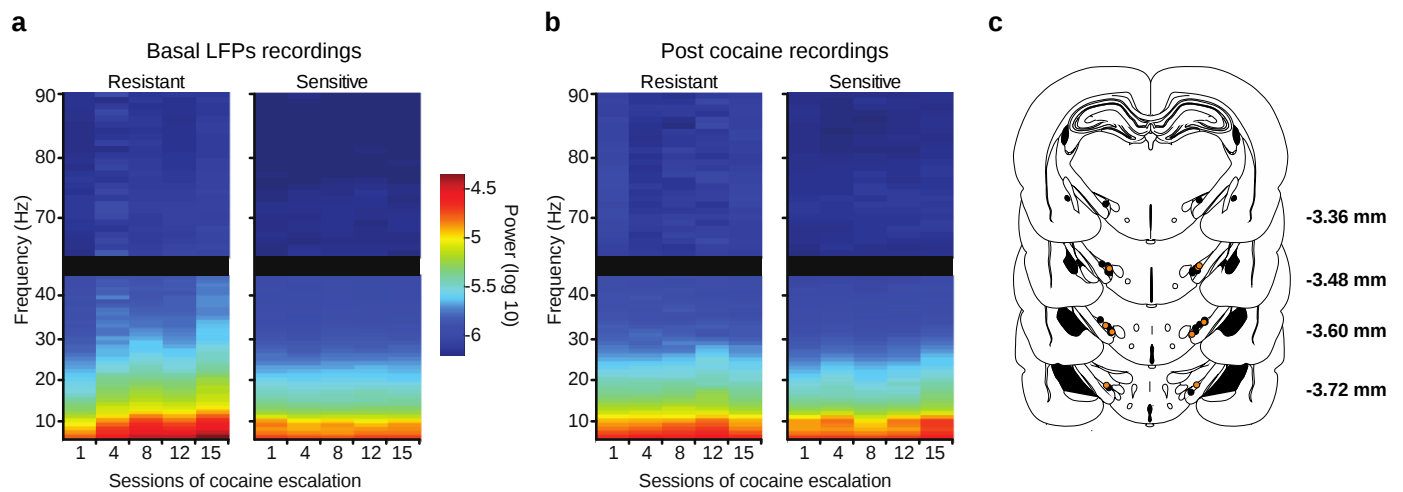
Figure 1.

Intermittent punishment abolishes cocaine seeking in control rats. In animals only trained on the seek-take procedure (2h/d, $n = 9$), foot-shock delivery during the punishment sessions completely suppressed cocaine seeking ($F_{(12,116)} = 90.66$, $P < 0.0001$; Bonferroni post hoc: $***P < 0.001$ baseline vs. punishment). Lines indicate mean $\pm$ s.e.m.

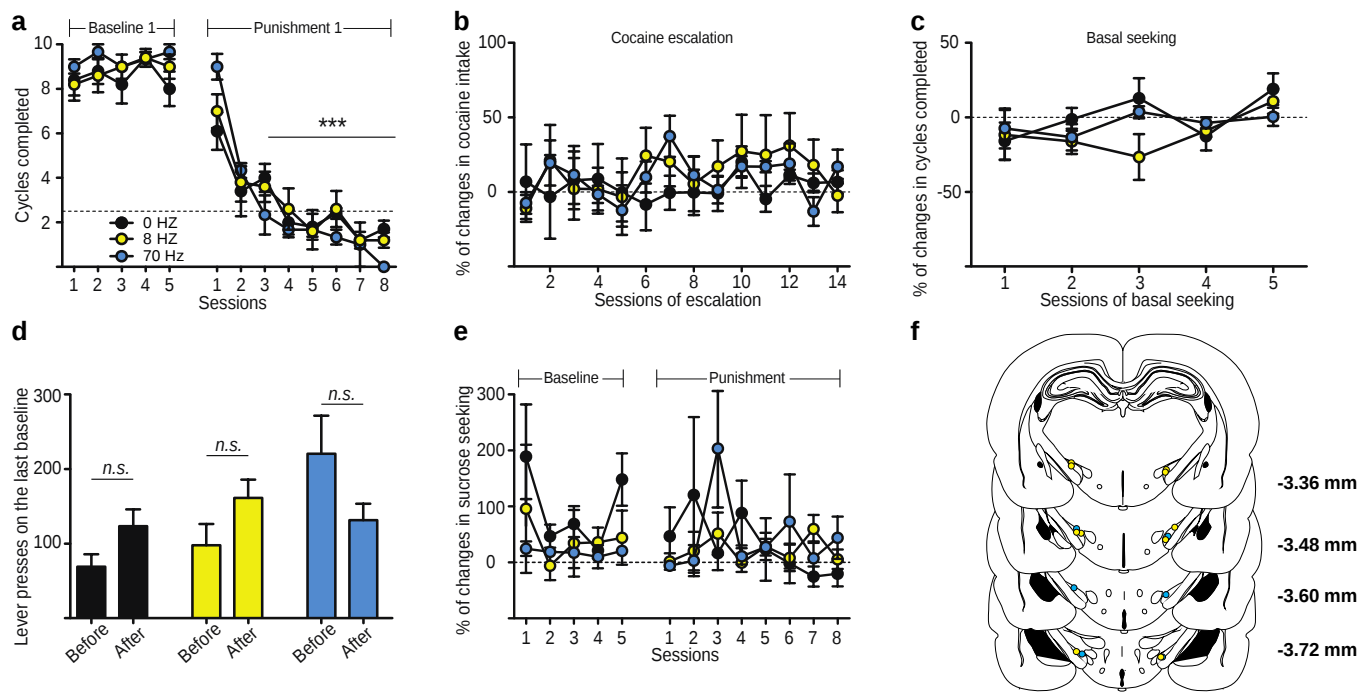


Extended data Figure 2. Shock-sensitive and -resistant rats display comparable seeking and taking behaviors before exposure to the punishment. **a**, During the escalation protocol (6h/d, 15d), shock-sensitive (white dots; $n = 36$) and -resistant (orange dots; $n = 17$) rats escalated their cocaine intake in a similar manner (session effect: $F_{(14,714)} = 6.71$, $P < 0.0001$; group effect: $F_{(1,714)} = 0.448$, $n.s.$; Bonferroni post hoc: $*P < 0.05$). **b**, Cumulative proportion of the populations showed that compulsivity score (*i.e.* mean number of cycle completed during the last four sessions of punishment, dashed line) of the shock-resistant animals differed from both the control (*i.e.* not previously exposed to cocaine escalation, see Extended data Figure 1, grey dots, $n = 9$) and the shock-sensitive groups ($D = 1$ for both comparisons, $P < 0.0001$, Kolmogorov-Smirnov test). Control and shock-sensitive groups displayed comparable distribution ($D = 0.306$, $n.s.$, Kolmogorov-Smirnov test). **c**, Shock-sensitive and -resistant rats showed equivalent level of lever presses on the last baseline session ($t_1 = 1.138$, $n.s.$). **d**, No correlation was found between the number of lever presses on the last baseline session and the compulsivity score for shock-resistant ($r = -0.074$, $n.s.$) and shock-sensitive animals ($r = -0.074$, $n.s.$). **e**, Number of nose pokes for sucrose was similar for both groups during baseline

cocaine seeking (group effect: $F_{(1,204)} = 0.78$, *n.s.*) and cocaine seeking under punishment (group effect: $F_{(1,357)} = 0.084$, *n.s.*). Line and bar graphs indicate mean $\pm$ s.e.m.

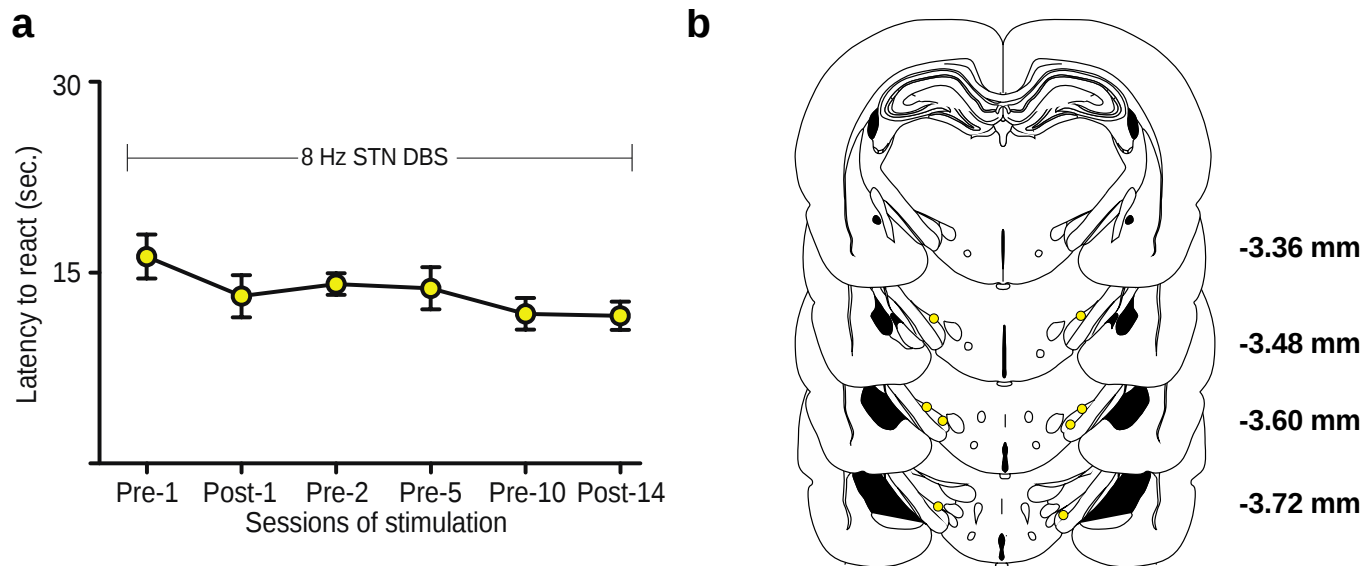


Extended data Figure 3. Shock-resistant, but not shock-sensitive, rats display pathological STN low frequency oscillations during cocaine escalation, which are normalized by cocaine consumption. **a, b** Session-frequency raw power spectra showing basal (*i.e.* before cocaine, **a**) and after 6 h of cocaine intake (**b**, post cocaine) LFPs power in shock-resistant (left panels, $n = 5$) and shock-sensitive (right panels, $n = 12$) animals. Values indicate logarithmic quantification of the power spectrum. **c**, Histologically verified electrode placements for LFPs recordings also used in Fig. 2 (black dots: shock-sensitive, orange dots: shock-resistant). Numbers indicate distance from bregma.²⁹

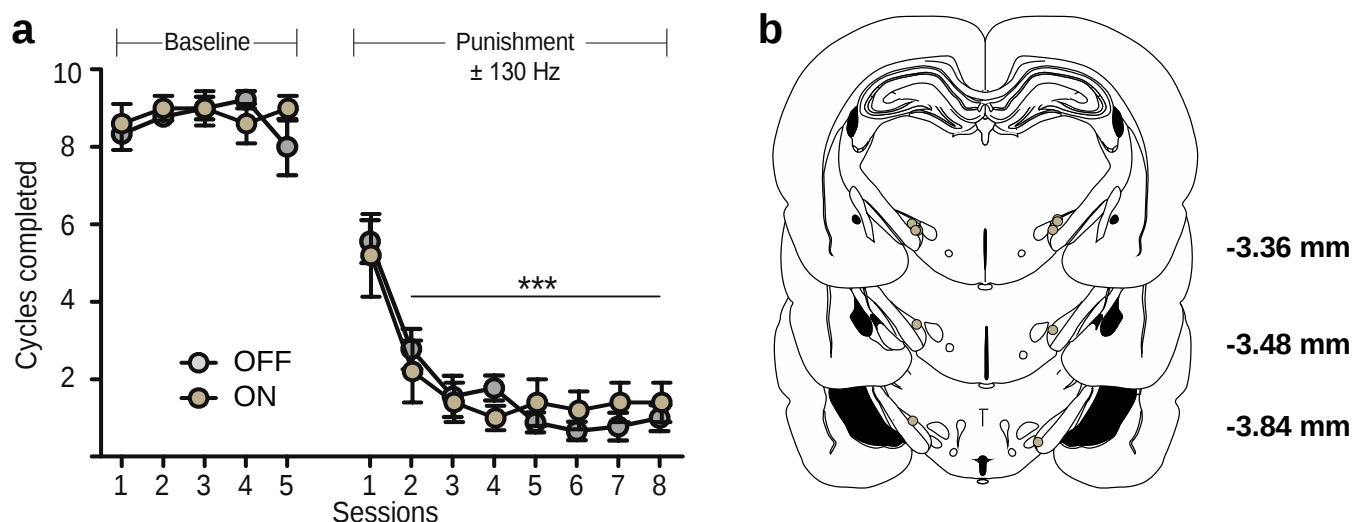


Extended data Fig. 4. STN DBS applied during escalation 2 in 'shock-sensitive' rats has no consequence on basal seeking and consummatory behaviors. **a**, Punishment delivery suppressed cocaine seeking in all groups (0 Hz, $n = 5$; 8 Hz, $n = 5$; 70 Hz, $n = 3$) (punishment effect: $F_{(12,120)} = 89.94$, $P < 0.0001$; group effect: $F_{(2,120)} = 0.168$, *n.s.*). All groups displayed equivalent level of cocaine seeking during baseline 1 (group effect: $F_{(2,40)} = 0.449$, *n.s.*) and punishment 1 (group effect: $F_{(2,70)} = 0.203$, *n.s.*). Dashed line indicates compulsivity threshold below which animals are considered shock-sensitive. **b**, STN DBS applied during cocaine escalation 2 did not affect the dynamic of intake observed during the cocaine escalation 1, since the percentage of change between escalation 1 and 2 is not significantly different in all groups (session effect: $F_{(13,140)} = 0.601$, *n.s.*; group effect: $F_{(2,140)} = 1.079$, *n.s.*). **c**, STN DBS applied during cocaine escalation 2 did not affect the dynamic of basal cocaine seeking observed during the baseline 2, since the percentage of change between baseline 1 and 2 is not significantly different in all groups (session effect: $F_{(4,50)} = 1.755$, *n.s.*; group effect: $F_{(2,50)} = 1.363$, *n.s.*). **c**, All groups exhibited comparable level of lever presses during the last session of baseline seeking before and after STN DBS applied during cocaine escalation 2 (paired t test: $t_2 = 0.111$, *n.s.*; $t_2 = 2.698$, $P = 0.0542$; $t_2 = 2.741$, *n.s.* for 0 Hz-, 8 Hz- and 70 Hz-stimulated groups, respectively). **e**, STN DBS applied during cocaine escalation 2 did not affect the dynamic of sucrose seeking observed during punishment 2, since the percentage of change between punishment 1 and 2 is not significantly different in all groups (session effect: $F_{(12,130)} = 0.874$, *n.s.*; group effect: $F_{(2,130)} =$

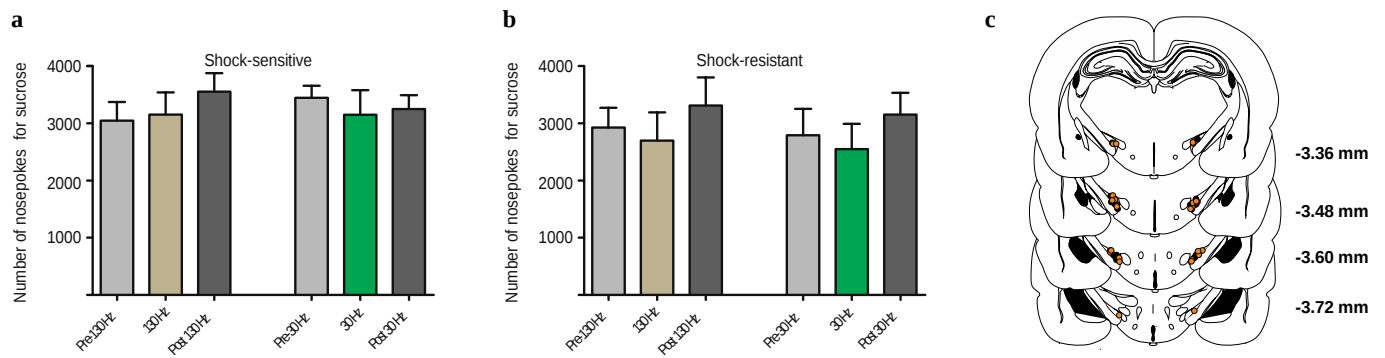
0.948, *n.s.*). Line and bar graphs indicate mean $\pm$ s.e.m. **f**, Histologically verified electrode placements for 8 Hz (yellow dots) and 70 Hz (blue dots) STN DBS also used in Fig. 3. Numbers indicate distance from bregma.²⁹



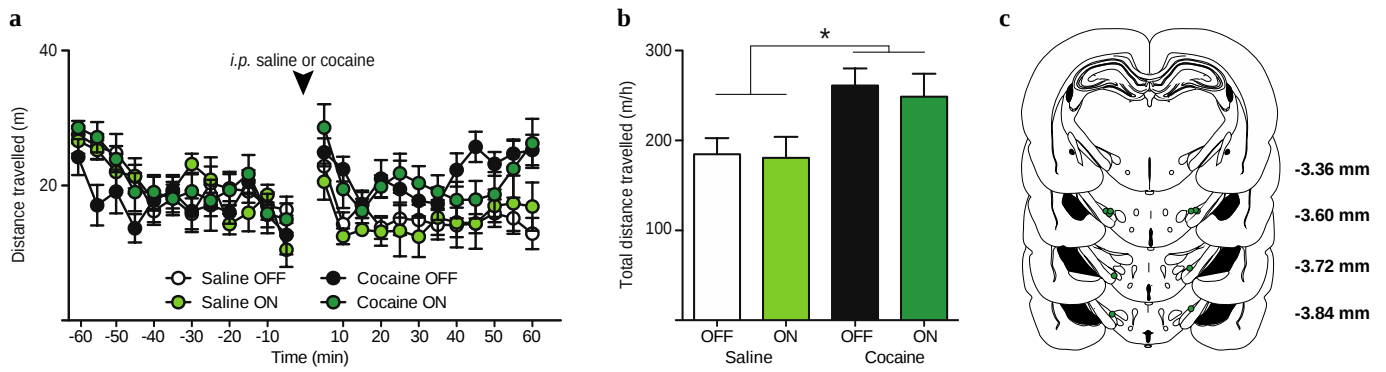
Extended data Fig. 5. Repeated 8 Hz STN DBS does not affect rat's pain threshold. **a**, Latency to react to a hot plate did not vary throughout 14 consecutive days of 6 h of 8 Hz STN DBS ($n = 4$, $F_{(5,23)} = 1.756$, $n.s.$). Lines indicate mean $\pm$ s.e.m. **b**, Histologically verified electrode placements. Numbers indicate distance from bregma.²⁹



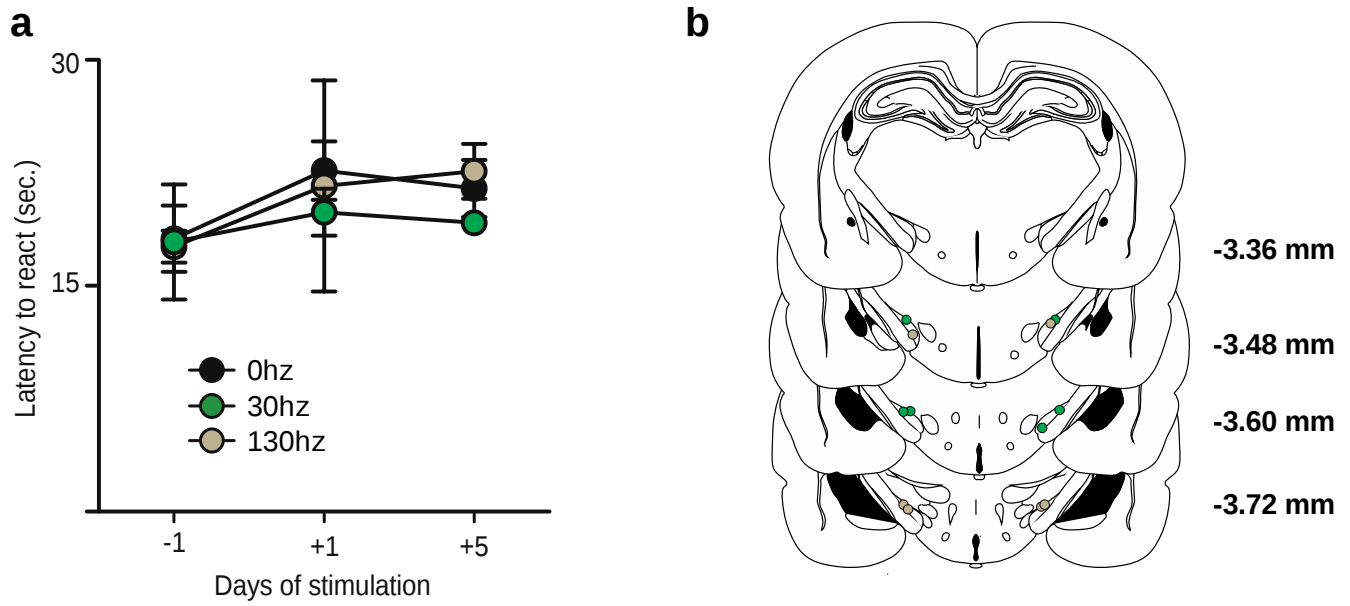
Extended data Fig. 6. 130 Hz STN DBS has no effect on intermittent punishment-induced suppression of cocaine seeking in control rats. **a**, In animals only trained on the seek-take procedure (2h/d), foot-shock delivery during the punishment sessions completely suppressed cocaine seeking in both groups (OFF $n = 9$, ON $n = 5$; session effect: $F_{(12,144)} = 123.3$, $P < 0.0001$; group effect: $F_{(1,144)} = 0.074$, $n.s.$; Bonferroni post hoc: $***P < 0.001$ baseline vs. punishment). Lines indicate mean $\pm$ s.e.m. **b**, Histologically verified electrode placements. Numbers indicate distance from bregma.²⁹



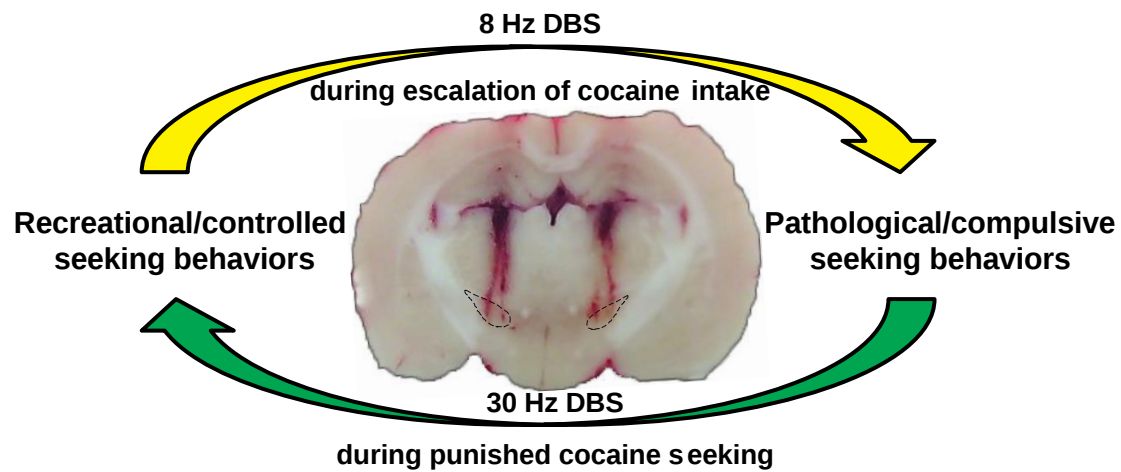
Extended data Fig. 7. STN DBS does not affect seeking for natural reward during punished cocaine seeking. 30 Hz (green bars) or 130 Hz (brown bars) STN DBS during punishment sessions had no effect on the number of nosepokes for sucrose in both shock-sensitive (**a**, $n = 14$; $F_{(5,83)} = 0.573$, *n.s.*) and shock-resistant animals (**b**, $n = 12$; $F_{(5,55)} = 2.099$, *n.s.*). Bar graphs indicate mean $\pm$ s.e.m. **c**, Histologically verified electrode placements for 30 Hz and 130 Hz STN DBS also used in Fig. 4 (black dots: shock-sensitive, orange dots: shock-resistant). Numbers indicate distance from bregma.²⁹



Extended data Fig. 8. 30 Hz STN DBS has no effect on rat's locomotion. **a**, When applied after an hour of habituation, 30 Hz STN DBS (green dots) affected neither rat's locomotion (expressed as the distance travelled per bins of 5 minutes) following a saline (1 ml/kg, *i.p.*; pale dots) nor cocaine (5 mg/kg, *i.p.*; dark dots)-induced hyperlocomotion ($n = 6$; $F_{(3,47)} = 30.81, P < 0.0001$). **b**, Total distance travelled during one hour (cocaine effect: $F_{(1,10)} = 7.322, P = 0.022$; group effect: $F_{(1,10)} = 0.298, n.s.$; Bonferroni post hoc: $*P < 0.05$). Line and bar graphs indicate mean $\pm$ s.e.m. **c**, Histologically verified electrode placements (green dots). Numbers indicate distance from bregma.²⁹



Extended data Fig. 9. STN DBS does not affect rat's pain threshold. **a**, All groups (0 Hz, $n = 3$; 30 Hz, $n = 3$; 130 Hz, $n = 3$) displayed comparable latency to react to a hot plate after five consecutive days of STN DBS (DBS effect: $F_{(2,12)} = 2.034$, $n.s.$; group effect: $F_{(2,12)} = 0.172$, $n.s.$). Lines indicate mean $\pm$ s.e.m. **b**, Histologically verified electrode placements. Numbers indicate distance from bregma.²⁹



Extended data Fig. 10. Summary schematic diagram. a, STN DBS exerts a bidirectional control on compulsive cocaine seeking, which depends on both stimulation frequency (8 Hz vs. 30 Hz) and time of stimulation delivery (escalation vs. punished seeking). Photograph shows a rat's coronal brain section illustrating STN (dashed lines) bilateral implantation with DBS electrodes.

C. Troisième article : Analyse des conséquences de la modulation du NST par optogénétique, apports relatifs aux mécanismes de la stimulation cérébrale profonde.

1) Résumé de l'étude

Cet article vise à comprendre le rôle du NST dans différents processus motivationnels, notamment en utilisant l'optogénétique qui permet d'identifier la contribution spécifique de ce noyau dans les processus étudiés. En effet, alors que la SCP-HF du NST n'induit pas toujours des effets comparables à ceux d'une lésion du NST, les différences sont interprétées en terme de spécificité des effets d'une méthode par rapport à l'autre. La SCP-HF est reconnue pour activer les fibres du réseau. Par conséquent, l'analyse comparée des effets sur le comportement de la SCP-HF et de la modulation par optogénétique nous a permis de montrer que l'inhibition optogénétique du NST a des effets analogues à ceux d'une SCP-HF sur les comportements motivés pour la nourriture et la cocaïne. A l'inverse nous avons pu établir que la stimulation optogénétique du NST induisait des effets opposés à ceux de la SCP-HF sur la motivation pour la nourriture mais n'affectait pas la motivation pour la cocaïne.

Pour cet article, j'ai mis en place les dispositifs d'optogénétique au sein du laboratoire et conduit la plupart des expériences présentées, sous la direction de Christelle Baunez, avec l'aide de Mickaël Degoulet et Yann Pelloux. J'ai également réalisé les enregistrements de Patch-Clamp chez le rat adulte couplé à de la modulation optogénétique. Enfin j'ai effectué l'analyse des données et la rédaction de l'article sous la supervision de Christelle Baunez, tout en bénéficiant de l'aide et des retours de M. Degoulet et de Y. Pelloux.

2) Approche méthodologique

a) Animaux et procédures chirurgicales

Des rats de souche Lister Hooded ont été hébergés par paires dans une animalerie en cycle inversé (12h-jour/nuit) à l'atmosphère contrôlée. Toutes les procédures ont été effectuées durant la phase nocturne. Pour les procédures impliquant la nourriture, les rats ont été maintenus en légère restriction calorique en recevant 75-80% de leur ration alimentaire

quotidienne (15-16g/rat). Pour les procédures impliquant la cocaïne, les animaux n'ont pas été placés en restriction.

Les rats ont été anesthésiés avec un mélange de kétamine (Imalgen, Merial, 100mg/kg, s.c.) et médétomidine (Domitor, Janssen, 30mg/kg, s.c., anesthésique réversible).

Chirurgie pour l'optogénétique : Les animaux ont été placés dans un cadre stéréotaxique et ont reçu une injection bilatérale de 0.5µL de virus (AP: -3.7mm; L: ±2.4mm depuis le bregma; DV: -8.4mm depuis la surface du crâne, vitesse d'injection : 0.166µL/min). Les fibres optiques ont été ensuite implantées 0.5mm au-dessus de chaque site d'injection afin de permettre une diffusion de la lumière qui recouvre le NST de façon optimale.

Implantation des électrodes de SCP-HF : Les électrodes de stimulation ont été implantées bilatéralement aux mêmes coordonnées que pour les injections et selon la procédure décrite précédemment.

Chirurgie intraveineuse : Pour les expériences utilisant la cocaïne ; les rats ont été implantés avec un cathéter en silicone au niveau de la veine jugulaire droite conformément à ce qui a été décrit pour les deux articles précédents.

Les rats ont été réveillés avec une injection d'atipamezol (Antisedan, Janssen, 0.15mg/kg, i.m., antagoniste de la médétomidine). Ils ont bénéficié d'une période de récupération post-opératoire d'une semaine. Les cathéters ont été testés quotidiennement pour le retour sanguin et nettoyés avec de l'héparine (Sanofi, 3g/L) and enroflorilexine (Baytril, Bayer, 8g/L) dissous dans une solution saline (0.9%) pour empêcher les infections et la formation de caillots. Les cathéters ont été régulièrement testés au propofol (Propovet, Abbott, 10 mg/ml) pour confirmer leur bon état.

b) Vecteurs viraux

Des virus adéno-associés de sérotype 5 (AAV5) ont été utilisés pour permettre l'expression des opsines sous le contrôle du promoteur CaMKIIa. Les séquences suivantes ont été utilisées AAV5-CaMKII-hChR2 (E123T/T159C)-p2A-EYFP-WPRE pour les animaux stimulés, AAV5-CaMKII-ArchT3.0-p2A-EYFP-WPRE pour les groupes « inhibition » et AAV5-CaMKII-EYFP pour les groupes « contrôle ».

c) Stimulation lumineuse in-vivo

Les implants ont été fabriqués avec de la fibre optique (230µm, Thorlabs) fixée sur une férule en céramique avec de la colle époxy. La stimulation lumineuse a été appliquée à l'aide d'un laser (DPSS 532nm, 200mW) contrôlé par un générateur de signal (WPI8000). Des commutateurs optiques (DoricLenses) ont été utilisés pour éliminer les forces de torsion sur les câbles optiques, et des coupleurs optiques ont été utilisés pour illuminer simultanément les deux NST. L'intensité lumineuse a été évaluée avant chaque test avec un capteur photosensible (Thorlabs, PM20A).

d) Procédures comportementales

Les tests comportementaux ont été effectués dans des boîtes opérantes dotées de 2 trous activables et d'une mangeoire sur la paroi opposée (MedAssociates), placées dans des armoires d'isolation phonique. Chaque trou est équipé de cellules photoélectriques formant un faisceau dont l'interruption signale l'entrée du museau de l'animal et d'une lumière qui sert d'indice. Pour chaque rat un trou a été aléatoirement associé à la récompense (le trou actif), tandis que le second est désigné en tant que trou « inactif » et n'induit aucune conséquence dans la boîte lorsqu'il est visité.

Procédures de renforcement pour la nourriture : Les rats ont d'abord été entraînés à travailler pour des granules de sucre selon une procédure de FR1, le ratio a été progressivement augmenté pour atteindre un FR5. Les sessions de FR5 ont une durée de 30 min. Les rats ont ensuite été soumis à un test de ratio progressif où le ratio augmente par palier de 5 après 3 récompenses (ex : 1, 1, 1, 5, 5, 5, 10, 10, 10...). Les sessions avaient une durée de 90min ou s'arrêtaient après 5min sans réponse dans le trou actif.

Auto-administration de cocaïne : Le guide canule du cathéter a été connecté à une tube en silicone protégé par un ressort puis relié via un commutateur tournant à une seringue placée sur une pompe d'administration dont le débit est fixe. Chaque injection de cocaïne correspondait à 250µg dans un volume de 90µL de solution saline. Les sessions avaient une durée de 2h pour le FR5 et 4h pour le ratio progressif. En ratio progressif, afin de limiter le nombre d'injections obtenues, le ratio augmente selon l'équation de Roberts (ex : 1, 3, 6, 10, 15, 20, 25, 32, 40, 50, 62, 77, 95, 118, 145, 178, 219, etc.) (Depoortere et al., 1993; Rouaud et

al., 2010). La session se terminait également si le rat ne parvenait pas à compléter un ratio en 60 min.

e) Electrophysiologie

Des rats adultes (9-12mois) ont été anesthésiés puis perfusés avec du liquide cérébro-spinal artificiel (ACSF : « artificial cerebro-spinal fluid ») refroidi sur la glace dans lequel les ions sodium ont été remplacés par de la N-Méthyl-D-Glucamine (NMDG). Des sections transversales de 200µm contenant le NST ont ensuite été préparées au vibratome dans du NMDG-ACSF froid. Pour maximiser la survie cellulaire, les tranches ont été transférées 10 min à 33°C dans le NMDG-ACSF puis dans une solution de maintien (ACSF contenant de l'HEPES) à température ambiante. Enfin les tranches ont été transférées dans la chambre d'enregistrement perfusées avec de l'ACSF à 31°C. La composition des solutions utilisées correspond à ce qui a été décrit par Ting pour optimiser la survie des neurones chez l'adulte (McDevitt et al., 2014; Ting et al., 2014). Les cellules ont été enregistrées avec des pipettes de 4-6MΩ remplies d'une solution interne contenant, en mM, 140 K-gluconate, 5 NaCl, 2 MgCl₂, 10 HEPES (pH 7.35), 0.5 EGTA, 2 ATP, 0.4 GTP. Les cellules ont été repérées à l'aide d'un microscope équipé d'un système contraste interférentiel en infra-rouges et d'une lampe à fluorescence. Les enregistrements en configuration cellule entière ont été échantillonnés à 10kHz et filtrés à 4kHz (logiciel pClamp 10.3 et amplificateur MultiClamp 700B, Molecular Devices, Sunnydale, CA).

3) Résultats

Les principaux résultats de l'article peuvent être résumés de la sorte :

- L'inhibition optogénétique du NST produit des effets comportementaux analogues à ceux de la SCP-HF et de la lésion : augmentation de la motivation pour la nourriture et motivation réduite pour la cocaïne.
- Contrairement à la SCP-HF électrique, la stimulation optogénétique à haute fréquence du NST réduit la motivation pour la nourriture mais ne semble pas affecter la motivation pour la cocaïne.

- L'inhibition optogénétique augmente l'activité locomotrice des animaux, alors que la stimulation optogénétique semble réduire cette activité.
- Les expériences de patch-clamp nous ont permis de montrer que l'inhibition optogénétique réduit l'activité de décharge des neurones du NST, et la stimulation optogénétique à haute fréquence permet d'augmenter leur excitabilité.

Concernant les comportements motivés, la SCP-HF du NST a donc un effet équivalent à celui d'une inactivation qu'elle soit réversible (optogénétique) ou permanente (lésion).

Ces résultats démontrent de façon claire que l'inactivation du NST constitue un des mécanismes fondamentaux de la SCP et plus particulièrement pour les processus motivationnels. En considérant que de nombreuses études ont mis en avant le rôle prépondérant du réseau environnant et notamment celui de la voie hyperdirecte dans les mécanismes de la SCP, on peut légitimement s'interroger sur la contribution de celle-ci dans les processus motivationnels.

ARTICLE N°3

Title Page

TITLE: Subthalamic nucleus optogenetic manipulations: a glimpse at deep brain stimulation mechanisms.

Authors:

Alix Tiran-Cappello¹, Yann Pelloux^{1†}, Cécile Brocard¹, Mickaël Degoulet¹, Christelle Baunez¹

Affiliations :

Institut de Neurosciences de la Timone, UMR7289 CNRS & Aix-Marseille Université, 27 Boulevard Jean Moulin - 13005 Marseille, France

† Present address: Department of Neuroscience and Physiology, Neuroscience Institute, New York University Medical Center, New York, NY 10016, USA

Corresponding author:

Christelle Baunez, Institut de Neurosciences de la Timone, UMR7289 CNRS & Aix-Marseille Université, 27 Boulevard Jean Moulin - 13005 Marseille, France

Phone: +33 491324062, email : christelle.baunez@univ-amu.fr

Short/running title:

Probing subthalamic DBS on motivation with optogenetics

Keywords: basal ganglia, high frequency stimulation, inactivation, food, cocaine, motivation.

Number of words in the abstract: 216

Number of words in the main text: 3817

Number of figures: 5

Number of tables: 0

Supplemental information: 5

ABSTRACT

Although deep brain stimulation (DBS) is now a widely used therapeutic strategy, its precise mechanism remains largely unclear. Since this approach is progressively extended to treat non-motor disorders such as depression, obsessive-compulsive disorders, the comprehension of its effects on motivated behaviors appears of the utmost importance for a possible application for addiction. In intact rats, we used inhibition and high frequency optogenetic activation of subthalamic nucleus (STN) neurons to test whether or not we could reproduce the effects of electric deep brain stimulation on rats' motivation for sweet food and cocaine. Rats' motivation was assessed using fixed-ratio 5 and progressive ratio schedules of reinforcement for both rewards and illumination was applied during behavioral testing. Efficiency of optogenetic manipulations has been validated using in-vitro electrophysiological recordings. Optogenetic inhibition of STN increased motivation for food and reduced motivation for cocaine. In contrast, optogenetic high frequency stimulation reduced the motivation for food without impacting motivation for cocaine. Optical inhibition mimics the effect of electric deep brain stimulation on food and cocaine motivation, confirming that the effects observed under electric DBS result from a specific inactivation of the STN. In contrast, optogenetic high frequency stimulation induces opposite effects to those of electric one, suggesting a stimulation of the STN that only seems to affect food motivation.

MAIN ARTICLE TEXT

INTRODUCTION

The subthalamic nucleus (STN) is a small homogenous glutamatergic structure of the basal ganglia. Historically known as a relay for motor information, STN is a well-established target for deep brain stimulation (DBS) treatment for motor symptoms of Parkinson's disease (PD) (Krack *et al.*, 2010). STN functions have also been extended to decision-making, behavioral inhibition, reward encoding and control of motivation (Baunez *et al.*, 2011; Hamani *et al.*, 2017).

In rodents, the exploration of STN motivational functions has brought up interesting findings, such as the dissociative effect showing that both STN lesion and DBS increase the motivation for sweet food, while decreasing the motivation for cocaine (Baunez *et al.*, 2005; Rouaud *et al.*, 2010). Similarly STN pharmacological inactivation is able to reduce cocaine reinstatement (Bentzley and Aston-Jones, 2017). Finally, STN lesion and DBS have since been shown to prevent cocaine escalation and reescalation of cocaine or heroin intake (Wade *et al.*, 2017; Pelloux *et al.*, 2018).

In human, manipulations of the STN by DBS in PD patients have confirmed its involvement in motivated behavior such as hypersexuality (Romito *et al.*, 2002; Doshi and Bhargava, 2008), or reduced dopaminergic dysregulation traits (Eusebio *et al.*, 2013). STN DBS has progressively become a therapeutic strategy for the treatment of obsessive compulsive disorder (Mallet *et al.*, 2002, 2008) and its potential to treat drug abuse disorder has been suggested (Pelloux and Baunez, 2013) and is being investigated. Despite its extensive use in these pathologies, the exact mechanism of STN DBS remains a matter of debate. For instance while being functionally similar to an inactivation in many cases, electric STN DBS locally

inhibits STN cell bodies (Benazzouz *et al.*, 2000; Beurrier *et al.*, 2001; Tai *et al.*, 2003; Welter *et al.*, 2004; Meissner *et al.*, 2005), while increasing activity of STN output structures in some studies (Hashimoto *et al.*, 2003; Maurice *et al.*, 2003; Shehab *et al.*, 2014), but has also been reported to inhibit the neurons of the substantia nigra reticulata (Benazzouz *et al.*, 2000; Tai *et al.*, 2003). It also impacts the activity of afferent structures and namely alters cortical activity through antidromic activation of the hyperdirect pathway (McIntyre *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2012).

More recently, optogenetic studies have been developed and could allow a more specific way to alter the functioning of STN, while sparing the passing fibers and neighboring structures. Using this technique, it was shown that STN DBS effects in rodent PD models are highly dependent on the hyperdirect pathway (Gradinaru *et al.*, 2009; Sanders and Jaeger, 2016). It was later demonstrated that optogenetic inhibition of the STN was sufficient to alleviate PD symptoms in rodents (Yoon *et al.*, 2014, 2016), thus confirming historical pharmacological inactivation and lesion studies that had shown an improvement of motor functions in PD models after STN inhibition (Bergman *et al.*, 1990; Baunez *et al.*, 1995; Levy *et al.*, 2001). To date, optogenetic experiments have been used to dissect circuits involved in the motor effects of STN DBS, however motivational aspects remain largely unexplored, even though a recent study used optogenetic control to demonstrate the causal role of the STN in pausing/interrupting initiated behavior (Fife *et al.*, 2017). In the present work we used STN optogenetic modulation to compare its effects to those previously described of electric DBS on motivated behavior in rats (Rouaud *et al.*, 2010) and then discuss the mechanisms involved.

MATERIAL AND METHODS

Animals

Lister hooded male rats, 380-400g, were used in this study. They were housed in pairs; maintained in an inverted 12h dark/light cycle (light onset at 7 p.m.) in temperature-controlled room, with unlimited access to water. All experiments were carried out during the dark phase. For the food-rewarded experiments, rats were kept under moderate food restriction (15-16g/rat, 75-80% of normal daily intake). For the other experiments animals had no food restriction. All animal care and use conformed to the French regulation (Decree 2010-118) and were approved by the local ethic committee and the University of Aix-Marseille (saisine #3129.01).

Viral vectors

We used AAV5 (UNC Vector core, Chapel Hill, USA) to transfect STN neurons, allowing the expression of recombinant protein under the CamKIIa promoter with the following constructs: AAV5-CaMKII-hChR2 (E123T/T159C)-p2A-EYFP-WPRE for stimulation groups, AAV5-CaMKII-ArchT3.0-p2A-EYFP-WPRE for inhibition groups and AAV5-CaMKII-EYFP for the control groups.

Surgery

Animals were anesthetized with a combination of Ketamine (Imalgen, Merial, 100mg/kg, s.c.) and medetomidine (Domitor, Janssen, 30mg/kg, s.c.).

Optogenetic surgery: Animals were placed in a Kopf stereotaxic apparatus to receive a bilateral 0.5 μ L injection of virus (0.16 μ L/min) using injectors placed at the following coordinates relative to bregma: AP: -3.7 mm; ML: $\pm$ 2.4 mm; DV: -8.4 mm (from skull) according to the Paxinos and Watson atlas (Paxinos and Watson, 2005). Optic fibers were

implanted 0.5mm above each injection site and secured within a head-cap made of dental cement on the skull.

Catheter surgery: A homemade silicone catheter was inserted 2.5-3.0cm in the right jugular vein and secured with ligatures and exited dorsally between the scapulae through a guide cannula secured with dental cement. Blood reflux in the tubing was checked to confirm correct placement of the catheter. Catheters were also daily flushed with heparin (Sanofi, 3g/L) and antibiotic enrofloxacin (Baytril, Bayer, 8g/L) in 0.9% saline to prevent blood clots and infection during the recovery period, and were also flushed before and after each self-administration session until the end of experiments.

After surgery, all rats were awakened with an injection of atipamezol (Antisedan, Janssen, 0.15mg/kg, *i.m.*). Preventive long-acting amoxicillin treatment was applied (Duphamox LA, Pfizer, 100mg/kg, *s.c.*). They were allowed to recover for at least 7 days, during which they were daily monitored. To allow for satisfying level of expression of the opsins, a waiting period of 3 weeks was applied before any light delivery.

In-vivo light delivery

Implants were built with 230 μ m optic fibers (NA 0.22, Thorlabs) glued to 2.5mm ceramic ferrules (Thorlabs) using epoxy. Ferrules were slightly grinded with a Dremel to improve the contact with the dental cement. Light stimulation was performed during experiments using 200mW 532nm DPSS laser controlled with a signal generator. Optic rotary joints (DoricLenses) relieved the torsion due to animal movements and bilateral stimulation was achieved using an optic coupler (Thorlabs, FCMM625-50A). Light output was assessed before each experiment with a power meter (Thorlabs, PM20A) and parameters for

stimulation were: 10mW, 2ms pulse, 130Hz; and for inhibition: 5mW, 15s pulse, 5s interval between pulses (resulting in a 0.2Hz pattern), unless specified otherwise.

Food self-administration

Rats were first trained during 10-15 days to perform the fixed-ratio 1 for sucrose pellets in standard rat operant chambers (MedAssociates) with an active hole paired with the delivery of the reward and illumination of an associated cue light and an inactive hole, whose activation had no programmed consequences. The ratio was progressively increased until fixed ratio 5 (FR5), stability of performance was evaluated during 3 days before incrementing to the next ratio. Sessions of FR5 lasted 30 min. In the case of progressive ratio (PR) experiments, the ratios followed an arithmetically increasing schedule in steps of five, with three repetitions of each step (i.e., 1, 1, 1, 5, 5, 5, 10, 10, 10...). The sessions ended after 90min or after 5min without any response in the active hole and the last ratio completed was defined as the animal 'breakpoint'.

Cocaine Self-Administration

The intravenous cocaine self-administration was conducted in the same operant boxes described above; the stainless steel guide cannula of the catheter was connected through steel-protected Tygon tubing to a swivel (Plastics One) and then a syringe filled with cocaine placed on an infusion pump (MedAssociates). Self-administration experiments used a dose of 250µg/90µL per cocaine injection (Coopérative pharmaceutique française). The daily sessions lasted for 2 h for FR5 or maximum 4 h for progressive ratio. In PR sessions, to limit the number of injections, the ratios for cocaine reward followed the modified equation of Roberts 1, 3, 6, 10, 15, 20, 25, 32, 40, 50, 62, 77, 95, 118, 145, 178, 219, etc. (Depoortere *et al.*, 1993). If the rats failed to complete a ratio within 60 min, the session ended.

Spontaneous- and cocaine-induced locomotor activity

Locomotor activity was measured as the distance traveled (in m) in a circular homemade Perspex open-field (60 cm diameter) with a video tracking performed with Bonsai (Open Ephys). Details of the procedure can be found in the supplementary material.

Electrophysiology

Full details regarding solutions and preparation of adult brain slices can be found in the supplementary materials and were adapted from other studies (McDevitt *et al.*, 2014; Ting *et al.*, 2014). Adult rats were anesthetized and perfused with ice-cold artificial cerebrospinal fluid. 200 μ m coronal slices containing the STN were prepared with a vibratome (1200S, Leica). Cells were visualized on an upright microscope with infrared differential interference contrast and fluorescence microscopy (Olympus, BX51WI). Recordings were made with pClamp 10.3 software using a MultiClamp 700B amplifier set with 4 kHz low-pass Bessel filter and 10 kHz digitization (Molecular Devices, Sunnydale, CA). Laser modulation was applied using a 532nm DPSS laser. The light beam was directed at the preparation using an optic fiber submerged into the bath. Laser intensities were adjusted to match those used in behavioral experiments.

To assess the influence of laser modulation on firing pattern, cells were imposed a given rhythm through current injection. Cells expressing inhibitory opsins ARCHT3.0 were driven at 10Hz, with injected current intensity corresponding to rheobase + 20-130pA in order to induce stable and robust firing pattern. Cells expressing excitatory opsins CHETA-TC were driven at 10Hz, intensity set at +0-50pA to elicit a few action potentials in a stable pattern. Stability of the excitation was assessed through a 2min baseline recording, then we applied the

same laser pattern used for behavioral experiments for 5min and the cells were monitored for another 5min with the laser turned OFF.

Extended details for histological controls and statistic analyses can be found in the supplementary materials.

RESULTS

Motivation for sweet food

It has been previously shown that STN electric DBS increases the motivation for sweet food, while decreasing the motivation for cocaine (Rouaud *et al.*, 2010). To test whether STN optogenetic inhibition could affect food-motivated behavior; we injected rats bilaterally with either ARCHT3.0 (inhibition, n=9) or EYFP (Control, n=7) expressed under the control of promoter CamKIIa (Fig. 1A). Due to relatively long experimental sessions, the light was applied intermittently by 5min of laser modulation in alternation with 5 min OFF periods to reduce the risks of tissue damage (Fig. 1B). Under FR5 schedule of reinforcement, STN inactivation applied during eight consecutive sessions did not significantly change the number of food pellets obtained by the rats, although a trend towards an increase was observable at the end of the experiment and during the OFF period (Fig. 1C). Under PR schedule of reinforcement, the laser inducing inhibition transiently increased the motivation to work for sweet food reward in comparison with the level of motivation exhibited by the EYFP control group as shown by both the number of rewards obtained and the breakpoint reached (Fig. 1D). At the end of the OFF period, we performed an extra day of testing during which

the inhibition induced by the laser modulation increased the breakpoint when compared to that of the EYFP control group (Fig. 1E). This also confirmed that the opsins were still functional at this stage of the experiment.

We then tested the effects of high frequency optogenetic stimulation of the STN on food-motivated behavior, by injecting the fast kinetic channelrhodopsin CHETA-TC (n=7) or the EYFP (n=5) bilaterally in the STN (Fig. 2A). The light stimulation was applied at 130Hz with a pulse-width of 2ms to mimic the electric DBS parameters in terms of frequency and using the same intermittent pattern described for inhibition experiment (Fig. 2B). In the FR5 procedure, high frequency optogenetic stimulation reduced the number of pellets obtained by the rats but only when the power output was changed from 5mW to 10mW (Fig. 2C & 2D). In the PR schedule of reinforcement, the 130Hz laser stimulation reduced the breakpoint of the CHETA-TC group compared to that reached by the EYFP control group (Fig. 2E). After a few consecutive sessions, the performance of the stimulated animals resumed to that of the control group. Interestingly when the stimulation was stopped we observed transient increase in the breakpoint of the animals that had been previously stimulated, thus indicating the presence of a rebound effect (Fig. 2E and 2F). We then tested various parameters to search for the optimal efficacy of the light stimulation. Variations of the frequencies of stimulation revealed that high frequencies (130Hz) are more efficient at reducing food-related motivation, in contrast with lower frequencies that did not modify the behavior (Fig. 2G). Finally, we tested the influence of the light pulse duration at 100Hz, by increasing the duration from 2ms to 3ms. This last manipulation further reduced motivation for sweet food (Fig. 2H).

Since the STN is primarily known for its motor functions, we performed a locomotion experiment to assess the effect of optogenetic modulation on such behavior. Laser beam

activation increased the locomotor activity of the ‘inhibition’ group while it remained unaffected in the ‘stimulation’ group (Supplementary Fig.1A).

Motivation for cocaine

Because STN DBS reduces motivation for cocaine (Rouaud *et al.*, 2010), we trained animals of control (n=5), inhibition (n=5) and stimulation (n=5) groups to nose-poke for cocaine under FR5 schedule of reinforcement. We applied the same intermittent laser pattern with 5min ON and OFF bins described previously during the food self-administration experiment. Optogenetic inhibition of the STN reduced the cocaine intake in ARCHT animals under FR5 schedule of reinforcement (Fig. 3A). Normalizing the rat intake relative to the last day of baseline further highlighted this decrease in cocaine intake (Fig. 3B & C). In contrast, the 130Hz stimulation at 10mW did not affect the cocaine intake (Fig. 3E-G). As optogenetic inhibition can impact locomotion, we calculated the percentage of active nose-pokes performed during laser bins, and none of the stimulation or inhibition groups displayed an altered pattern compared to the control group, thus ruling out the risk of non-specific effects related to motor activity (Fig. 3D & H). We also tested possible interactions of cocaine with laser stimulation on locomotor activity, and none of the three groups; control, inhibition and stimulation displayed any changes following the injection of a 5, 7.5 or 10mg/kg dose of cocaine (Supplementary Fig.1B-D).

Under a PR schedule of reinforcement, laser inhibition of STN reduced the number of injections obtained, thus indicating a lower level of motivation for the cocaine (Fig. 4A-C). High frequency optogenetic stimulation at 130 Hz, unlike electrical 130Hz stimulation, had no effect on performance (Fig. 4E-G). Finally, we subjected the rats to acute 20Hz

optogenetic stimulation, which had no impact on the motivation to work for cocaine either (Supplementary Fig.3).

Response of STN neurons to optogenetic modulation

Ultimately, to confirm the effect of our optogenetic manipulations, we performed patch-clamp recordings on 19 adult rat brains infected with AAV virus to induce the expression of the opsins in the STN. We then confirmed that the presence of opsins did not deeply change the properties of the cells, as resting membrane potential, cell capacitance, membrane resistance, access resistance and firing rates were equivalent between stimulation, inhibition and control groups (Supplementary Fig.4A-E). To confirm the efficacy of the optogenetic modulation, we first applied discrete light pulses on STN neurons. Longer pulse-width duration and higher light intensity elicited higher inhibitory currents in ARCHT3.0 positive cells (Supplementary Fig.5A-C) and elicited higher depolarizing currents in CHETA-TC positive cells (Supplementary Fig.5D-F).

To further assess the effect of optogenetic inhibition, we electrically stimulated STN neurons thus forcing them to emit action potentials in a stable manner (10Hz, injected current: rheobase + 20-130pA) and then applied the laser stimulation. A 15s light-pulse on STN neurons expressing ARCHT3.0 successfully inhibited neuronal firing (Fig. 5A & B). We then applied the same light pattern that was used for the behavioral experiments. The cells were thus subjected to an alternation of 15s illumination followed by 5s of obscurity during 5min (Fig. 5C). Inhibition induced by the laser reduced the firing rate of STN neurons and when the laser was stopped the cells resumed to their basal firing rate (Fig. 5C & D). This confirmed that our manipulations were sufficient to inhibit STN neurons.

The effects of optogenetic stimulation were first assessed in STN neurons with 10s of laser illumination at various frequencies (Fig. 5E). Interestingly, higher frequencies of laser stimulation did not change the number of induced action potentials compared to lower frequencies (Fig. 5F). However higher frequencies significantly increased membrane potential, suggesting this pattern increased the excitability of STN neurons (Fig. 5G). To test this hypothesis we applied 10Hz electrical stimulation (injected current: Rheobase +0-50pA) to elicit a few action potentials and we applied 130Hz laser stimulation for 5min. Firing rate of STN neurons was significantly increased by the 130Hz laser stimulation, and once the laser was turned off firing rate was no longer different from the baseline period (Fig. 5H & I). This further enforced that 130Hz optogenetic stimulation is unlikely to induce action potentials on its own, but seems to increase STN neurons excitability.

DISCUSSION

The data presented here show that STN optogenetic manipulations are sufficient to achieve bidirectional control on food motivation in rats. This positions the STN as a major contributor in the processes regulating sweet food reinforcement and motivation. Optogenetic inhibition mimics the effects obtained with either electric DBS or lesion of STN by increasing motivation for food and decreasing that for cocaine (Baunez *et al.*, 2005; Rouaud *et al.*, 2010). Optogenetic stimulation applied at 130Hz produces the mirror effect and reduces food motivation, revealing that optogenetic stimulation although applied at 130Hz results in opposite effects to those of electric 130Hz stimulation. Interestingly, STN optogenetic manipulations have transitory effect on food and cocaine intake, while electric STN DBS produces long lasting effects (Rouaud *et al.*, 2010). This indicates that the surrounding network and afferences strongly contribute to maintain these effects, in line with previous

studies showing that the hyperdirect pathway is critical in DBS treatment of some PD symptoms (Gradinaru *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2012).

Because of our long lasting behavioral experiments, we used an intermittent laser modulation to lower the risk of tissue damage. Similar intensities have been used for inhibition and stimulation without any adverse consequences (Nieh *et al.*, 2015; Fife *et al.*, 2017). We did not observe any traces after histology that could be related to light induced damages, controls expressing EYFP were not impacted by the laser beam and animals of ‘inhibition’ and ‘stimulation’ groups were still responsive to light modulation even after several sessions, and the effect of optogenetic manipulation dissipated more or less quickly as the manipulation ceased, thus ruling out the risk of permanent alteration. Such intermittent pattern could hold a huge potential to achieve optogenetic control during prolonged experiments for future application.

We tested the influence of various parameters for optogenetic stimulation in the food experiment. Behavior was moderately impacted by the stimulation at 5mW, and significantly reduced by the stimulation with light intensity set at 10mW. This is explained by higher depolarizing currents in STN neurons (Supplementary Fig.5F) but also because light is transmitted through a larger volume of tissue and can stimulate a larger pool of neurons (Yizhar *et al.*, 2011).

Our electrophysiological experiments show that high frequency optogenetic stimulation increases the activity of STN neurons at cell body level. Even if optogenetic stimulation of cell bodies can lead to a different pattern once the excitation wave reaches the axon (Yizhar *et al.*, 2011), our results advocate in favor of an effective stimulation of STN output, as it produced opposite effects to those observed after optogenetic inhibition on motivation for food. Of note, optogenetic stimulation at high frequencies of glutamatergic terminals has been

used in vitro and in-vivo to induce LTD (Klavir *et al.*, 2017), thus a similar effect could be accounted for the progressive loss of efficiency of the laser stimulation and for the rebound effect we observed during the food self-administration after several sessions of 130Hz optogenetic stimulation. In addition, our stimulation resulted in an increased activity of STN without locking it to a define rhythm, thus addressing one of the issues often raised by critics regarding optogenetic experiments, that is to determine if the activity resulting from the stimulation pattern possesses any physiological relevance (Yizhar *et al.*, 2011; Deisseroth, 2015).

We reported increased locomotor activity consecutive to STN optogenetic inhibition (Supplementary Fig.1A). If this increased locomotor activity could explain the observed operant behavior for food reward, it is interesting to note that the laser inhibition did not change the number of responses in the inactive hole (Supplementary Fig.2C-D). Only the number of rewards and responses in the food magazine were increased by the laser inhibition (Supplementary Fig.2A-B). This suggests that even though the global activity of the animals is altered by the laser inhibition, it does not happen in an unspecific manner but remains goal-directed. Despite the fact that the first study of STN optogenetic modulation did not report any changes in locomotor activity in parkinsonian models, probably as a result of lower opsin efficiency (Gradinaru *et al.*, 2009), more recent studies have shown that STN optogenetic inhibition could increase locomotion in PD rodent models (Yoon *et al.*, 2014, 2016). It was also established that reducing STN glutamate transporter expression increases locomotor activity (Schweizer *et al.*, 2014), although electric STN DBS has no effect on locomotor activity in naïve rats (Pelloux *et al.*, 2018). Our results further extend these observations in naïve rats, and indicate that direct optogenetic inhibition of the STN is sufficient to increase locomotion. This confirms that specific inhibition of the STN leads to locomotor effect while

the additional stimulation of the afferences, efferences and neighboring structures by electric DBS can counteract this effect.

Finally, opsin expression was mainly observable in the limbic and associative territories of the STN, yet optogenetic modulation affects the motor activity, this further enforces the idea that in rat territories are highly intertwined and the STN represents a site of convergence for numerous cortical projections, as suggested by former studies (Kita *et al.*, 2014; Janssen *et al.*, 2017).

Although STN stimulation does not alter the motivation to work for cocaine nor the locomotor activity, STN inhibition impacts both of them, in line with previous studies (Baunez *et al.*, 2005; Rouaud *et al.*, 2010). Two elements can explain this finding. First, our optogenetic stimulation seems to increase STN excitability, and that increase might be insufficient to affect cocaine related motivation and locomotion. Second, the STN seems highly sensitive to specific ranges of oscillations. For instance in the context of PD, DBS at low frequency ($< 20\text{Hz}$) has been reported to worsen the symptoms, while high frequency DBS exerts therapeutic effects (Timmermann *et al.*, 2004; Eusebio *et al.*, 2008). Very similarly, in the STN, very low frequencies (1-4Hz) have been closely tied to the severity of obsessive compulsive disorders (Welter *et al.*, 2011). Finally, recent data from our group indicate that low frequency oscillations (Theta 8-12Hz and Beta 13-30Hz) develop in the STN during extended cocaine use, and that blocking these oscillations with DBS or lesion prevents escalation and re-escalation of cocaine intake (Pelloux *et al.*, 2018). Thus, the key point to affect cocaine motivation and motor activity through STN stimulation probably lies within very specific ranges of oscillations or a specific driving rhythm rather than a general increase of activity.

Overall the present work emphasizes some of the specific contributions of STN in reward related processes: food and cocaine self-administration, as well as locomotor behavior. By providing data on three different behaviors that can be deeply impacted by DBS, we hope to offer a large comparative framework for the study of DBS effects. Since DBS is progressively applied for an increasing number of psychiatric pathologies such as depression, obsessive-compulsive disorders and addiction (Mallet *et al.*, 2008; Pelloux and Baunez, 2013; Hamani *et al.*, 2017), identifying the contribution of the structure itself and that of the networks supporting therapeutic effects appears critical to reduce the risks of side effects and refine the parameters and strategies used to target brain structures.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Drs. F Brocard and R Bos for allowing use of their Patch clamp equipment and animal facility personal for technical support.

FUNDING

This work was funded by CNRS, Aix-Marseille Université; the MILDECA (Mission Interministérielle pour la Lutte contre les drogues et les conduits addictives; Programme Apprentis Chercheurs MAAD), the Fondation pour la Recherche Médicale (FRMDPA20140629789), the support of the A*MIDEX project (ANR-11-IDEX-0001-02) funded by the « Investissements d’Avenir » French Government program, managed by the French National Research Agency (ANR). ATC was funded by the French Ministry of Higher Education and Research and by France Parkinson.

DISCLOSURES

Drs. Baunez, Pelloux and Degoulet reported no biomedical financial interests or potential conflicts of interest. Alix Tiran-Cappello and Cécile Brocard reported no biomedical financial interests or potential conflicts of interest.

REFERENCES

Baunez C, Dias C, Cador M, Amalric M. The subthalamic nucleus exerts opposite control on cocaine and ‘natural’ rewards. *Nat. Neurosci.* 2005; 8: 484–489.

Baunez C, Nieoullon A, Amalric M. In a rat model of parkinsonism, lesions of the subthalamic nucleus reverse increases of reaction time but induce a dramatic premature responding deficit. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 1995; 15: 6531–6541.

Baunez C, Yelnik J, Mallet L. Six questions on the subthalamic nucleus: lessons from animal models and from stimulated patients. *Neuroscience* 2011; 198: 193–204.

Benazzouz A, Gao DM, Ni ZG, Piallat B, Bouali-Benazzouz R, Benabid AL. Effect of high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on the neuronal activities of the substantia nigra pars reticulata and ventrolateral nucleus of the thalamus in the rat. *Neuroscience* 2000; 99: 289–295.

Bentzley BS, Aston-Jones G. Inhibiting subthalamic nucleus decreases cocaine demand and relapse: therapeutic potential. *Addict. Biol.* 2017; 22: 946–957.

Bergman H, Wichmann T, DeLong MR. Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science* 1990; 249: 1436–1438.

Beurrier C, Bioulac B, Audin J, Hammond C. High-Frequency Stimulation Produces a Transient Blockade of Voltage-Gated Currents in Subthalamic Neurons. *J. Neurophysiol.* 2001; 85: 1351–1356.

Deisseroth K. Optogenetics: 10 years of microbial opsins in neuroscience. *Nat. Neurosci.* 2015; 18: 1213–1225.

Depoortere RY, Li DH, Lane JD, Emmett-Oglesby MW. Parameters of self-administration of cocaine in rats under a progressive-ratio schedule. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1993; 45: 539–548.

Doshi P, Bhargava P. Hypersexuality following subthalamic nucleus stimulation for Parkinson's disease. *Neurol. India* 2008; 56: 474–476.

Eusebio A, Chen CC, Lu CS, Lee ST, Tsai CH, Limousin P, et al. Effects of low-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on movement in Parkinson's disease. *Exp. Neurol.* 2008; 209: 125–130.

Eusebio A, Witjas T, Cohen J, Fluchère F, Jouve E, Régis J, et al. Subthalamic nucleus stimulation and compulsive use of dopaminergic medication in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013; 84: 868–874.

Fife KH, Gutierrez-Reed NA, Zell V, Bailly J, Lewis CM, Aron AR, et al. Causal role for the subthalamic nucleus in interrupting behavior. *eLife* 2017; 6

Gradinaru V, Mogri M, Thompson KR, Henderson JM, Deisseroth K. Optical Deconstruction of Parkinsonian Neural Circuitry. *Science* 2009; 324: 354–359.

Hamani C, Florence G, Heinsen H, Plantinga BR, Temel Y, Uludag K, et al. Subthalamic Nucleus Deep Brain Stimulation: Basic Concepts and Novel Perspectives. *eNeuro* 2017; 4: ENEURO.0140-17.2017.

Hashimoto T, Elder CM, Okun MS, Patrick SK, Vitek JL. Stimulation of the Subthalamic Nucleus Changes the Firing Pattern of Pallidal Neurons. *J. Neurosci.* 2003; 23: 1916–1923.

Janssen MLE, Temel Y, Delaville C, Zwartjes DGM, Heida T, Deurwaerdère PD, et al. Cortico-subthalamic inputs from the motor, limbic, and associative areas in normal and dopamine-depleted rats are not fully segregated. *Brain Struct. Funct.* 2017; 222: 2473–2485.

Kita T, Osten P, Kita H. Rat subthalamic nucleus and zona incerta share extensively overlapped representations of cortical functional territories. *J. Comp. Neurol.* 2014; 522: 4043–4056.

Klavir O, Prigge M, Sarel A, Paz R, Yizhar O. Manipulating fear associations via optogenetic modulation of amygdala inputs to prefrontal cortex. *Nat. Neurosci.* 2017; 20: 836–844.

Krack P, Hariz MI, Baunez C, Guridi J, Obeso JA. Deep brain stimulation: from neurology to psychiatry? *Trends Neurosci.* 2010; 33: 474–484.

Levy R, Lang AE, Dostrovsky JO, Pahapill P, Romas J, Saint-Cyr J, et al. Lidocaine and muscimol microinjections in subthalamic nucleus reverse Parkinsonian symptoms. *Brain J. Neurol.* 2001; 124: 2105–2118.

Li Q, Ke Y, Chan DCW, Qian Z-M, Yung KKL, Ko H, et al. Therapeutic Deep Brain Stimulation in Parkinsonian Rats Directly Influences Motor Cortex. *Neuron* 2012; 76: 1030–1041.

Mallet L, Mesnage V, Houeto J-L, Pelissolo A, Yelnik J, Behar C, et al. Compulsions, Parkinson's disease, and stimulation. *The Lancet* 2002; 360: 1302–1304.

Mallet L, Polosan M, Jaafari N, Baup N, Welter M-L, Fontaine D, et al. Subthalamic nucleus stimulation in severe obsessive-compulsive disorder. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359: 2121–2134.

Maurice N, Thierry A-M, Glowinski J, Deniau J-M. Spontaneous and Evoked Activity of Substantia Nigra Pars Reticulata Neurons during High-Frequency Stimulation of the Subthalamic Nucleus. *J. Neurosci.* 2003; 23: 9929–9936.

McDevitt RA, Tiran-Cappello A, Shen H, Balderas I, Britt JP, Marino RAM, et al. Serotonergic versus Nonserotonergic Dorsal Raphe Projection Neurons: Differential Participation in Reward Circuitry. *Cell Rep.* 2014; 8: 1857–1869.

McIntyre CC, Savasta M, Kerkerian-Le Goff L, Vitek JL. Uncovering the mechanism(s) of action of deep brain stimulation: activation, inhibition, or both. *Clin. Neurophysiol.* 2004; 115: 1239–1248.

Meissner W, Leblois A, Hansel D, Bioulac B, Gross CE, Benazzouz A, et al. Subthalamic high frequency stimulation resets subthalamic firing and reduces abnormal oscillations. *Brain* 2005; 128: 2372–2382.

Nieh EH, Matthews GA, Allsop SA, Presbrey KN, Leppla CA, Wichmann R, et al. Decoding Neural Circuits that Control Compulsive Sucrose Seeking. *Cell* 2015; 160: 528–541.

Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Elsevier Academic Press; 2005.

Pelloux Y, Baunez C. Deep brain stimulation for addiction: why the subthalamic nucleus should be favored. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2013; 23: 713–720.

Pelloux Y, Degoulet M, Tiran-Cappello A, Cohen C, Lardeux S, George O, et al. Subthalamic nucleus high frequency stimulation prevents and reverses escalated cocaine use. *Mol. Psychiatry* 2018; 10.1038/s41380-018-0080-y.

Romito LM, Raja M, Daniele A, Contarino MF, Bentivoglio AR, Barbier A, et al. Transient mania with hypersexuality after surgery for high frequency stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 2002; 17: 1371–1374.

Rouaud T, Lardeux S, Panayotis N, Paleressompoulle D, Cador M, Baunez C. Reducing the desire for cocaine with subthalamic nucleus deep brain stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2010; 107: 1196–1200.

Sanders TH, Jaeger D. Optogenetic stimulation of cortico-subthalamic projections is sufficient to ameliorate bradykinesia in 6-ohda lesioned mice. *Neurobiol. Dis.* 2016; 95: 225–237.

Schweizer N, Pupe S, Arvidsson E, Nordenankar K, Smith-Anttila CJA, Mahmoudi S, et al. Limiting glutamate transmission in a Vglut2-expressing subpopulation of the subthalamic nucleus is sufficient to cause hyperlocomotion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2014; 111: 7837–7842.

Shehab S, D'souza C, Ljubisavljevic M, Redgrave P. High-frequency electrical stimulation of the subthalamic nucleus excites target structures in a model using c-fos immunohistochemistry. *Neuroscience* 2014; 270: 212–225.

Tai C-H, Boraud T, Bezard E, Bioulac B, Gross C, Benazzouz A. Electrophysiological and metabolic evidence that high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus bridges neuronal activity in the subthalamic nucleus and the substantia nigra reticulata. *FASEB J.* 2003; 17: 1820–1830.

Timmermann L, Wojtecki L, Gross J, Lehrke R, Voges J, Maarouf M, et al. Ten-Hertz stimulation of subthalamic nucleus deteriorates motor symptoms in Parkinson's disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 2004; 19: 1328–1333.

Ting JT, Daigle TL, Chen Q, Feng G. Acute brain slice methods for adult and aging animals: application of targeted patch clamp analysis and optogenetics. *Methods Mol. Biol.* Clifton NJ 2014; 1183: 221–242.

Wade CL, Kallupi M, Hernandez DO, Breyse E, Guglielmo G de, Crawford E, et al. High-Frequency Stimulation of the Subthalamic Nucleus Blocks Compulsive-Like Re-Escalation of Heroin Taking in Rats. *Neuropsychopharmacology* 2017; 42: 1850–1859.

Welter M-L, Burbaud P, Fernandez-Vidal S, Bardinet E, Coste J, Piallat B, et al. Basal ganglia dysfunction in OCD: subthalamic neuronal activity correlates with symptoms severity and predicts high-frequency stimulation efficacy. *Transl. Psychiatry* 2011; 1: e5.

Welter M-L, Houeto J-L, Bonnet A-M, Bejjani P-B, Mesnage V, Dormont D, et al. Effects of High-Frequency Stimulation on Subthalamic Neuronal Activity in Parkinsonian Patients. *Arch. Neurol.* 2004; 61: 89–96.

Yizhar O, Fenno LE, Davidson TJ, Mogri M, Deisseroth K. Optogenetics in Neural Systems. *Neuron* 2011; 71: 9–34.

Yoon HH, Min J, Hwang E, Lee CJ, Suh J-KF, Hwang O, et al. Optogenetic Inhibition of the Subthalamic Nucleus Reduces Levodopa-Induced Dyskinesias in a Rat Model of Parkinson's Disease. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* 2016; 94: 41–53.

Yoon HH, Park JH, Kim YH, Min J, Hwang E, Lee CJ, et al. Optogenetic inactivation of the subthalamic nucleus improves forelimb akinesia in a rat model of Parkinson disease. *Neurosurgery* 2014; 74: 533–541.

FIG. LEGENDS

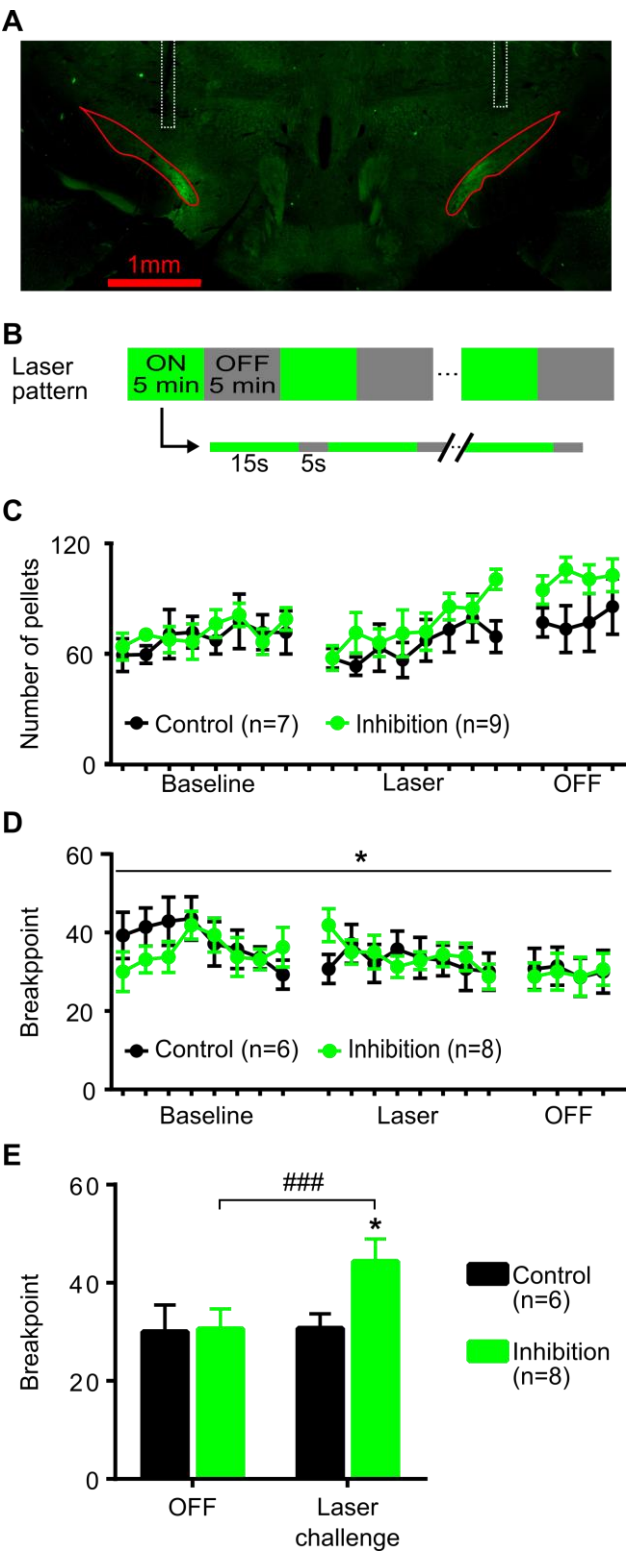


Fig. 1: STN optogenetic inactivation increases the motivation of rats to work for sweet food.

A. Representative image showing the fluorescence in the STN (red lines) for an animal

expressing ARCHT. Dotted rectangles indicate the position of the optic fibers. **B.** Schematic representation of laser pattern used for STN inhibition, which consisted in an alternation of 5min ON (15s illumination followed by 5s of obscurity) and OFF bins, and during ON bins laser was applied using a repeating pattern of 15s illumination followed by 5s of obscurity. **C.** Under FR5 schedule of reinforcement, laser inhibition of the STN applied during 8 consecutive sessions, did not significantly alter the number of pellets obtained by the rats (Mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}} (19, 247) = 1.550$; $P = 0.0699$). **D.** Under PR schedule of reinforcement, laser inhibition transiently increased the breakpoint (i.e. last ratio completed) of rat working for sugar pellets (Mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}} (19, 247) = 1.705$ $P = 0.0358$, * global interaction effect). **E.** One day after the OFF period illustrated in D., another day of laser inhibition (laser challenge) was performed, which resulted in an increased breakpoint in the rats subjected to optogenetic inhibition (Mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}} (1, 13) = 8.174$, $P = 0.0134$, Fisher's post-hoc test: * $P < 0.05$, vs control, ### $P < 0.001$, vs OFF).

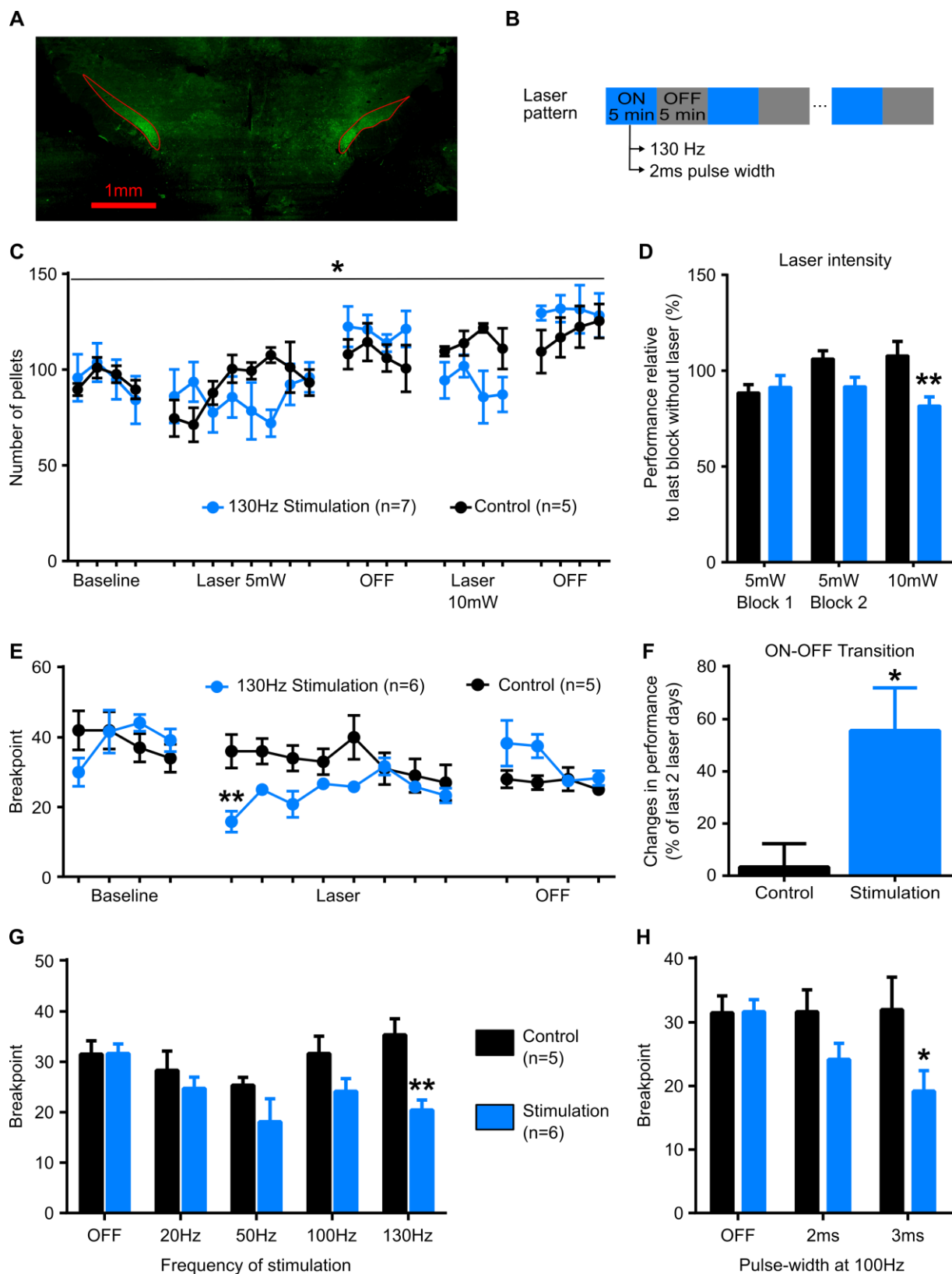


Fig. 2: STN optogenetic stimulation at 130Hz reduces motivation for sweet food. **A.** Example of fluorescence observed in the STN (red lines) in an animal transfected with CHETA-TC. **B.**

Schematic representation of laser pattern used for STN stimulation, which consisted in an alternation of 5min ON and OFF bins, during the former, the laser was applied at 130Hz without interruptions. **C.** In the FR5 task, the influence of 130Hz STN optogenetic stimulation on the number of pellets obtained by the rats was assessed over multiple sessions, application of laser stimulation with an intensity of 5mW and 10mW reduced the food intake. (Mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}} (23, 230) = 1.794$, $P = 0.0168$, * interaction effect). **D.** Comparison of the influence of laser intensity on rat performance calculated on 4-day blocks relative to the last block with no laser stimulation (Mixed ANOVA, $F_{\text{intensity} \times \text{subjects}} (2, 20) = 4.610$, $P = 0.0226$; Sidak's post-hoc test vs. control group: **, $P < 0.01$). **E.** Under PR schedule of reinforcement, the break point of stimulation group was reduced by the 130Hz optogenetic stimulation (Mixed ANOVA, Interaction $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}} (17, 153) = 2.736$, $P = 0.0006$; Sidak's post-hoc test vs. control group: **, $P < 0.01$). **F.** The performances of the 2 first OFF sessions were normalized using the last 2 sessions under optogenetic stimulation: after 8 consecutive sessions of laser stimulation, animals exhibited a transient increase in breakpoint when the laser was turned OFF (Mann Whitney test, $P = 0.0476$). **G.** Efficiency of laser stimulation was assessed at various frequencies revealing higher impact for high frequencies. Data were averaged over 3-day blocks (Mixed ANOVA, $F_{\text{frequency} \times \text{subjects}} (4, 36) = 3.001$, $P = 0.0310$; Sidak's post-hoc test vs. control group: **, $P < 0.01$). **H.** The influence of the pulse duration on the breakpoint was assessed at 100Hz. 3ms pulses were more effective than 2ms pulses to impact food motivation in the PR task, data were averaged over 3-day blocks (Mixed ANOVA, $F_{\text{pulse duration} \times \text{subjects}} (2, 18) = 4.670$, $P = 0.0232$; Sidak's post-hoc test vs. control group: *, $P < 0.05$).

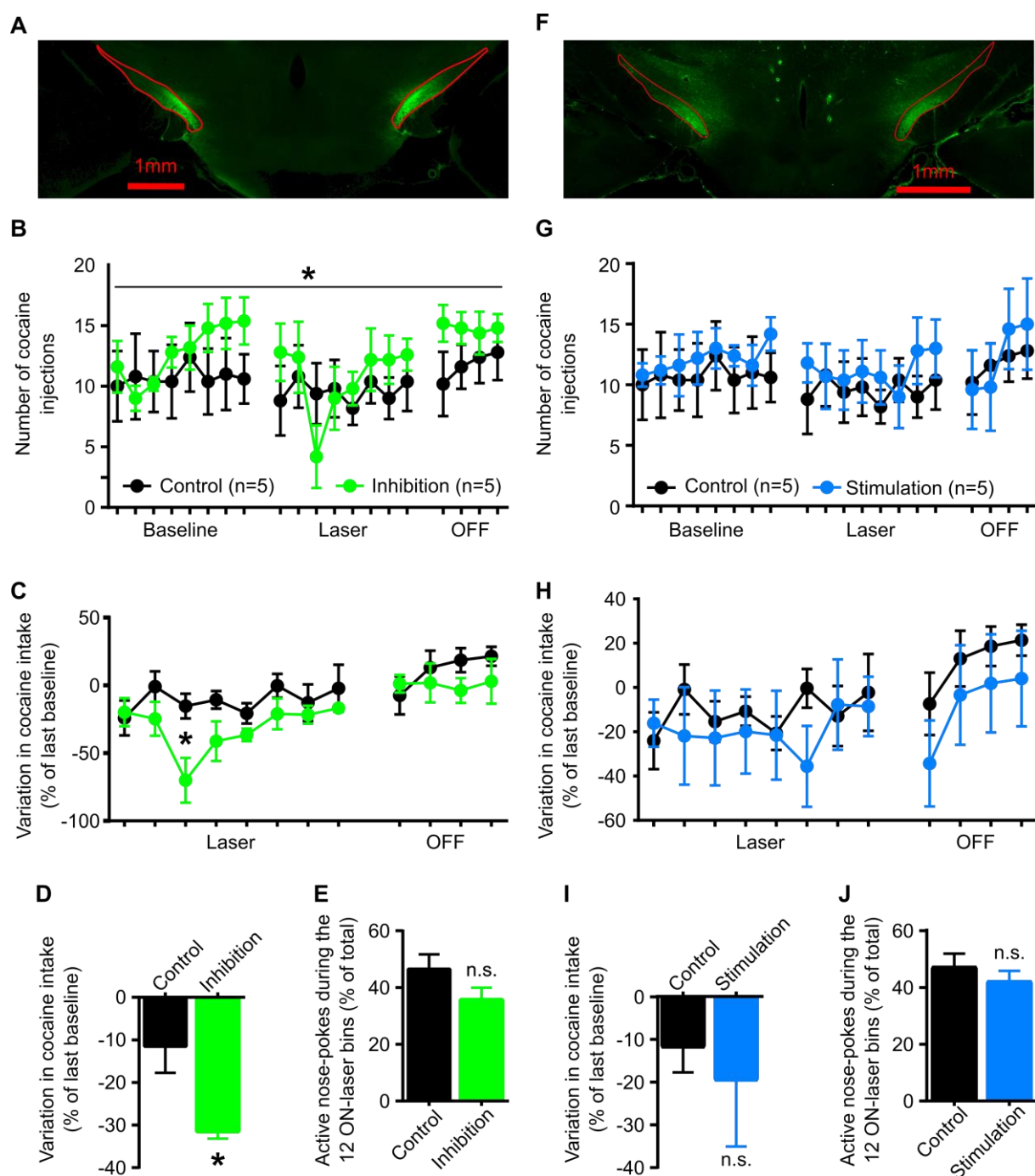


Fig. 3: STN optogenetic inhibition but not stimulation reduces cocaine intake in FR5 task. **A.** Example of STN fluorescence in the STN (red lines) of an animal expressing inhibitory opsins ARCHT. **B.** Laser inhibition reduced the number of cocaine injections obtained by the rats in the FR5 (Mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}} (19, 152) = 1.958, P = 0.0137$). **C.** Normalization using the performance during the last day of baseline further highlighted this decrease (Mixed ANOVA, $F_{\text{Group}} (1, 8) = 5.772, P = 0.0430$; Sidak post-hoc test: *, $P < 0.05$).

D. Averaged performance across the eight sessions of laser inhibition revealed a lower level of intake compared to controls (Mann Whitney test, $P = 0.0317$). **E.** The percentage of active nose-poke when the laser stimulation was turned ON (i.e. during laser bins) was calculated and was not different between stimulation and control group (Mann Whitney test, $P = 0.2222$). **F.** Typical image of fluorescence in the STN (red lines) of an animal expressing excitatory opsins CHETA-TC. **G.** 130Hz laser stimulation did not changed the number of cocaine injection taken by the stimulated animals compared to the control group (Mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}}(19, 152) = 0.5815$; $P = 0.9151$). **H.** Normalization to the last day of baseline revealed a similar level of performance when controlling for inter- individual variability (Mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}}(11, 88) = 0.7318$, $P = 0.7053$). **I.** Average variation of performance over the 8 laser sessions did not emphasize any effect of 130Hz laser stimulation (Mann Whitney test, $P = 0.8889$). **J.** The percentage of active nose-pokes when laser stimulation was turned ON did not differ between ‘stimulation’ and ‘control’ groups (Mann Whitney test, $P = 0.9999$).

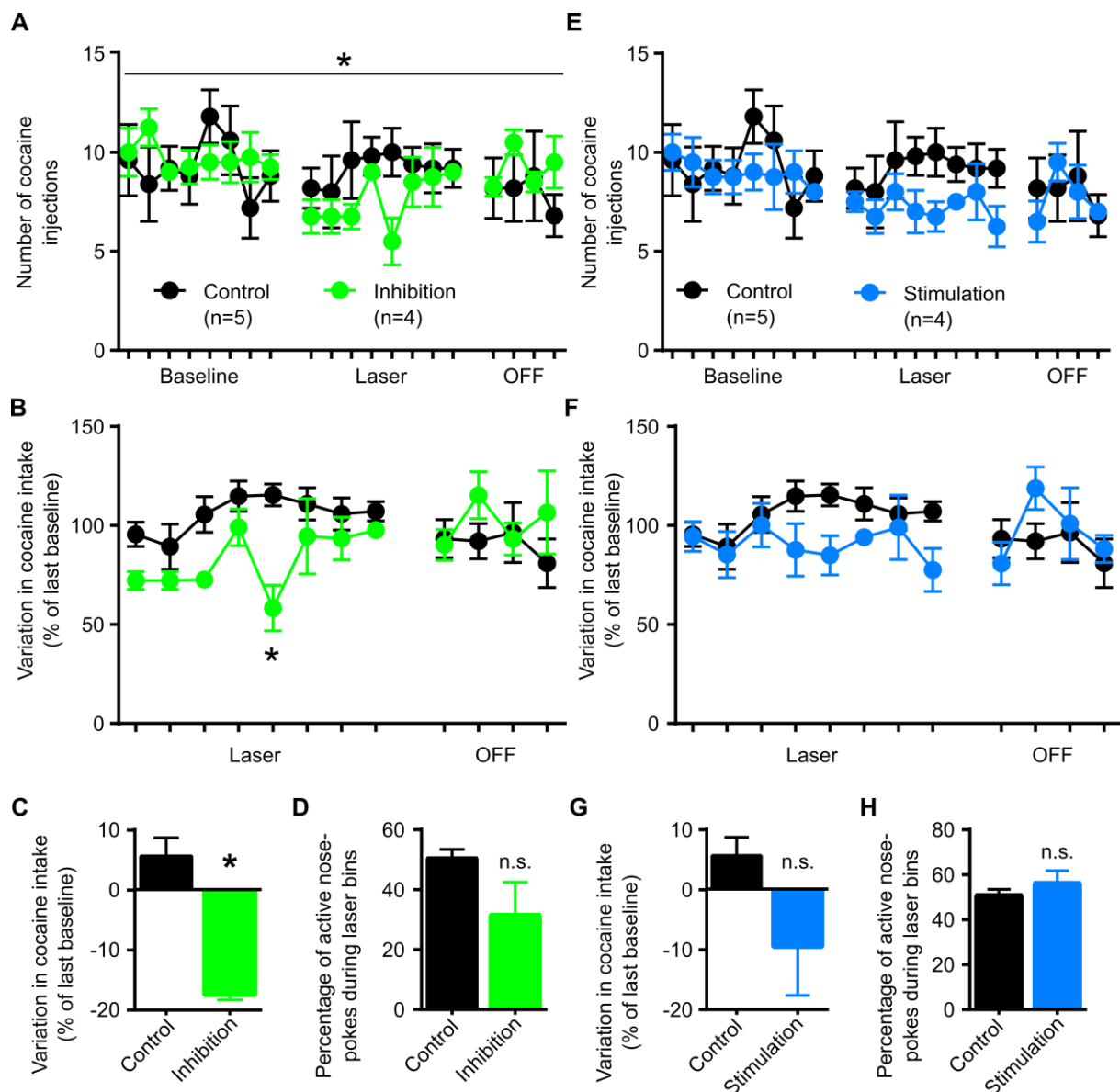


Fig. 4: STN optogenetic inhibition reduces cocaine intake in PR task and optogenetic stimulation produces a moderate trend toward a decrease. **A.** Laser inhibition reduced the number of cocaine injections obtained by the rats in the PR task (Mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}} (19, 133) = 1.972$, $P = 0.0138$, * interaction effect). **B.** Normalization of data by the last day of baseline allowed controlling for inter-individual variability and thus highlighted changes in cocaine intake during laser inhibition (Mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}} (11, 77) = 2.144$, $P = 0.0265$; Sidak post-hoc test: *, $P < 0.05$, vs control). **C.** Average variations in performance over the 8 laser sessions of inhibition further accentuated this decrease (Mann

Whitney test, $P = 0.0159$). **D.** The percentage of active nose-poke when the laser beam was turned ON (i.e. during laser bins) was not modified compared to controls (Mann Whitney test, $P = 0.2857$). **E.** 130Hz laser stimulation did not change cocaine intake of stimulated animals compared to the control group (Mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}}(19, 133) = 1.185$, $P = 0.2792$). **F.** Normalization to the last day of baseline did not highlight further variations in cocaine intake (Mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}}(11, 77) = 1.620$, $P = 0.1097$). **G.** Average performance over laser sessions revealed a similar level of intake (Mann Whitney test, $P = 0.2540$). **H.** Laser stimulation did not alter the pattern of nose-poke of stimulated animals compared to the control group (Mann Whitney test, $P = 0.4127$)

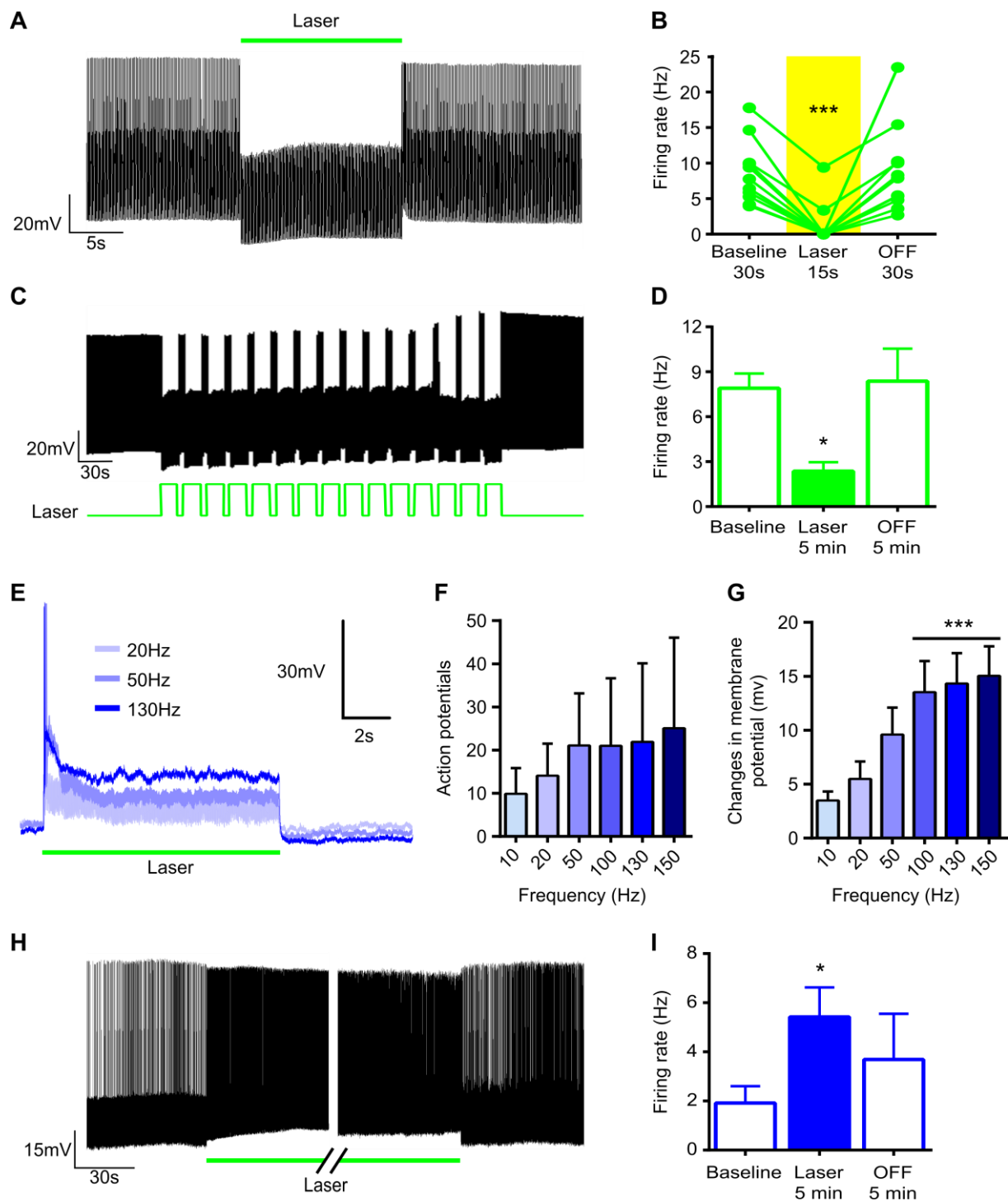


Fig. 5: Effects of optogenetic modulation on STN neurons. **A.** Typical response recorded in a STN neuron expressing ARCHT driven at a 10Hz frequency undergoing 15s of laser inhibition. **B.** Firing rate in STN neurons expressing inhibitory opsin ARCHT was reduced by a single 15s inhibitory light pulse (Friedman test, $P < 0.0001$; Dunn's post-hoc test: ***, $P < 0.001$, vs baseline, $n = 10$ cells). **C.** Example of response for a STN neuron during 5 min of

laser inhibition applied with the same pattern as during behavioral experiments. **D.** Firing rate in STN neurons expressing ARCHT was reduced by 5min of application of laser pattern used during behavioral testing (Friedman test, $P = 0.0207$; Dunn's post-hoc test: *, $P < 0.05$, vs baseline, $n = 7$ cells). **E.** Typical excitatory response recorded in current-clamp mode for a STN neuron expressing excitatory opsin CHETA-TC and facing 10s of laser stimulation at various frequencies: 20 (light grey), 50 (purple) and 130Hz (blue). **F.** Number of action potentials elicited during 10s of optogenetic stimulation (Friedman test, $P = 0.6145$, $n = 10$ cells). **G.** Variation of membrane potential caused by the 10s optogenetic stimulation at various frequencies (Friedman test, $P < 0.0001$; Dunn's post-hoc test: ***, $P < 0.001$, vs 10Hz, $n = 10$ cells). **H.** Example of response in CHETA-TC positive STN neuron at onset (left panel) and offset (right panel) of 5min laser stimulation at 130Hz used during behavioral testing. **I.** Average changes in firing rate induced by 5 min of 130Hz laser stimulation (Friedman test, $P = 0.0289$; Dunn's post-hoc test: *, $P < 0.05$, vs baseline, $n = 8$ cells).

SUPPLEMENTAL INFORMATION

Electrophysiology

Animals were anesthetized and perfused intra-cardiacally with ice-cold artificial cerebrospinal fluid (ACSF). 200 μ m coronal slices containing the STN were prepared in ice-cold ACSF. After being cut, the slices were maintained for 10 minutes at 33°C and then transferred to holding ACSF at room temperature. ACSF used for perfusion, cutting, and recovery contained NMDG as a sodium substitute and contained, in mM: 92 NMDG, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 30 NaHCO₃, 20 HEPES, 25 glucose, 2 thiourea, 5 Na-ascorbate, 3 Na-pyruvate, 0.5 CaCl₂ and 10 MgSO₄·7H₂O (pH: 7.35). ACSF used for holding slices prior to recording was identical, but contained 92 mM NaCl instead of NMDG and contained 1 mM MgCl and 2 mM CaCl₂. ACSF used to perfuse slices during recording was maintained at 31°C and contained, in mM, 125 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaHPO₄, 1 MgCl, 2.4 CaCl, 26 NaHCO₃ and 11 glucose. All ACSF preparations were saturated with 95% O₂ and 5% CO₂.

Cells were patched using glass pipets with resistance 3.5-5.0M Ω , filled with internal solution containing, in mM, 140 potassium gluconate, 5 NaCl, 2 MgCl₂, 10 HEPES, 0.5 EGTA, 2 ATP, 0.4 GTP (pH: 7.35). Series resistance was monitored during experiment with 10mV hyperpolarizing pulses and maintained below 20M Ω , or cells were discarded. Firing pattern of STN neurons was determined by injecting depolarizing currents during 500ms with 20pA increment steps.

Cells were optically stimulated through a 200 μ m fiber placed in the bath with light beam aimed at the STN. Intensity was set at 10mW for stimulation and 5mW for inhibition experiment, except when the influence of the light intensity was assessed.

For experiments testing the influence of light intensity and pulse width, cells were held at -60mV in current-clamp configuration and discrete light pulses were applied. When testing the influence of light intensity, pulse duration was set to 15s and 1s for inhibition and stimulation groups, respectively. Testing the influence of the pulse duration was performed at constant light intensity: 10mW (Stimulation) and 5mW (Inhibition).

Spontaneous- and cocaine-induced locomotor activity

Locomotor activity was measured as the distance traveled (in m) in a circular homemade Perspex open-field (60 cm diameter) with a video tracking performed with Bonsai (Open Ephys), recorded on a PC and analyzed offline. Rats were placed in the open-field for 30 min of habituation and were connected to the optic fiber cable and further recorded for 30 min during which they underwent laser stimulation for 2 bins of 5 min each. Their spontaneous locomotion was measured. For the measure of cocaine-induced locomotion, the animals were injected at the end of the habituation with either 0.9% NaCl (1 ml/kg) or one of the various doses of cocaine (5; 7.5 and 10 mg/kg, *s.c.*) whose order was counterbalanced in a pseudo-latin square manner, with a five-day interval between two injections to allow for washout. The doses were chosen according to previous studies in line with their reinforcing effect associated with limited effect on locomotion to avoid stereotyped behavior in case of potentiation by the STN manipulation (Baunez et al., 2005).

Histology

At the end of the experiment, the rats were deeply anesthetized with pentobarbital (Dolethal, *i.p.*) and perfused intracardiacally with 4% paraformaldehyde dissolved in PBS. The brains were extracted and after cryo-protection in 30% sucrose, they were frozen into liquid isopentane (-80°C) to be further cut in 40µm coronal slices with a cryostat

For the optogenetic experiments, the brain sections were examined for optic fibers location and for native fluorescence expression with an epifluorescence microscope (Zeiss, Imager.z2) immediately after being cut, except for the CHETA-TC animals, in which native fluorescence was present but required immuno-staining to control the exact boundaries of the viral expression.

Sections underwent a 90 min permeation step (PBS, 1% bovine serum albumin (BSA) 2% normal goat serum (NGS), 0.4% TritonX-100), 3x5min PBS washes, incubation with primary antibody (mouse anti-GFP, A11120, Life technologies; 1:200, in PBS 1% BSA, 2% NGS, 0.2% TritonX-100) at 4°C overnight. The sections were then washed 3x5min with PBS followed by 2h incubation at room temperature with secondary antibody (Goat anti-mouse Alexa 488, A11011, Life technologies, 1:400 in PBS 1% BSA, 2% NGS), and finally washed 3x5min with PBS before being mounted on to glass slides with homemade mounting medium.

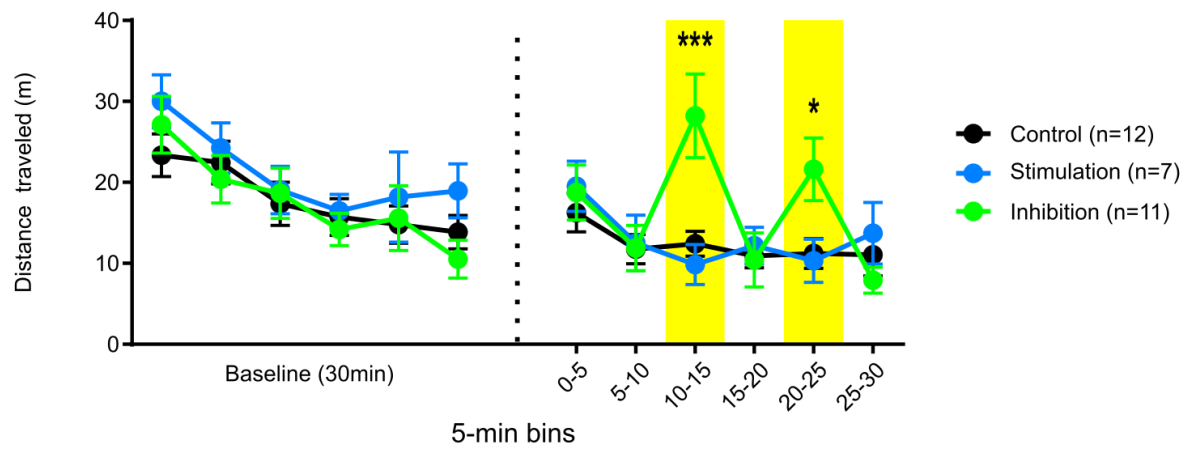
67 animals were used in the optogenetic procedure, among which 2 were excluded after loss of optic fiber implants, 3 for absence of fluorescence in either one or both STN, and 1 due to optic fiber misplacement.

Statistical analyses

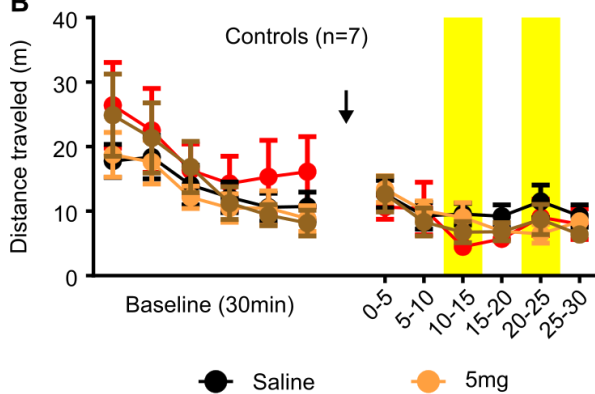
Data are expressed as mean $\pm$ SEM with the sample size indicated for each group. Analyses were performed with Prism (GraphPad) and Matlab (Mathworks) software. Behavioral data were analyzed with mixed-model design ANOVA (mixed ANOVA) with groups as between factor and sessions, time bins, or light parameters as a repeated within factor. Follow-up analysis was conducted using Sidak's post-hoc test for multiple comparisons or Fisher's post-hoc test for single comparison. Data regarding cocaine-induced locomotion were analyzed with 2-way Repeated Measure ANOVA with dose and time bins as repeated within factors. Two samples comparisons were analyzed with non-parametric Mann-Whitney test. Electrophysiological data were analyzed with Friedman test followed by Dunn's post-hoc test, variations in cells properties were analyzed with Kruskal-Wallis test or mixed ANOVA. Only *P*-values < 0.05 were considered significant.

SUPPLEMENTARY FIGURES

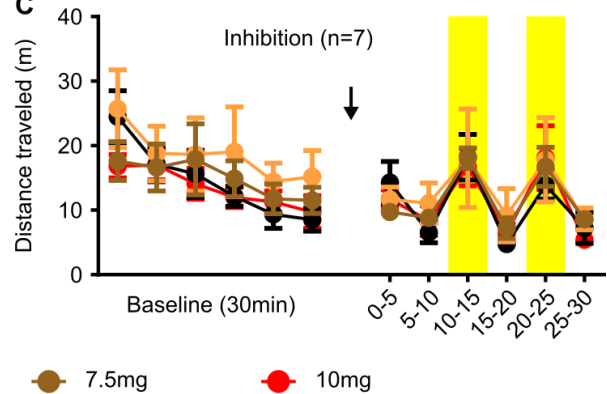
A



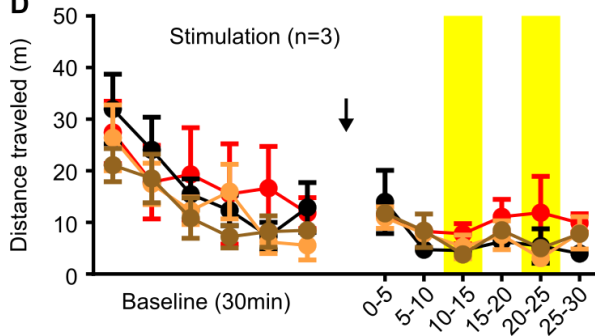
B



C

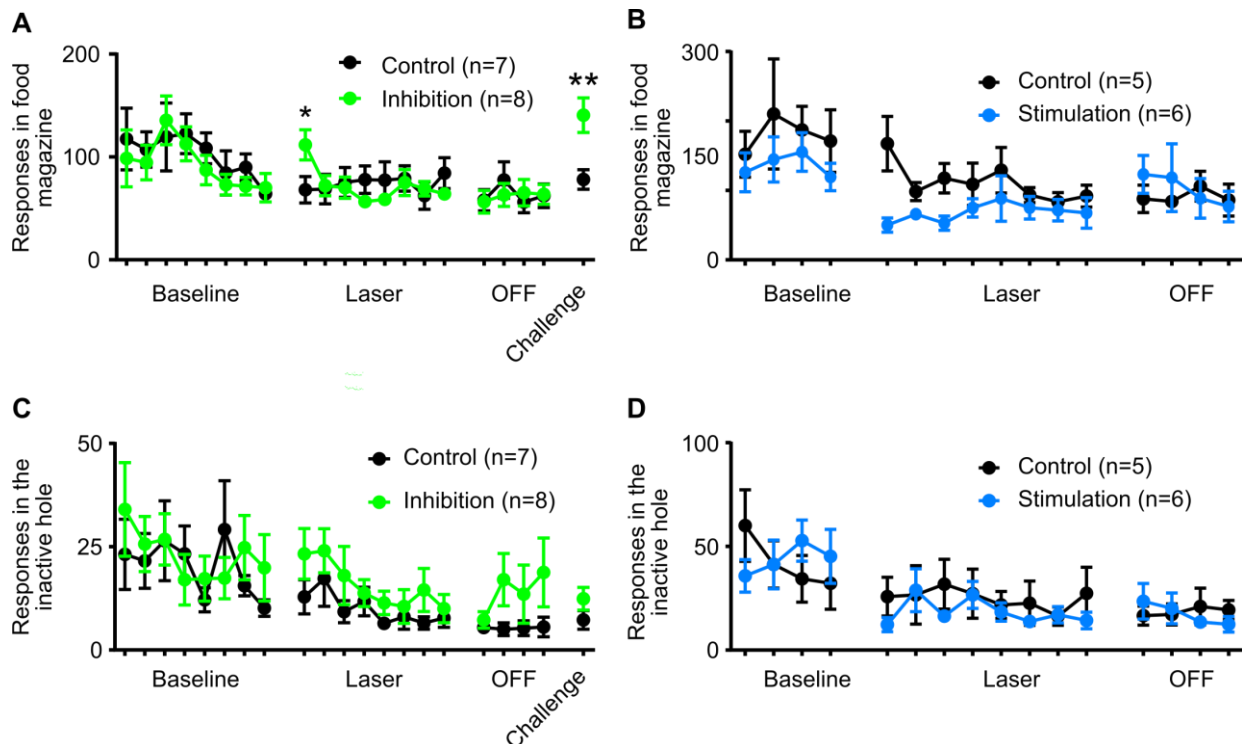


D



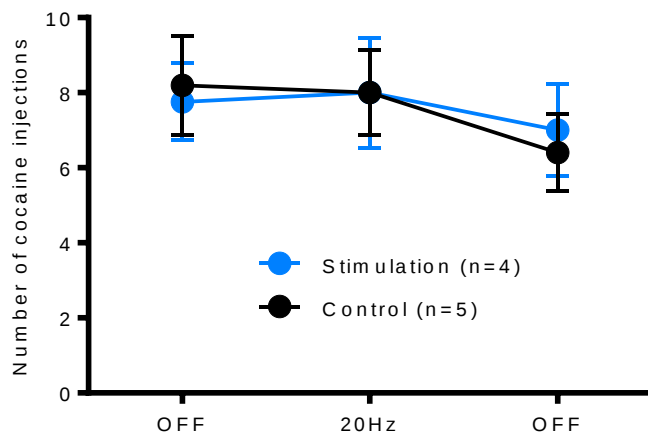
Supplementary Fig. 1: Effect of STN optogenetic modulation on rat spontaneous and cocaine-induced locomotion. **A.** Locomotor activity expressed in distance travelled (in m) per 5 min bins during the 30min of habituation (left) and 30min of test

(right) with 2 bins of laser activation (yellow) for the control (black dots), stimulation (blue dots) and inhibition (green dots) groups. There was a significant interaction effect when comparing 'inhibition' group to 'control' (mixed ANOVA, $F_{\text{Time bins} \times \text{subjects}} (5, 105) = 8.576, P < 0.0001$; Sidak's post-hoc test: * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$) while no effect was observable when comparing 'stimulation' and 'control' groups (mixed ANOVA, $F_{\text{Time bins} \times \text{subjects}} (5, 85) = 1.253, P = 0.2920$). **B – D.** Effect of STN optogenetic modulation on cocaine-induced locomotion tested with various doses of cocaine: 5mg/kg (orange), 7.5mg/kg (brown), 10mg/kg (red) and compared to the saline control (black) in control (**B.**), inhibition (**C.**) and stimulation (**D.**) groups. There was no effect of the cocaine dose on the locomotor activity in any of the 3 groups: 'control', 'inhibition' and 'stimulation' (Repeated Measure 2-way ANOVA, $F_{\text{Time bins} \times \text{dose}} (15, 120) = 1.288, P = 0.2202$; $F_{\text{Time bins} \times \text{dose}} (15, 120) = 0.4931, P = 0.9402$; $F_{\text{Time bins} \times \text{dose}} (15, 40) = 0.7500, P = 0.7207$, respectively). The laser beam activation produced an increase in locomotor activity in the 'inhibition' group regardless of the dose of cocaine (Repeated Measure 2-way ANOVA, $F_{\text{laser bins}} (5, 120) = 17.26, P < 0.0001$).

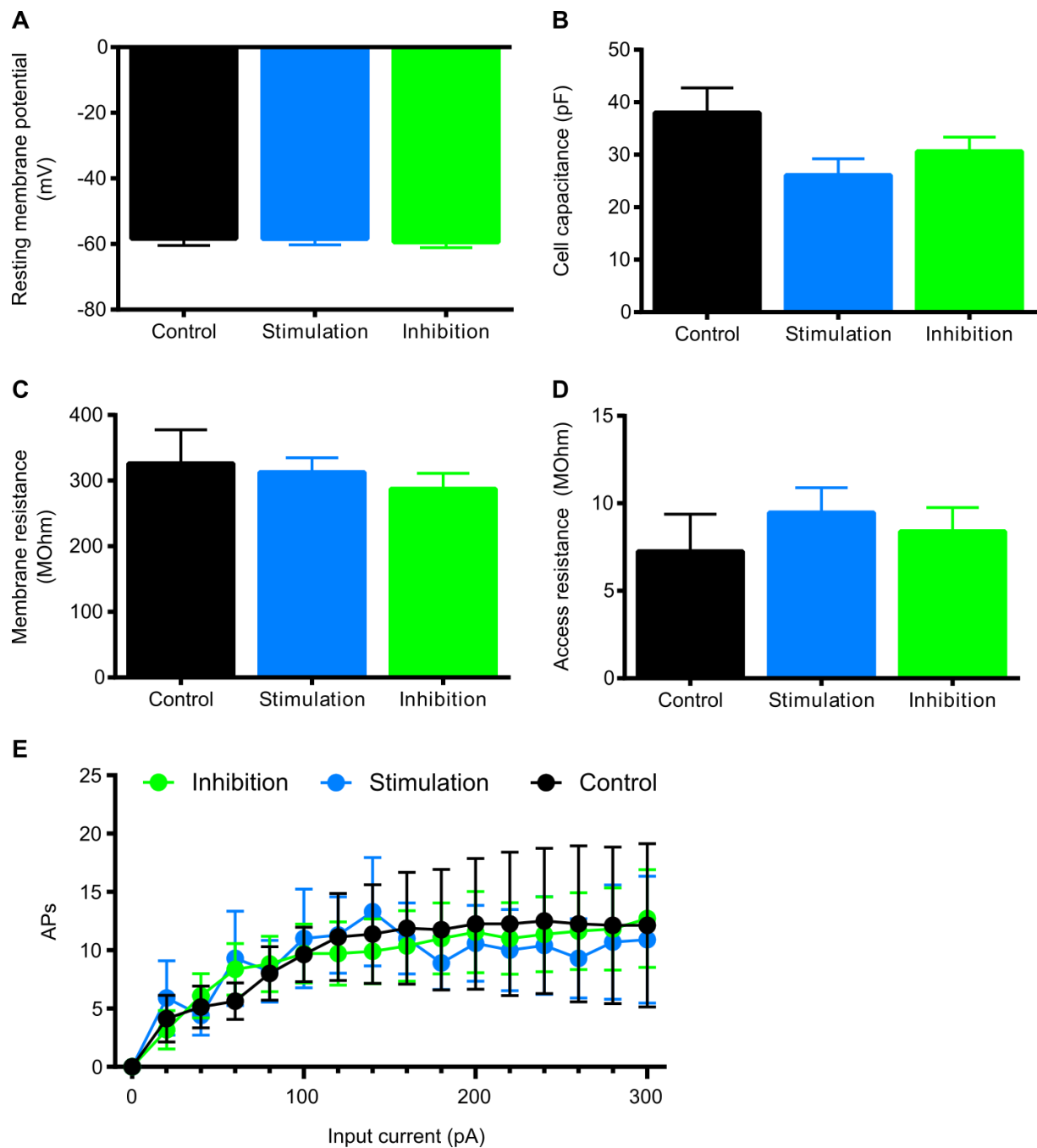


Supplementary Fig. 2: Effects of STN optogenetic modulation on food magazine visits and inactive hole responses recorded in the progressive ratio (PR) task illustrated for each session (8 sessions of baseline, 8 sessions with laser ON (i.e. Laser), 4 sessions with laser OFF (i.e. OFF) and 1 session with laser ON again (i.e. challenge)). **A.** Influence of STN optogenetic inhibition on the number of responses made in the food magazine. When the laser was turned on, there was a significant increase in food magazine responses at baseline-laser transition (1st session of the laser ON period)(mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}} (1, 13) = 8.809$, $P = 0.0109$) and at off-challenge transition (mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}} (1, 13) = 7.968$, $P = 0.0144$). **B.** Influence of STN 130Hz optogenetic stimulation on the responses made in the food magazine. The 130 Hz stimulation induced a strong trend towards decreased number of responses in the stimulated animals (mixed ANOVA, $F_{\text{Group}} (1, 9) = 4.864$, $P = 0.0549$). **C.** Effect of STN optogenetic inhibition on the number of responses made in the inactive hole. The number of erroneous responses remained unaffected either during baseline-laser transition (mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}} (1, 13) =$

0.008801, $P = 0.9267$) or during the laser challenge (mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}}$ (1, 13) = 1.267, $P = 0.2807$). **D.** Effect of STN optogenetic 130 Hz stimulation on the number of responses made in the inactive hole. The number of erroneous responses was not affected by the 130Hz optogenetic stimulation (mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}}$ (1, 9) = 3.286, $P = 0.1033$). Fisher's post-hoc test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, vs control.

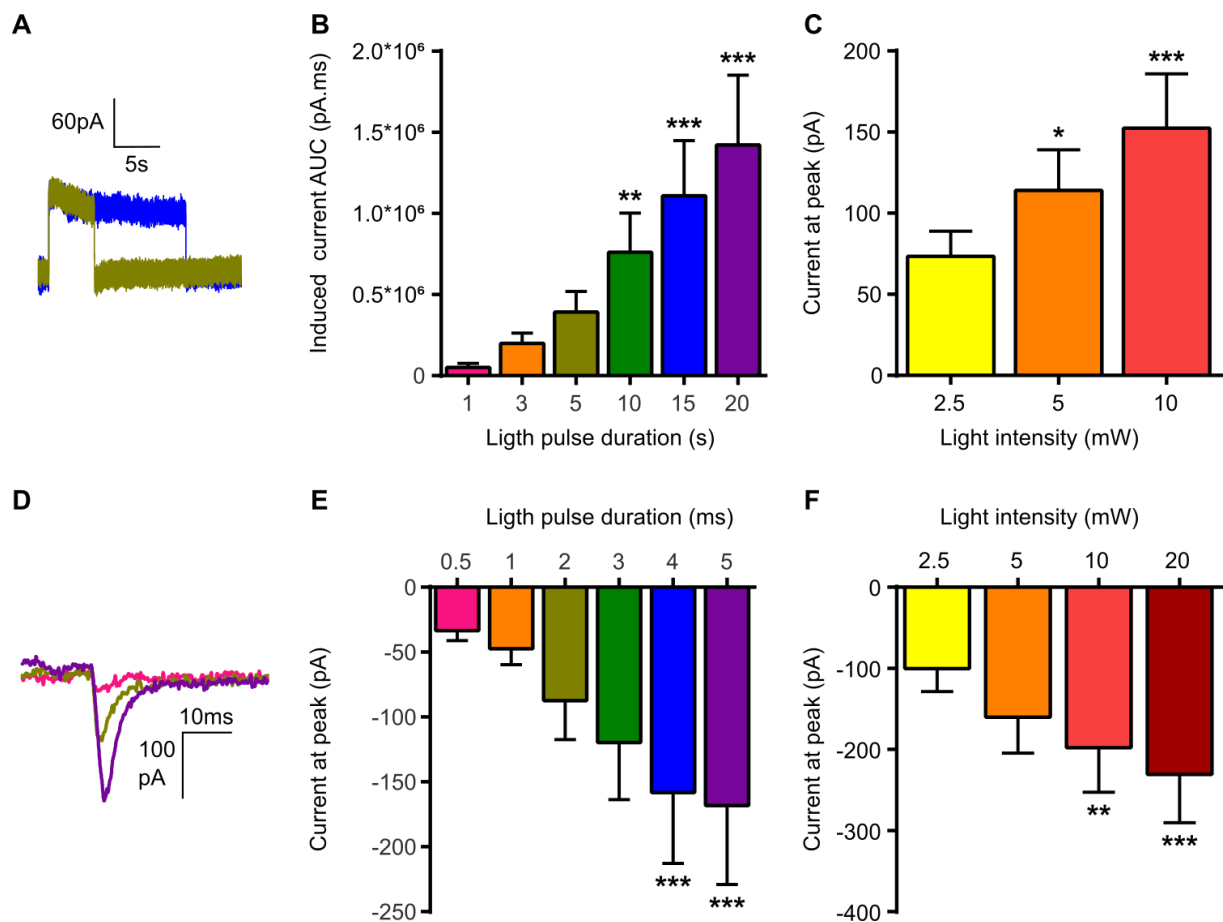


Supplementary Fig. 3: Effect of acute 20 Hz optogenetic stimulation applied during one session of progressive ratio for cocaine. The motivation of the animals (controls in black and stimulated in blue) is expressed in number of injections obtained during one session with laser OFF, one session with laser ON (20 Hz) and one last session with laser OFF. The acute 20Hz optogenetic stimulation did not alter motivation for cocaine (mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{subjects}}(2, 14) = 0.3486$, $P = 0.7116$).



Supplementary Fig. 4: Cells properties of STN neurons after viral infection recorded in whole cell configuration for controls (EYFP, n=8 cells, black bars), stimulation (CHETA-TC, n=10 cells, blue bars) and inhibition (ARCHT, n=11 cells, green bars).

Cell resting membrane potential (**A.**, Kruskal-Wallis test, $P = 0.8214$), cell capacitance (**B.**, Kruskal-Wallis test, $P = 0.0644$), membrane resistance (**C.**, Kruskal-Wallis test, $P = 0.7397$), and access resistance (**D.**, Kruskal-Wallis test, $P = 0.3158$) were unaffected. **E.** The average number of action potentials (APs) elicited by a 500ms step of hyperpolarization was not modified due to the presence of the opsins (**E.**, mixed ANOVA, $F_{\text{Frequency} \times \text{Group}} (30, 390) = 0.2480$, $P > 0.9999$).



Supplementary Fig. 5: Evaluation of light stimulation parameters in cells expressing inhibitory opsins (ARCHT, n=11 cells) or excitatory opsins (CHETA-TC, n=10 cells).

A. Example of light induced inhibitory currents in one STN neuron expressing ARCHT by a 5s (brown) and 15s (blue) pulse. **B.** Average area under the curve (AUC) calculated for different durations of light pulses with intensity set at 5mW (Friedman test, $\chi^2(5) = 51.88$, $p < 0.0001$, Dunn's post-hoc test: **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$; vs 1s pulse). **C.** Average current induced by a single 15s pulse applied with different light intensities (Friedman test, $\chi^2(2) = 22.00$, $p < 0.0001$; Dunn's post-hoc test: *, $p < 0.05$; ***, $p < 0.001$). **D.** Example of induced depolarizing current in CHETA-TC cells induced by a 0.5ms (pink), 2ms (brown) or 5ms (purple) light pulse. **E.** Average induced current in CHETA-TC cells depending on the duration of the light

pulse with intensity set at 10mW (Friedman test, $\chi^2 (5) = 46.00$, $p < 0.0001$; Dunn's post-hoc test: ***, $p < 0.001$; vs 0.5ms pulse). **F.** Induced current by a 1s light pulse as a function of light intensity (Friedman test, $\chi^2 (3) = 28.92$, $p < 0.0001$; Dunn's post-hoc test: **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$; vs 2.5mW).

D. Le NST et le comportement d'autostimulation

Avec Y Pelloux, nous avons imaginé et conduit les expériences d'autostimulation.

1) Méthode

ICSS : procédure d'autostimulation intracrânienne du NST. Nous avons conduit des expériences d'autostimulation intracrânienne ou ICSS (« intracranial self-stimulation ») sur des rats. Nous leur avons permis de s'administrer directement au niveau du NST un quantum de stimulation électrique ou optogénétique. Les tâches d'ICSS se sont déroulées selon une procédure de FR1, avec une durée totale de la session de 30min. Chaque visite au niveau du trou actif déclenchait l'administration d'une stimulation électrique à 130Hz, avec des pulses de 80µs et une durée totale de 3s. Pour l'analogue optogénétique, la durée totale de la modulation était la même, dans le cas de la stimulation, le laser était illuminé avec une fréquence de 130Hz, des pulses de 2ms et une intensité de 10mW. Concernant l'inhibition, le laser était allumé en continu pour une durée de 3s avec une intensité de 5mW.

Electrodes de stimulation pour l'ICSS : Les électrodes ont été fabriquées selon les mêmes procédures que celles décrites pour les deux études précédentes. En résumé, une électrode bipolaire, composée de 2 filaments de platine, a été implantée dans chaque NST. Ces électrodes sont reliées à un connecteur électrique et l'ensemble est fixé à l'aide de ciment dentaire. La stimulation a été délivrée via un générateur de signal (DS8000, WPI) avec des pulses de 80µs. L'intensité est ajustée pour chaque rat en dessous du seuil d'apparition des mouvements hyperkinétiques de la patte contralatérale (50-150µA).

2) Résultats

Nous avons mis en évidence pour la première fois que la SCP-HF permet de mettre en place un comportement d'autostimulation (Figure 18). Ce comportement semble supporté uniquement par les hautes fréquences de stimulation ($\geq 100\text{Hz}$) mais pas par les basses fréquences (ANOVA à 2 voies en mesures répétées, $F_{\text{Fréquence} \times \text{trou}} (6, 36) = 6.491$; $P = 0.0001$). En revanche la stimulation ou l'inhibition optogénétique ne semblent pas en mesure

de générer un comportement d'ICSS car aucun des groupes 'stimulation' ou 'inhibition' ne montre de différence significative par rapport au groupe 'contrôle' n'ayant pas reçu d'opsines (Mixed ANOVA, $F_{\text{Groupe} \times \text{Trou}} (1, 12) = 0.03136$, $P = 0.8624$, and $F_{\text{Groupe} \times \text{Trou}} (1, 13) = 1.605$, $P = 0.2275$, respectivement). Cependant les données montrent que les trois groupes de rats ont une préférence marquée pour le trou actif comparé au trou inactif, ceci est vraisemblablement le résultat de leur entraînement pour l'apprentissage du FR1 avec des granules de sucre, et la persistance du CS associé (Mixed ANOVA, $F_{\text{Hole}} (1, 12) = 53.26$, $P < 0.0001$ pour le groupe 'stimulation', and $F_{\text{Hole}} (1, 13) = 50.77$, $P < 0.0001$ pour le groupe 'inhibition'). En conséquence, nous avons isolé un comportement particulièrement important pour la SCP-HF du NST, et notamment pour ses effets limbiques, mais dont le mécanisme semble indépendant des corps cellulaires du NST. Il est probable que le réseau des afférences et des structures voisines, notamment de la voie hyperdirecte, soit fortement impliqué dans les mécanismes qui supportent ce comportement d'ICSS.

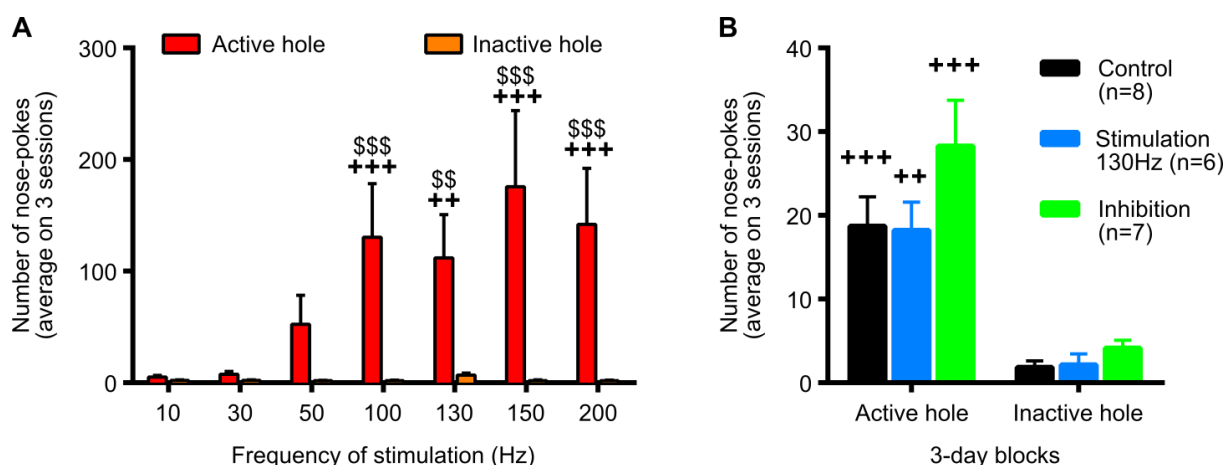


Figure 18 : La SCP-HF du NST est en mesure de générer un comportement d'ICSS. A. Les rats développent une forte préférence pour le trou associé à 3s de stimulation électrique particulièrement pour les hautes fréquences. **B.** La modulation optogénétique n'a pas permis de mettre en évidence une différence par rapport au groupe contrôle (noir). En revanche les rats des 3 groupes constitués une préférence pour le trou actif. ++, $p < 0.01$; +++, $p < 0.001$; trou actif comparé au trou inactif. \$\$, $p < 0.01$; \$\$\$, $p < 0.001$ contre 10 et 30Hz.

E. Analyse du rôle de la voie hyperdirecte dans les processus motivationnels, étude électrophysiologique et comportementale.

Afin de caractériser la contribution et le rôle de la voie hyperdirecte dans la motivation, nous avons tenté de moduler son activité par diverses approches expérimentales. En parallèle, nous avons utilisé différents indicateurs pour évaluer son influence sur les comportements motivés.

1) Conséquences de la modulation de la voie hyperdirecte par optogénétique sur l'activité neuronale du NST en lien avec le codage des récompenses

La première approche que nous avons utilisée consiste à moduler l'activité des projections hyperdirectes avec l'optogénétique. Pour ce faire nous avons d'abord déterminé, parmi les aires corticales associatives et limbiques, celles qui seraient le plus à même d'impacter l'activité du NST chez le rat (Kita et al., 2014). Nous avons pu ainsi voir que les cortex cingulaire antérieur et infralimbique émettent de nombreuses projections vers le NST, et plus particulièrement vers les territoires associatifs et limbiques.

Avant de manipuler la voie hyperdirecte, dans un premier temps, nous avons essayé de moduler l'activité du cortex cingulaire antérieur directement en utilisant une approche similaire à celle décrite dans l'article 3. Nous avons injecté des opsines inhibitrices ou la protéine contrôle EYFP au niveau de cette structure. Puis nous avons appliqué localement la modulation optogénétique dans les tâches opérantes de FR5 et PR avec de la nourriture sucrée comme récompense, de façon identique aux procédures décrites dans l'article 3. Les résultats nous indiquent que le cortex cingulaire antérieur ne semble pas être impliqué dans les mécanismes régulateurs de la motivation pour la nourriture. Par ailleurs, nous avons pu vérifier a posteriori par une approche de patch clamp in-vitro que les opsines étaient toujours fonctionnelles après l'ensemble de nos manipulations. Il semble donc que le cortex cingulaire antérieur a une faible contribution dans les comportements motivés chez le rat. Pour étudier la voie hyperdirecte, nous avons donc décidé de ne pas cibler celle issue du cortex cingulaire antérieur, mais de cibler une voie plus limbique encore.

En raison d'un nombre élevé de projections vers le NST, le cortex infralimbique semble de ce point de vue une cible de choix (Kita et al., 2014). L'approche que nous avons développée visait cette fois-ci à identifier la contribution de cette voie en utilisant des

enregistrements électrophysiologiques afin de comprendre comment celle-ci peut moduler l'activité du NST. Afin de moduler l'activité de la voie hyperdirecte nous avons au préalable injecté les neurones du cortex infra-limbique afin de leur faire exprimer soit l'opsine excitatrice CHETA-TC soit la protéine contrôle EYFP.

Les animaux ont ensuite été conditionnés durant plusieurs mois dans une tâche comportementale élaborée à partir de celle pour laquelle nous avons une bonne compréhension de l'activité électrophysiologique du NST grâce aux travaux précédents de l'équipe (Lardeux et al., 2009, 2013; Breysse et al., 2015). Cette tâche permet aux rats d'obtenir trois types de récompense : des solutions de saccharose concentrées à 4, 10 et 32% (Figure 19). Sur un total de 120 essais, la distribution des récompenses est faite de manière aléatoire avec au maximum 40 distributions pour chacune. Pour chaque essai le rat doit maintenir un appui sur un unique levier durant un temps variable. Le délai entre l'appui sur le levier et l'apparition du CS prédisant la récompense délivrée est fixe (400ms), mais le délai entre le CS et le signal sonore autorisant le rat à relâcher son appui est variable empêchant toute anticipation (300, 550 ou 800ms).

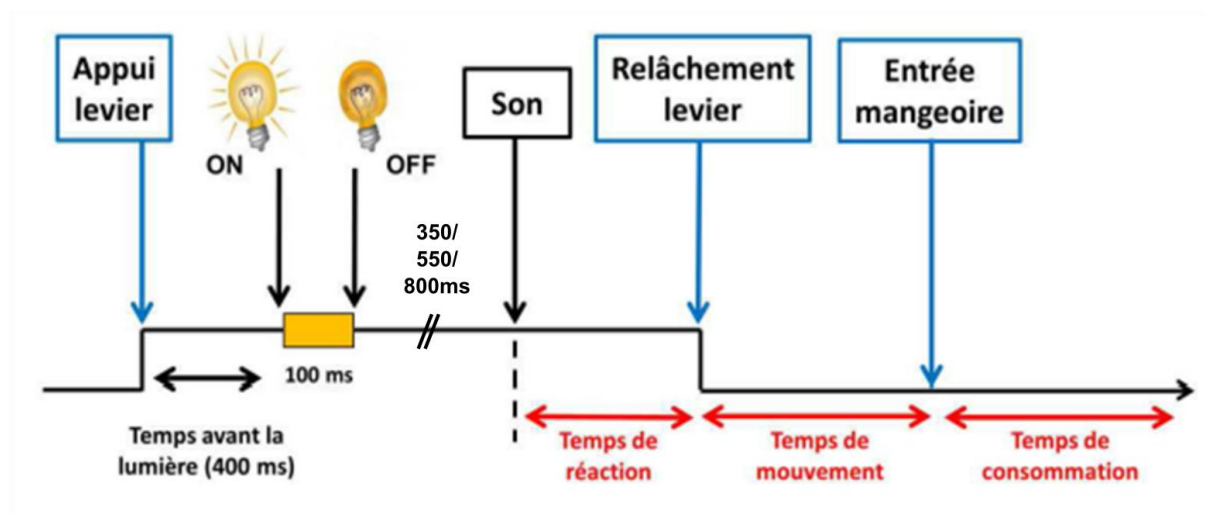


Figure 19 : Présentation d'un essai typique dans la tâche de conditionnement pour les 3 récompenses sucrées.

En parallèle de ce conditionnement, j'ai développé un système d'optrodes (électrodes d'enregistrement couplées à des fibres optiques pour la modulation optogénétique) montée sur un support mobile afin de pouvoir contrôler librement la position des électrodes à l'intérieur du cerveau du rat (Figure 20).

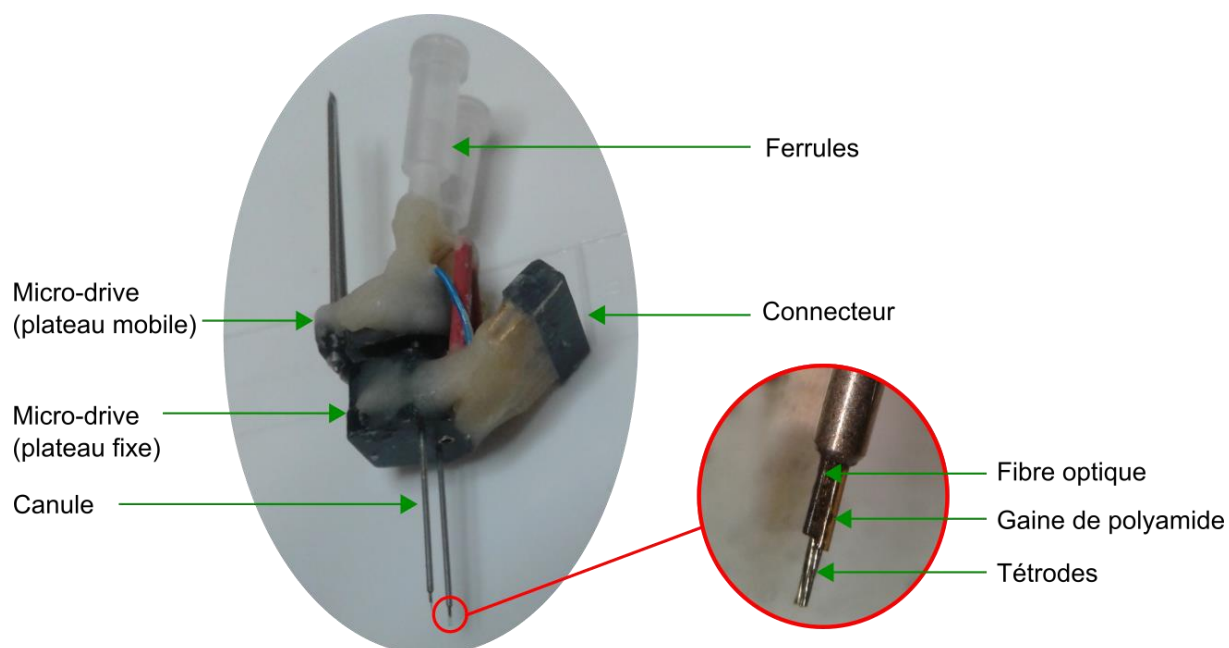


Figure 20 : Présentation des optrodes conçues pour l'enregistrement in-vivo de l'activité du NST. Le mouvement du plateau mobile par rapport au plateau fixe est permis par une vis micrométrique. Les optrodes sont solidarisées avec le plateau mobile et suivent tout mouvement de celui-ci. Afin de protéger davantage les électrodes, celles-ci sont enveloppées dans un capillaire en polyamide pour éviter tout dommage lors de l'insertion dans la canule et du passage de la fibre optique.

Nous avons été en mesure d'enregistrer des activités neuronales au niveau du NST. En revanche nous n'avons pas pu mettre en évidence d'effet de la stimulation optogénétique des afférences de la voie hyperdirecte sur l'activité du NST.

Les analyses histologiques effectuées à posteriori ne nous ont pas permis de mettre en évidence la présence de fluorescence suite à la transfection virale, ce qui suggère que la transfection n'a pas été suffisamment efficace pour être détectée et donc laisse à penser que les opsines n'ont pas été convenablement exprimées dans la voie hyperdirecte.

2) Modulation de la voie hyperdirecte par chémogénétique (DREADDs) : une stratégie double pour maintenir la spécificité de la manipulation

a) Stratégie mise en place

Afin de contourner d'une part les difficultés rencontrées au cours de la tentative de modulation de la voie hyperdirecte par optogénétique et d'autre part les difficultés liées à

l'inhibition optogénétique de projections et de terminaisons neuronales (en effet, s'il est facile de générer des potentiels d'actions au niveau terminal avec la channelrhodopsine, l'inhibition de ces mêmes terminaisons se révèle parfois beaucoup plus délicate. Cette difficulté est notamment liée au fait que les courants générés induisent une hyperpolarisation de l'ordre de -30mV qui se révèle insuffisante pour empêcher la propagation d'ondes de dépolarisation qui ont une magnitude de 60 à 80mV (Zalocusky et al., 2013)), nous avons opté pour une stratégie permettant de moduler les neurones de la voie hyperdirecte mais dans laquelle la modulation s'effectue directement au niveau des corps cellulaires situés dans le cortex préfrontal.

L'objectif consiste à faire exprimer uniquement par les neurones préfrontaux qui projettent vers le NST des récepteurs modifiés qui peuvent être activés uniquement en présence de leur ligand artificiel la Clozapine-N-Oxyde (CNO). Ce ligand absent de l'organisme en temps normal, permet d'activer les récepteurs une fois présents dans le système pour une période allant de quelques dizaines de minutes à plusieurs heures.

Cette stratégie repose sur l'utilisation et la combinaison de deux vecteurs viraux afin de ne sélectionner que les neurones de la voie hyperdirecte. Nous avons dans un premier temps injecté au niveau du cortex préfrontal un virus adéno-associé permettant de transfecter les neurones avec une séquence codant pour une version modifiée des récepteurs appelée DIO-DREADDs. En effet à cause de la séquence DIO transportée, les récepteurs sont rendus inopérants par la présence d'un codon STOP. Ce codon STOP est entourée de séquences dites « lox » qui peuvent être reconnues par la recombinaise Cre, qui va alors exciser la séquence contenant le codon STOP et permettre l'expression des récepteurs. Afin de permettre l'expression de ces récepteurs uniquement dans les neurones de la voie hyperdirecte, nous avons utilisé un virus de type Cav2-Cre-GFP. Ce virus est doté de propriétés rétrogrades, il est capable d'infecter les neurones au niveau des terminaisons synaptiques puis d'utiliser la machinerie cellulaire pour migrer depuis les terminaisons jusqu'au corps cellulaire où il va pouvoir lancer son cycle de réplication. Cette version modifiée du virus permet d'induire l'expression de la recombinaise Cre dans les neurones qui ont des terminaisons synaptiques au niveau de la zone où est injecté ce virus. En conséquence nous avons injecté ce virus au niveau du NST, qui a pu remonter par les afférences qui arrivent au NST et notamment celles de la voie hyperdirecte. Une fois intégré au niveau du noyau des cellules du cortex préfrontal, le CAV2-Cre-GFP permet l'expression de la recombinaise Cre au niveau des neurones préfrontaux de la voie hyperdirecte (Figure 21). Les mêmes neurones qui ont au préalable

reçu l'AAV contenant la séquence du récepteur DREADD, voient ces séquences activées par excision des séquences Lox-STOP-Lox, ce qui permet l'expression spécifique des DREADDs au sein des neurones de la voie hyperdirecte, qui ne nécessitent plus qu'une injection de CNO par voie systémique afin d'être activés et donc de moduler l'activité de la voie hyperdirecte.

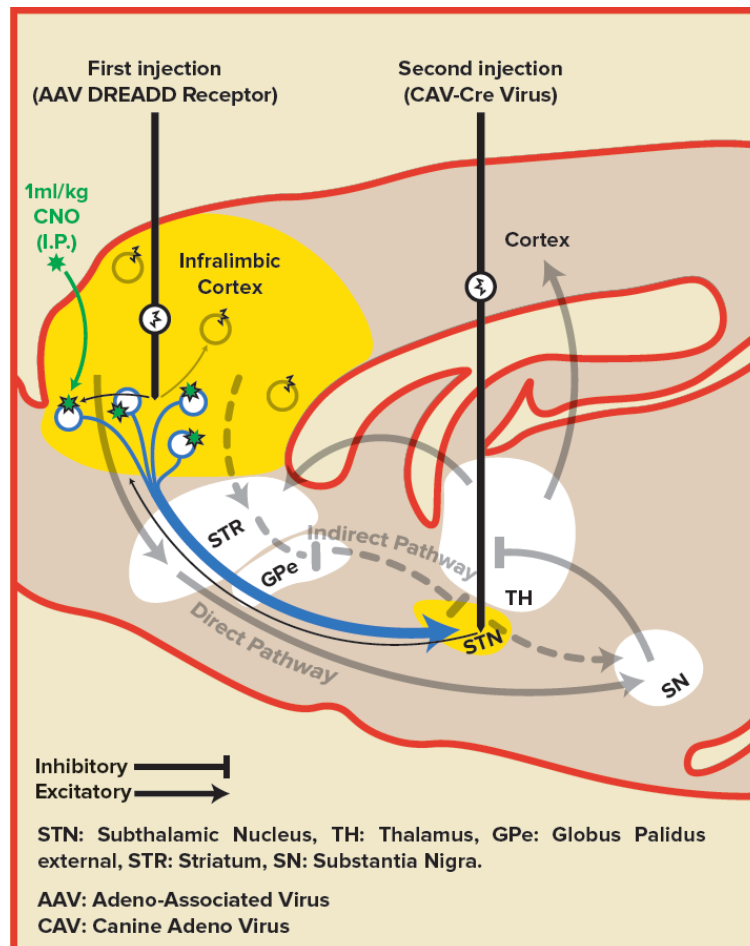


Figure 21 : Stratégie de modulation de la voie hyperdirecte. Un premier virus est injecté au niveau du cortex infralimbique, qui permet de transfecter les neurones avec une séquence DIO-DREADD. Le second virus CAV-Cre est injecté dans le NST. Etant doté de propriétés rétrogrades il remonte les projections afférentes du NST, et induit exclusivement au niveau cortical l'excision de la séquence 'DIO'. Cette dernière étape permet l'expression des DREADD dans les neurones de la voie hyperdirecte issue du cortex infralimbique. Ces derniers pourront ensuite être activés par une injection systémique de CNO. D'après l'illustration faite par Kayson Fakhar.

Nous avons ainsi préparé 3 groupes d'animaux ayant chacun reçu un virus AAV différent. Le groupe contrôle a reçu un virus permettant uniquement l'expression de la protéine fluorescente mCherry, le groupe « stimulation » a reçu la séquence codant pour le

récepteur hM3Dq qui permet d'augmenter l'activité du neurone cible. Enfin le groupe « inhibition » a reçu la séquence de la protéine hM4Di qui permet d'inhiber les neurones une fois en présence du ligand CNO. Les animaux des différents groupes ont ensuite été soumis à différents tests comportementaux afin d'évaluer comment l'activité de la voie hyperdirecte influence leurs performances dans ces tests mettant en jeu la motivation.

Pour évaluer l'influence spécifique de la modulation de la voie hyperdirecte par l'activation des DREADDs, les animaux ont reçu une heure avant le démarrage des tests, une injection i.p. contenant soit une solution saline soit le CNO dilué à 1mg/kg. L'injection a été réalisée pour tenir compte du temps nécessaire pour l'action du CNO au niveau du système nerveux central via sa retro-conversion en clozapine (Gomez et al., 2017).

b) Tests effectués

Afin d'évaluer la contribution de la voie hyperdirecte dans les comportements motivés, nous avons utilisé des tests comportementaux semblables à ceux qui ont été décrits dans la partie précédente. La motivation pour la nourriture a été mesurée au travers de procédures de FR5 et de PR. Nous avons entraînés les trois groupes de rats 'contrôle', 'inhibition' et 'stimulation' à travailler pour de la nourriture sucrée dans des procédures de renforcement continu. Le ratio a progressivement été augmenté pour aboutir à une procédure de FR5 de façon analogue à ce qui a été effectué pour l'article N°3. Après une période de 6 jours d'entraînement, nous avons ensuite évalué l'effet d'une injection de CNO (1mg/kg) ou de solution saline sur leur performance selon un ordre pseudo-aléatoire.

Nous avons également vérifié l'impact de la modulation de la voie hyperdirecte sur la locomotion spontanée et la locomotion induite par la cocaïne. La locomotion des animaux dans un open-field a été enregistrée pendant 60min à l'aide du logiciel de vidéo-tracking Bonsai (Open-Ephys). Les rats ont été habitués les jours précédents à l'environnement grâce à 3 sessions de 15min. Chaque jour de test, les rats ont reçu une première injection (CNO 1mg/kg ou NaCl 0,9%) une heure avant le démarrage du test pour tenir compte de la durée d'action du CNO, puis une seconde injection de cocaïne (15mg/kg) ou de NaCl (Saline). Ainsi les rats ont été testés dans 4 conditions « CNO/Saline », « CNO/Cocaïne », « Saline/Cocaïne » et « Saline/Saline » dont l'ordre a été défini selon un carré-latin. Un délai

de 4 jours a été respecté entre chaque injection pour éviter des interactions entre les conditions. Ces tests ont été effectués alors que les animaux n'avaient pas été exposés à la cocaïne en auto-administration.

Les animaux ont ensuite été implantés avec des cathéters d'auto-administration conformément aux procédures décrites précédemment. Ils ont été soumis aux procédures de FR5 puis de PR.

c) Résultats obtenus

Les résultats présentés ici sont à considérer avec précaution, car nous sommes en train d'effectuer les analyses histologiques, il s'agit donc de données préliminaires. Dans la tâche de FR5, l'injection de CNO n'a pas modifié le nombre de granules obtenues par les animaux dans aucun des trois groupes considérés (Figure 22, Mixed ANOVA, $F_{\text{groupe} \times \text{sujets}} (11, 110) = 0.6157$, $P = 0.8121$, inhibition contre contrôle ; et $F_{\text{groupe} \times \text{sujets}} (11, 110) = 1.864$, $P = 0.518$, stimulation contre contrôle). De façon similaire nous n'avons pas pu mettre en évidence un éventuel effet à long terme du CNO sur la performance des rats.

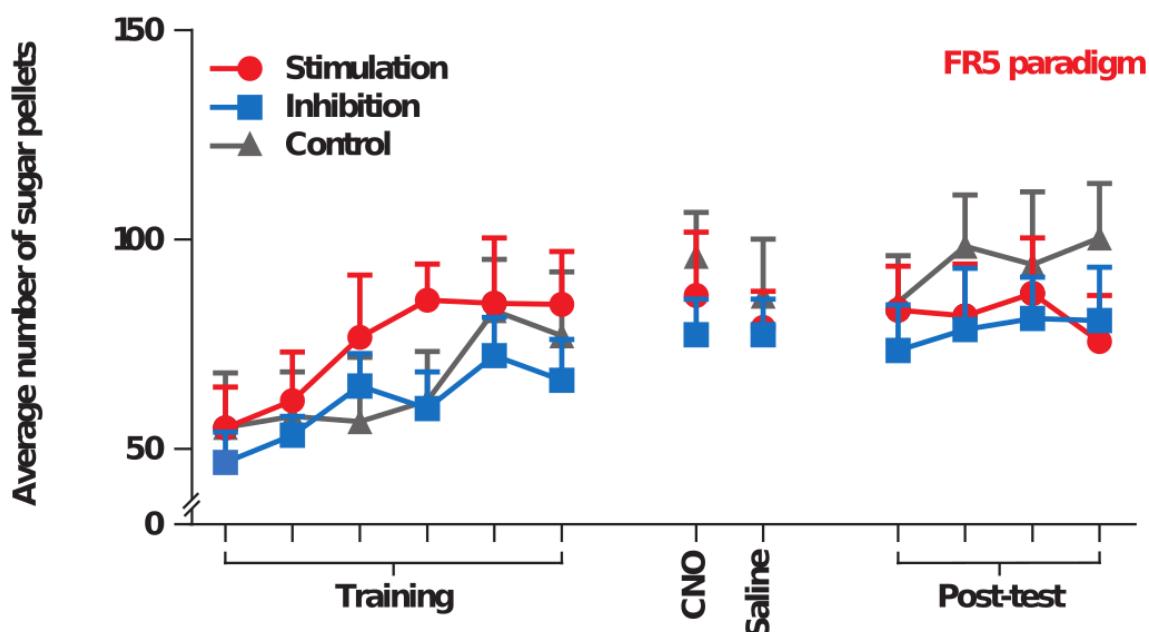


Figure 22 : Evolution du nombre de granules de sucres obtenues par les rats dans la tâche de FR5. Effectifs des groupes contrôle (n=5), stimulation (n=7) et inhibition (n=7).

Les rats ont ensuite été soumis à la tâche de PR, durant laquelle l'injection de CNO n'a pas eu d'influence sur le point de rupture (Figure 23, Mixed ANOVA, $F_{\text{groupe} \times \text{sujets}} (11, 110) = 0.8020$, $P = 0.6378$, inhibition contre contrôle ; et $F_{\text{groupe} \times \text{sujets}} (11, 110) = 1.001$, $P = 0.4505$, stimulation contre contrôle). Les données n'ont pas permis de mettre en évidence un éventuel effet à long terme de ces manipulations. Ces données suggèrent que la voie hyperdirecte limbique est peu impliquée dans les processus qui régulent les comportements motivés pour la nourriture sucrée.

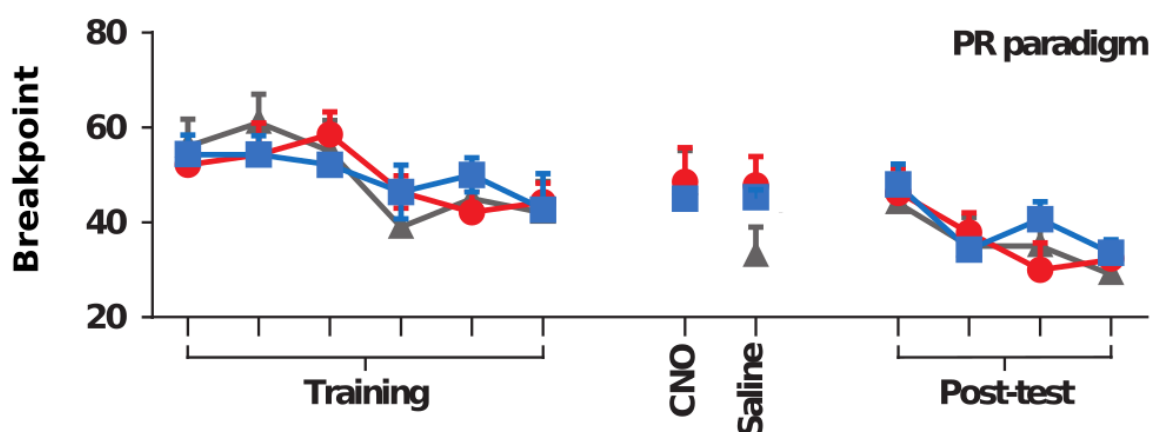


Figure 23 : Evolution du point de rupture (dernier ratio complété) dans la tâche de PR. Effectifs des groupes contrôle (n=5), stimulation (n=7) et inhibition (n=7).

Comme indiqué dans la méthodologie, la moitié des animaux a reçu d'abord l'injection de NaCl et l'autre moitié le CNO. Nous avons constaté que les animaux qui avaient reçu le CNO en premier ne retrouvaient pas leur niveau de performance initial au moment de l'injection de NaCl. Nous avons donc vérifié qualitativement l'effet de l'ordre des injections sur les performances des animaux (Figure 24). Nous n'avons pas vu de différences apparentes pour les animaux du groupe stimulation. Chez le groupe contrôle, il semble y avoir un effet de l'ordre d'injection puisque les animaux qui ont reçu le CNO en premier montrent une diminution plus marquée de leur point de rupture lors de l'injection de NaCl. Cependant, il faut noter que les animaux ayant reçu le NaCl en premier ont également une baisse de motivation, ce qui suggère un effet aspécifique lié à l'injection de saline qui pourrait correspondre à la baisse observée sur la Figure 23. Enfin, dans le groupe inhibition, il est possible que l'effet de l'injection de CNO soit susceptible à un effet d'ordre puisqu'on

observe que la diminution induite par le CNO est plus marquée quand il est administré en premier et que la baisse induite par l'injection de NaCl est légèrement plus marquée lorsque les animaux ont reçu le CNO en premier. Enfin, dans tous les groupes, les deux injections semblent réduire les performances pendant les jours posttests, dont seuls les 2 premiers sont représentés ici par souci de lisibilité. Cela pourrait traduire un effet non-spécifique du CNO à long terme sur l'ensemble des groupes.

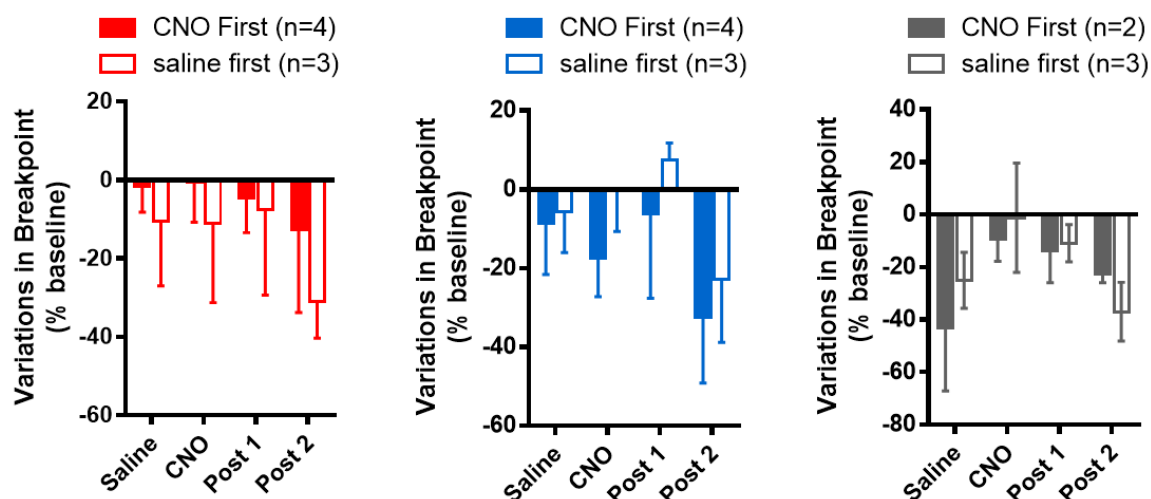


Figure 214 : Variations du point de rupture par rapport aux performances durant la baseline. Comparaison de l'influence de l'ordre des injections (CNO ou Saline) sur les performances des rats du groupe stimulation (rouge), inhibition (bleu) et contrôle (gris). On constate que lorsque le CNO est injecté en premier, il y a un effet plus marqué sur la performance le jour de l'injection de saline chez le groupe contrôle surtout et le groupe inhibition dans une moindre mesure.

Nous avons ensuite évalué l'influence des manipulations via les DREADDs sur la locomotion spontanée et induite par la cocaïne. Comme illustré sur la Figure 25, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'effet lié à l'injection de CNO sur la locomotion spontanée ou induite par la cocaïne (Mixed ANOVA, $F_{\text{groupe} \times \text{injections}} (3, 30) = 0.5517$, $P = 0.6509$, inhibition contre contrôle ; et $F_{\text{groupe} \times \text{injections}} (3, 30) = 0.3226$, $P = 0.8090$, stimulation contre contrôle). L'injection de cocaïne induit en revanche une augmentation significative de la locomotion pour tous les groupes (Mixed ANOVA, $F_{\text{injections}} (3) = 24.78$, $P < 0.0001$).

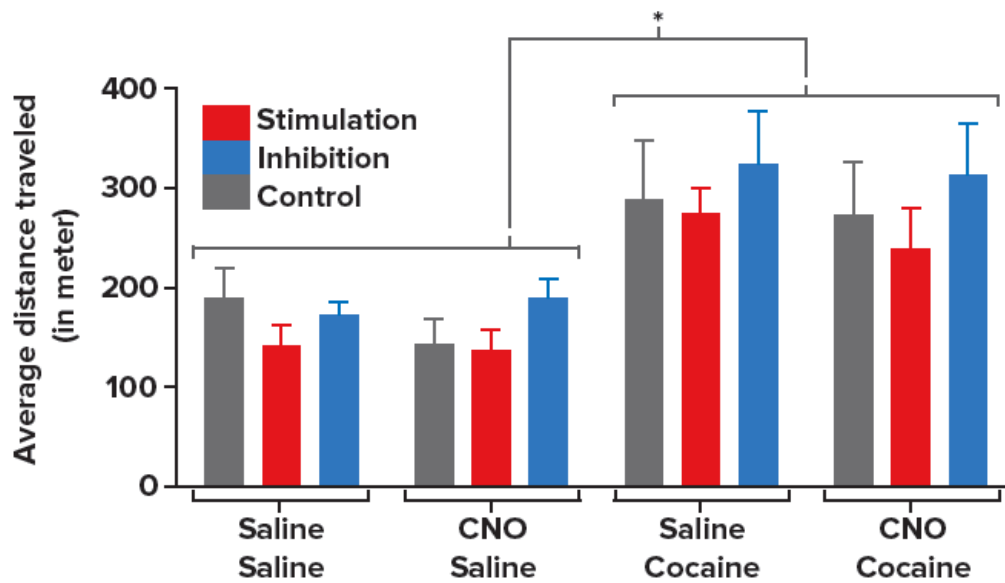


Figure 25 : Etude de l'influence de la modulation de la voie hyperdirecte par le CNO sur la locomotion spontanée et induite par la cocaïne (15mg/kg), chez les groupes contrôle (n=5), stimulation (n=7) et inhibition (n=7).

Les animaux ont ensuite été implantés avec des cathéters puis soumis à la procédure de FR5 avec la cocaïne comme récompense (Figure 26). Après les sessions d'entraînement, l'injection n'a pas modifié le nombre d'injections de cocaïne obtenues par les rats pour aucun des 3 groupes (Mixed ANOVA, $F_{\text{sessions} \times \text{sujets}} (11, 99) = 0.8109$, $P = 0.6291$, interaction inhibition vs contrôle ; et $F_{\text{sessions} \times \text{sujets}} (11, 110) = 0.5914$, $P = 0.8323$, interaction stimulation vs contrôle). Les données post injections n'ont pas permis de mettre en évidence un effet à long terme du CNO sur l'injection de cocaïne.

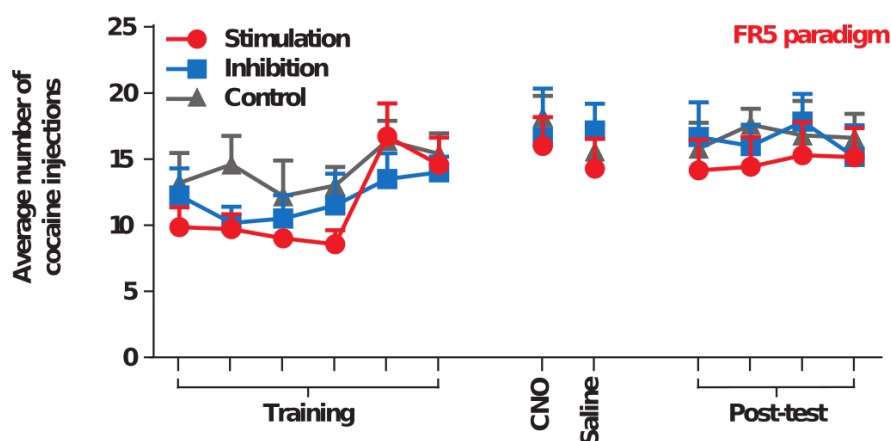


Figure 26 : Evolution du nombre d'injections obtenues par les animaux dans la tâche de FR5

Nous avons ensuite soumis les animaux à une procédure de PR avec la cocaïne comme récompense. Etant donné que les animaux présentaient une forte variabilité interindividuelle durant la baseline (Figure 27), les données comportementales ont par la suite été normalisées en utilisant la performance moyenne de chaque animal durant la baseline.

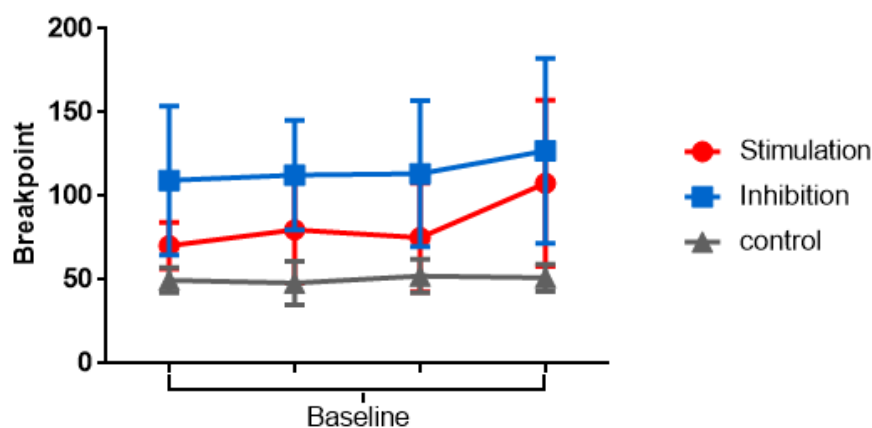


Figure 27 : Evolution du point de rupture lors de la baseline durant l'expérience de PR pour la cocaïne pour les différents groupes (stimulation en rouge, inhibition en bleu et contrôle en gris).

Comme pour les données de l'expérience de PR avec la nourriture, nous avons évalué qualitativement l'effet de l'ordre des injections sur les performances en PR pour la cocaïne. Comme illustré sur la Figure 28, pour le groupe contrôle, on observe que si le CNO est administré en premier, il induit une augmentation de la motivation qui se maintient lors de l'injection de saline, alors que si c'est le NaCl qui est injecté en premier, on observe plutôt

une tendance à la diminution de la motivation qui est maintenue lors de l'injection du CNO. Il apparaît donc que l'ordre des injections est un facteur déterminant. Dans le groupe stimulation, si on considère l'influence du CNO, on observe un effet plus marqué de baisse de motivation lorsque le CNO est injecté en premier, confirmant une influence de l'ordre des injections. En revanche, pour le groupe inhibition les données ne suggèrent pas l'existence d'un possible effet d'ordre.

Pour tous les groupes, il est intéressant de noter une baisse de motivation à travailler pour la cocaïne le jour post-test CNO. Ce résultat suggère encore une fois la possibilité d'un effet aspécifique du CNO à long terme. Etant donné que cet effet n'a pas été observé en conditions de FR5 (pour la nourriture ou la cocaïne) mais dans les deux tests de PR, il est possible que cet effet soit dû à la difficulté de la tâche.

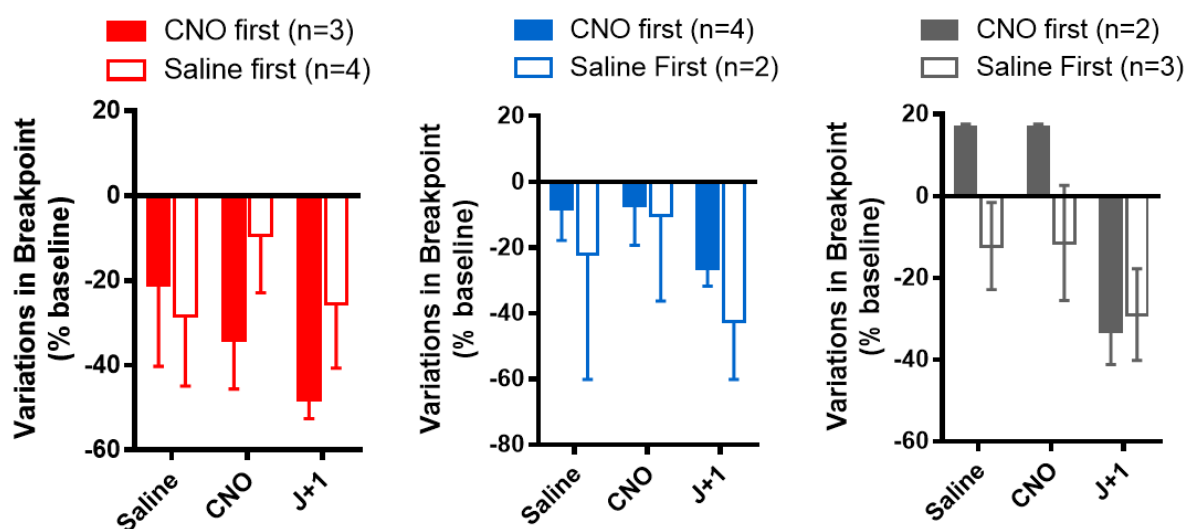


Figure 28 : Variations du point de rupture par rapport aux performances durant la baseline. Comparaison de l'influence de l'ordre des injections (CNO ou Saline) sur les performance des rats du groupe stimulation (rouge), inhibition (bleu) et contrôle (gris).

En raison de l'influence potentielle à long terme du CNO et de l'effet de l'ordre évoqué, nous avons comparé les performances des rats qui avaient reçu d'abord une injection de Saline puis de CNO (Figure 29). Ces résultats préliminaires suggèrent l'absence d'effet spécifique de l'activation des DREADDs sur les performances des animaux.

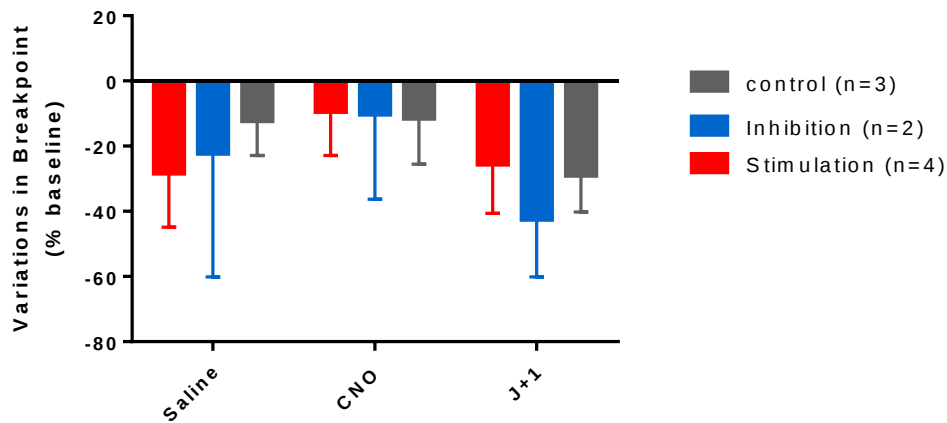


Figure 29 : Variations du point de rupture par rapport aux performances durant la baseline. Comparaison des rats du sous-groupe ayant reçu d'abord une injection de Saline (NaCl 0,9%) puis une injection de CNO.

En conséquence, la voie hyperdirecte émanant du cortex infralimbique ne semble pas impliquée dans le contrôle des processus motivationnels pour la nourriture sucrée ou la cocaïne, ni dans les mécanismes qui régissent la locomotion spontanée ou induite par la cocaïne. A ce stade, il est nécessaire d'attendre les résultats définitifs après analyse histologique.

III. Discussion générale

A. Le rôle des oscillations du NST.

1) Rôle pathologique des oscillations thêta et bêta

Nous avons pu mesurer l'activité oscillatoire du NST via des enregistrements LFP dans différents modèles de l'addiction chez le rat. Ce travail nous a permis de suggérer l'existence d'un biomarqueur potentiel associé avec l'usage pathologique de drogue ainsi qu'une application thérapeutique potentielle. La première étude que nous avons menée nous a permis de montrer que les oscillations thêta et bêta se développent, en absence de cocaïne (durant la baseline) au cours du processus d'escalade de la prise de cocaïne, qui mime la transition vers un usage non-contrôlé. Ces résultats suggèrent un rôle pathologique de ces rythmes puisqu'en empêchant leur développement par lésion du NST ou par SCP-HF qui diminue ces activités LFP de façon globale et non restreinte à une bande de fréquence particulière, comme cela a pu être démontré dans le cas de la maladie de Parkinson pour la bande beta (Eusebio et al., 2012), on peut empêcher l'escalade et réduire la ré-escalade après abstinence. Une autre différence par rapport aux troubles moteurs, pour lesquels la SCP-HF produit presque instantanément ses effets bénéfiques, est illustrée ici par la nécessité d'une période d'abstinence pour que la SCP-HF soit en mesure de réduire la ré-escalade. Il est possible que l'instauration de cette fenêtre thérapeutique requiert un retour à une certaine forme d'équilibre allostatique, qui serait permis par cette période d'abstinence forcée.

Dans l'article N°2, nous avons pu montrer premièrement que ces oscillations thêta et bêta se développent de façon spécifique au sein d'une sous-population de rats ; et deuxièmement que l'augmentation de cette activité spécifique permet de prédire un futur comportement compulsif de recherche de drogue malgré ses conséquences négatives (choc électrique modéré au niveau des pattes). Incidemment le deuxième article semble en partielle contradiction avec notre première étude, en montrant que seuls les rats compulsifs développent cette activité oscillatoire au sein du NST. Dans la première étude, puisque nous n'avons pas testé le caractère compulsif des rats après escalade, il est bien difficile de prouver a posteriori le caractère compulsif ou non de ces animaux. Néanmoins tous les animaux présentés dans cette étude ont démontré ce même phénotype d'augmentation des rythmes thêta et bêta. D'après les résultats de notre deuxième étude cela implique que tous ces animaux devraient développer des caractéristiques de compulsivité si exposés au protocole de

punition. Cela semble improbable étant donné que sur une population de rats, environ 20% seulement recherchent la cocaïne de façon compulsive après escalade (Pelloux et al., 2007; Everitt et al., 2008; Chen et al., 2013).

A l'inverse, nous avons pu voir que les oscillations commencent à se développer dans le NST très rapidement après l'exposition à la cocaïne. Dès les conditions du FR1 en accès court, les rythmes thêta et bêta augmentent légèrement pendant la baseline (en absence de cocaïne) à mesure que les rats consomment davantage de cocaïne, bien que cette corrélation avec nombre d'injections de cocaïne prises la veille disparaisse lors du développement de l'escalade. Dans les conditions d'accès court, où l'accès à la drogue demande un effort très limité, l'activité oscillatoire est donc en corrélation directe et étroite avec la quantité de substance consommée. Dans la deuxième étude en revanche, les rats ont déjà été exposés à la cocaïne durant de nombreuses semaines avant tout enregistrement de l'activité du NST, et leur consommation est particulièrement stable en regard des animaux présentés dans le premier article. Ainsi il est tout à fait possible que l'activité oscillatoire des animaux de l'étude N°2 soit plus importante en raison de leur entraînement intensif que lorsque ces animaux étaient naïfs et n'avaient jamais été exposés à la cocaïne. Même s'il est difficile de comparer les rats en raison des différents contextes expérimentaux, il est toutefois intéressant de noter que l'activité oscillatoire des animaux de l'étude N°2 semble qualitativement plus élevée que celle des animaux naïfs de l'étude N°1.

Ces derniers éléments peuvent suggérer que le bio-marqueur associé à une consommation intensive de drogue n'est pas l'augmentation des rythmes oscillatoires à proprement parler. Au contraire, les résultats de l'étude N°1 montrent que le passage en conditions d'accès long est certes associé à une augmentation des rythmes thêta et bêta, mais également à une perte de la corrélation existante entre consommation et activité oscillatoire. En d'autres termes, il y a un effet de saturation et l'activité oscillatoire atteint progressivement un plateau, alors que la quantité de cocaïne consommée par les animaux continue d'augmenter. Cette observation permet de suggérer un dépassement des capacités « physiologiques » du réseau et pourrait correspondre à un potentiel mécanisme qui s'inscrit dans la théorie des adaptations allostatiques suite à un usage intensif de drogues, développée par Koob et Le Moal (Koob and Le Moal, 2001). Pour soutenir cette interprétation, on pourra remarquer que dans l'étude N°2, l'activité thêta et bêta augmente durant la baseline tout au long de l'escalade de la prise de cocaïne chez les animaux compulsifs. Le contraste est ainsi

frappant avec les animaux sensibles pour lesquels l'activité oscillatoire n'augmente pas. Ainsi en prenant en compte ces différents éléments, il est possible de le bio-marqueur de la compulsivité corresponde à l'augmentation continue des oscillations thêta et bêta en absence de cocaïne, pendant la baseline, durant l'escalade de la prise de cocaïne. A l'inverse, l'activité oscillatoire stable des animaux sensibles semble corroborer l'existence d'un effet plateau.

2) GB, oscillations et TOCS

En dehors de la prise compulsive de drogues, les fonctions des GB de la base ont été associées de manière indiscutable avec des comportements compulsifs. Ainsi, comme exposé dans la partie introductive, les persévérations sont une mesure de compulsion chez le rongeur et des lésions au sein des GB les induisent (Eagle and Baunez, 2010). D'autre part, il a été montré chez un modèle murin de TOCs que l'activité striatale est augmentée et présente des réponses spécifiques à la présentation d'un CS associé avec le comportement compulsif (grooming). Par ailleurs, l'activation du cortex orbitofrontal permet la normalisation de ces activités pathologiques dans le striatum et réduit l'expression du comportement compulsif (Burguière et al., 2013).

Chez l'homme, le lien causal entre TOCs et NST a été établi depuis plusieurs années lorsqu'il a été démontré que la SCP-HF du NST permettait de réduire les symptômes compulsifs chez des patients parkinsoniens (Mallet et al., 2002, 2008a). En parallèle, les enregistrements électrophysiologiques ont permis de montrer l'existence de signatures spécifiques associées avec les TOCS, notamment les rythmes thêta (Welter et al., 2011) et plus récemment bêta (Rappel et al., 2018). Par ailleurs les travaux dans la prise de décision ont permis de montrer que les rythmes thêta sont augmentés dans les situations conflictuelles en même temps que s'accroît la synchronisation avec le cortex (Fumagalli et al., 2011; Zaghloul et al., 2012; Bastin et al., 2014; Zavala et al., 2014, 2016). Enfin chez les patients souffrants de TOCs, il a été montré que les oscillations thêta émanaient de la partie médiale et limbique du NST et que l'amplitude des oscillations était réduite par l'exécution du comportement compulsif (Rappel et al., 2018). De ce point de vue, nos résultats sur les signatures électrophysiologiques démontrent, chez le rat, la contribution de ces rythmes thêta, bien que l'identification de la source soit difficile étant donné le petit volume de cette structure chez le rongeur. De plus, nous montrons que la prise de cocaïne chez les futurs animaux compulsifs réduit l'amplitude des oscillations thêta. Toutefois ces résultats n'ont pas été observés dans une tâche qui permet d'évaluer la compulsivité ou l'initiation d'un

comportement compulsif puisque les enregistrements ont été effectués durant le protocole d'escalade. Il serait donc intéressant de coupler ces enregistrements à un test de mesure de compulsivité dans le futur. On pourrait toutefois concevoir que cette baisse des rythmes thêta puisse correspondre à l'exécution d'un comportement (prise de cocaïne) en réponse à une certaine impulsion pathologique (en raison des 18h d'abstinence entre deux sessions expérimentales). Néanmoins cette interprétation doit être nuancée fortement étant donné qu'il est impossible, dans le contexte présent, de dissocier ces effets de l'impact de la cocaïne en elle-même sur l'activité LFP. Par ailleurs, ces activités sont enregistrées avant l'accès à la drogue et peuvent donc aussi refléter des processus d'anticipation.

3) Altérations du NST, dopamine et LFP

Nos données suggèrent l'apparition d'altérations persistantes dans la physiologie du NST en lien avec la prise de cocaïne, dont le mécanisme d'action conduit en premier lieu à une élévation du niveau de dopamine. Or dans la maladie de Parkinson, la baisse du niveau de dopamine induit des effets bien documentés notamment l'hyperactivité de la voie indirecte et l'augmentation d'activités unitaire et oscillatoire de type bêta, au sein du NST, qui en résultent. Pareillement, le fait que l'activité pathologique du NST soit réduite par la prise de médicaments dopaminergiques montre le rôle causal de la dopamine dans la régulation de ces activités. Ici nous assistons, après un usage intensif de cocaïne, à l'émergence d'oscillations bêta dont la signature fréquentielle correspond à celles qui apparaissent dans la maladie de Parkinson lors de la dégénérescence des neurones dopaminergiques. En parallèle, il a été montré que la signalisation dopaminergique est réduite après un usage chronique de cocaïne (Dackis and Gold, 1985; Volkow et al., 1990). De plus il a été montré, chez le rat, que l'intensité des oscillations bêta augmente avec la perte de neurones dopaminergiques, mais qu'un blocage ponctuel par des antagonistes dopaminergiques n'entraîne pas d'augmentation de ces oscillations bêta (Mallet et al., 2008b). Ceci semble indiquer que les oscillations bêta résultent d'une modification profonde de la physiologie du NST suite à des variations persistantes de l'activité du système dopaminergique. Ainsi, l'émergence de ces oscillations dans le contexte de l'addiction pourrait correspondre aux réorganisations des réseaux qui ont été décrites dans la théorie de l'allostase. On ne peut tout de même pas écarter la possibilité d'une origine corticale à ces activités oscillatoires puisqu'une activité synchrone à celle du NST a été rapportée au niveau du cortex moteur dans le cerveau parkinsonien (Delaville et al., 2015)

4) Structures frontales, NST et compulsions

Parmi les différentes études ayant porté sur l'usage compulsif de drogues, plusieurs structures cérébrales ont été identifiées pour leur rôle régulateur dans ces comportements. Dans des procédures assez semblables à celles développées par Pelloux et collaborateurs (Pelloux et al., 2007), il a été montré que le cortex prélimbique était hypo-actif dans une tâche de recherche compulsive de cocaïne (Chen et al., 2013). A l'inverse d'autres données suggèrent que l'activité du cortex prélimbique est un marqueur de l'intensité de la punition reçue par les animaux et montrent que la modulation du cortex orbitofrontal est en mesure de réduire la compulsivité (Burguière et al., 2013; Pascoli et al., 2015). Il doit cependant être noté qu'à la différence de Chen et collaborateurs, Pascoli et collaborateurs n'utilisent pas la cocaïne comme récompense mais utilisent les propriétés renforçantes de la stimulation optogénétique des neurones dopaminergiques de l'ATV. Par ailleurs, dans cette dernière étude la punition est délivrée de façon prédictible (tous les trois essais) et en même temps que la récompense (stimulation optogénétique), c'est donc la prise qui est punie, et pas la recherche. Alors que dans le modèle développé par Pelloux et collaborateurs, la punition est délivrée après appui sur le levier de recherche, elle n'est donc pas associée directement avec la prise de la drogue. En effet, l'association de la punition avec la récompense peut aboutir à un mécanisme de contre-conditionnement et ainsi réduire le caractère aversif de la punition qui peut acquérir le statut de stimulus conditionné (Pelloux et al., 2007). Malgré ces différences notables, ces études suggèrent une forte implication des structures frontales, et montrent un rôle de régulation important exercé par le système sérotoninergique (Pelloux et al., 2012). A ce titre, nos études démontrant le rôle causal du NST prennent tout leur sens, car le NST se situe au carrefour de ces systèmes, d'une part par ses fonctions frontales, d'autre part via les connexions directes qu'il reçoit depuis le cortex et enfin par la modulation sérotoninergique qu'il reçoit via les afférences issues du noyau dorsal du raphé. Nos résultats placent donc le NST comme un acteur majeur des circuits impliqués dans les modifications physiologiques qui surviennent dans les processus compulsifs pour les drogues telles que la cocaïne.

5) Rôle fonctionnel des oscillations bêta

L'effet thérapeutique sur la compulsion des rythmes 30Hz, montré dans l'étude N°2, pose également la question du rôle physiologique des oscillations bêta dans le contexte de

l'addiction à la cocaïne. Alors que nos manipulations suggèrent fortement un rôle pathologique pour les oscillations thêta en particulier autour de 8Hz, elles suggèrent à l'inverse que les oscillations bêta auraient un rôle plus protecteur vis à vis des comportements compulsifs, tout du moins pour les fréquences appartenant classiquement au haut bêta (~30Hz). Des études récentes ont permis de suggérer une dissociation entre les oscillations thêta et bêta dans le NST. Les oscillations bêta semblent témoigner d'une cohérence élevée avec les parties sensorimotrices du cortex. A l'inverse les rythmes thêta du NST sont en forte cohérence avec ceux émanant de l'ACC (Wojtecki et al., 2016). Ces résultats sont d'autant plus intéressants que l'activité thêta dans le NST a été reliée à la prise de décision et plus particulièrement en situation de conflit (Zavala et al., 2016; Accolla et al., 2017). Ce dernier élément peut être relié avec une étude récente ayant montré que chez les patients atteints de TOCs, il existe des oscillations bêta dans le territoire moteur, mais ces oscillations ne présentent pas de corrélation directe avec les TOCs, contrairement aux oscillations thêta comme indiqué préalablement (Rappel et al., 2018). Ces résultats corroborent nos propres données électrophysiologiques mais suggèrent également une absence de lien entre ces oscillations et la compulsivité. Ce dernier aspect semble aller à l'encontre de nos manipulations par SCP. En revanche les enregistrements chez des patients parkinsoniens permettent de suggérer un rôle fonctionnel alternatif pour les oscillations bêta. Il a été montré que la diminution du bêta constituerait un prérequis pour l'exécution volontaire de mouvements (Levy et al., 2002; Kühn et al., 2004). De plus dans une tâche de « go/no go », avec et en l'absence de traitement dopaminergique, l'initiation motrice corrèle fortement avec la phase initiale de brève réduction des oscillations bêta suite à la présentation du CS autorisant le mouvement, et la suppression volontaire de mouvement conduit à une augmentation du rythme bêta dans le NST (Kühn et al., 2004). L'ensemble de ces données montre que les oscillations bêta du NST sont étroitement associées à l'exécution du mouvement. Mais dans le cas de comportements compulsifs, il est possible que cette activité témoigne de l'encodage d'un système inhibiteur qui empêche les animaux d'initier l'action compulsive.

B. Le NST dans la motivation

1) Rôle du NST dans la motivation pour la nourriture et la cocaïne

La modulation de l'activité du NST est suffisante pour assurer un contrôle bidirectionnel sur la motivation pour la nourriture sucrée comme nous avons pu le montrer dans l'étude N°3. Ceci suggère que le NST apporte une forte contribution dans ces processus car une augmentation de l'excitabilité de ce noyau suffit à réduire la motivation. Ce rôle majeur du NST peut être dû aux nombreuses connexions qu'il possède avec des structures qui ont été reconnues comme fondamentales dans le contrôle de la prise alimentaire, notamment le PV (Stratford et al., 1999; Castro et al., 2015), l'ATV (Nieh et al., 2015, 2016) et les réseaux hypothalamiques (Aponte et al., 2011; Nieh et al., 2015, 2016).

En ce qui concerne la motivation pour la cocaïne, nous avons montré qu'elle ne semble pas être influencée par la stimulation optogénétique à haute fréquence alors que l'inhibition optogénétique la réduit. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ces résultats. Premièrement, il est possible que notre stimulation optogénétique soit trop modérée et n'induisse pas une variation d'activité suffisante pour affecter le comportement. Nos données d'électrophysiologie in vitro montrent quand même un effet de cette stimulation optogénétique à haute fréquence sur l'excitabilité. Il est donc clair que le mécanisme mis en jeu ici diffère de celui d'une stimulation à haute fréquence électrique, ce que nous avons discuté dans l'article N°3. Deuxièmement les résultats des études N°1 et 2 mettent en avant le rôle central des oscillations thêta dans l'escalade de la prise de cocaïne et les mécanismes de compulsion. A ce titre, il est possible qu'un entraînement du NST à une fréquence proche des oscillations thêta soit requis pour influencer la motivation pour la cocaïne. Dès lors, on pourrait concevoir une expérience de stimulation optogénétique du NST à une fréquence de 8Hz mais avec une durée de pulse augmentée afin de forcer la synchronisation des neurones et exercer un effet d'entraînement beaucoup plus marqué sur l'activité du NST. Une telle stimulation pourrait être en mesure d'avoir un effet pro-compulsif sur le comportement des animaux, et peut-être même augmenter leur niveau de motivation pour la cocaïne.

Néanmoins nos résultats illustrent de façon nette l'influence directe du NST sur les comportements addictifs, et contribuent à renforcer les études ayant démontré sa capacité à moduler différents processus de l'addiction. En plus des conséquences de la lésion et de la

SCP-HF sur la motivation, l'inactivation pharmacologique du NST permet de réduire la recherche de cocaïne, celle de CS associés à la drogue et réduit les réponses opérantes dans un modèle de rechute (Bentzley and Aston-Jones, 2017). Par ailleurs la SCP-HF du NST permet de réduire l'auto-administration d'héroïne en conditions d'accès court et après escalade (Wade et al., 2017). Nous ajoutons ainsi deux dimensions supplémentaires dans lesquelles la SCP du NST produit des effets bénéfiques : l'escalade de la consommation de cocaïne et la recherche compulsive de celle-ci. Enfin notre étude optogénétique montre le rôle direct du NST dans les effets de la SCP sur la consommation de drogue. Il faut également noter que la lésion du NST a également un effet sur l'escalade de consommation d'alcool et sur la ré-escalade après abstinence (Pelloux and Baunez, 2017). Cette capacité du NST à intervenir sur la consommation de différentes drogues est particulièrement frappante étant donné que ces substances ont des mécanismes bien différents. L'héroïne agit principalement via l'activation du système des opioïdes, l'alcool agit sur le système GABAergique et la cocaïne dépend avant tout du système dopaminergique, même si une partie des effets renforçants de ces trois substances sont dus à l'activation du système des opioïdes et du système dopaminergique. Cette triple action sur les substances d'abus est probablement due d'une part au contrôle exercé directement par le système dopaminergique via les projections issues de l'ATV. D'autre part l'existence de récepteurs μ et delta fonctionnels dans le NST suggère l'existence d'un contrôle direct par les peptides du système des opioïdes (Sasaki et al., 1996; Shen and Johnson, 2002; Slamberová et al., 2002) et pourrait expliquer l'implication du NST dans les mécanismes d'addiction à l'héroïne. Par ailleurs, en raison des connexions GABAergiques que le NAc et PV envoient sur le NST, et de leur implication dans le circuit de la récompense, ces structures pourraient constituer un substrat expliquant les effets de l'inactivation du NST sur les processus d'addiction à l'alcool. Dans l'ensemble la convergence de ces nombreuses études contribue à renforcer l'hypothèse d'un traitement potentiel de l'addiction par SCP du NST. Si cette piste a surtout été évoquée pour la cocaïne en raison de l'absence de traitement pharmacologique existant, un protocole équivalent pour les addictions à l'héroïne et l'alcool pourrait compléter la palette des outils thérapeutiques existants. C'est d'autant plus important que les individus souffrant de dépendance sont généralement usagers de plusieurs substances (tabac, alcool, cocaïne, héroïne etc.).

2) Et si la SCP du NST permettait de traiter l'anorexie plutôt que l'addiction ?

Les troubles des comportements alimentaires font partie des pathologies psychiatriques les plus difficiles à traiter, et parmi lesquelles se trouve l'anorexie mentale qui peut toucher jusqu'à 1% de la population (Treasure et al., 2015). Les symptômes de cette pathologie correspondent à 1) un désir profond du patient de maintenir son poids en dessous d'un minimum normal pour un âge et une taille donnée, 2) à la peur intense de prendre du poids associée à 3) une altération de la perception de son propre corps (Treasure et al., 2015). Plusieurs thérapies comportementales sont actuellement utilisées auprès des patients pour tenter de les amener à retrouver un poids stable tout en réduisant le désir compulsif de maigrir. Pourtant, un tiers des anorexies mentales évoluent en formes chroniques et deviennent beaucoup plus difficiles à prendre en charge, à cause d'un risque de rechute élevé et d'un important taux de mortalité qui sont fortement associées avec des traits de personnalité obsessionnels et compulsifs (Crane et al., 2007; Young et al., 2013). A ce titre, le potentiel thérapeutique de la SCP-HF du NST apparaît comme particulièrement intéressant, car elle est en mesure de réduire les symptômes de patients atteints de TOCs, et notamment leurs compulsions, et elle a en même temps des effets d'augmentation de la motivation pour la nourriture sucrée comme le montrent nos données.

Cependant cette piste thérapeutique reste encore peu envisagée en raison de son caractère assez invasif chez des sujets affaiblis à cause de l'évolution chronique de la maladie. En revanche, il existe un intérêt croissant pour la stimulation magnétique trans-crânienne, technique non-invasive qui permet de moduler l'activité d'une région du cortex en appliquant un champ magnétique à la surface du scalp (McClelland et al., 2013). La modulation de plusieurs structures frontales a permis d'apporter des résultats préliminaires prometteurs pour l'accompagnement de ces troubles de l'alimentation (McClelland et al., 2013). Le NST étant localisé trop profondément dans le cerveau, il ne peut pas être une cible de la stimulation magnétique trans-crânienne. Pourtant, encore une fois, en raison de ses nombreuses fonctions frontales et des connexions partagées avec le cortex, le NST semble être donc tout particulièrement à considérer, car une modulation de son activité par SCP-HF pourrait permettre, de façon analogue à ce qui a été démontré chez le rat et le patient, d'augmenter la motivation pour la nourriture tout en réduisant les compulsions. Cette stratégie permettrait de contrecarrer dans une même approche thérapeutique deux caractéristiques néfastes et pourtant

centrales de l'anorexie mentale. Il reste à évaluer l'influence de la manipulation du NST sur le schéma corporel, qui reste un des symptômes important de l'anorexie mentale.

3) Modalités de traitement de l'information par le NST

Le traitement spécifique des informations sensorimotrices associatives et limbiques par les territoires correspondants du NST a fait l'objet d'une large documentation. Cependant, chez le rongeur cette subdivision fonctionnelle est nettement moins marquée que chez le primate humain et non-humain. Au cours de nos travaux, nous avons pu montrer que l'inhibition optogénétique du NST conduit à une augmentation de la locomotion des rats, tout en affectant les processus motivationnels. Étant donné que nos injections virales ont majoritairement transfecté les cellules situées dans la partie médiane du NST, correspondant au territoire limbique cela semble indiquer que même le territoire limbique est en mesure d'affecter la locomotion chez le rat. Il reste cependant difficile de déterminer si ces effets correspondent à la présence de neurones dotés d'une fonction motrice dans un territoire limbique et qui corroborerait cette notion de frontières floues entre territoires fonctionnels. Une autre hypothèse serait que les neurones dans la partie médiane du NST envoient un certain nombre de projections vers des zones motrices des structures de sortie, en dépit de l'organisation topographique des projections du NST. L'existence de neurones disposant d'axones collatéraux retournant vers le NST a été documenté, et ces projections annexes pourraient contribuer à influencer d'autres territoires fonctionnels via des terminaisons synaptiques diffuses (Gouty-Colomer et al., 2018). Dans l'ensemble ces données illustrent l'idée d'une porosité entre les territoires fonctionnels du NST favorisant l'échange d'information entre les circuits parallèles. Des données obtenues chez le macaque au sein de l'équipe ont montré l'existence de neurones aux propriétés « limbiques » et montrant des modulations d'activité à l'obtention ou anticipation de la récompense dans le territoire moteur du NST (Darbaky et al., 2005), confirmant cette modération de la notion de territoires fonctionnels bien délimités.

4) ICSS et récompense

Bien qu'il ait été décrit précédemment dans une étude que la stimulation dans la région sous-thalamique était en mesure de supporter l'ICSS, les électrodes semblaient être placées

aux voisinage du faisceau médian du télencéphale et de l'hypothalamus dans cette étude (Corbett and Wise, 1980). Nous avons donc démontré pour la première fois chez le rat que la SCP-HF du NST est en mesure de générer un comportement d'ICSS, alors que ni la stimulation, ni l'inhibition optogénétique n'ont permis de reproduire ce résultat. Si les manipulations optogénétiques précises et limitées au NST n'ont pas cet effet, ceci suggère que les effets de la SCP-HF sont dus à un effet non restreint au NST, mais plutôt au réseau des afférences, fibres de passages ou structures voisines affectés par la SCP-HF. Etant donné que nos manipulations optogénétiques affectent les corps cellulaires et les projections des neurones du NST, cela souligne l'importance de structures projetant sur le NST ou situées à proximité dans le mécanisme de la SCP-HF mais qui n'ont pas été affectées par la transfection virale. La faible contribution du NST en soi est étonnante car il envoie de nombreuses projections excitatrices vers des structures notoirement connues pour supporter l'ICSS lorsqu'elles sont excitées, telle que le PV (Panagis et al., 1995; Panagis and Spyrali, 1996; Faget et al., 2018), l'ATV (Britt et al., 2012; McDevitt et al., 2014) et l'hypothalamus latéral (Corbett and Wise, 1980; Gratton and Wise, 1983). Le réseau mis en jeu dans les effets de la SCP-HF pourrait être composé de structures dont l'excitation est renforçante et qui projettent sur le NST ou étant à proximité du NST, telles que la capsule interne (Wright and Craggs, 1977), le faisceau médian du télencéphale (Corbett and Wise, 1980), ou les régions préfrontales (Wise, 2013). Étant donné la diversité des effets de la SCP-HF du NST, l'identification des réseaux qui génèrent ce comportement apparaît comme fondamentale pour la compréhension des effets non-moteurs.

En raison de la proximité du faisceau médian du télencéphale avec le NST et d'autres structures renforçantes, on pourrait penser que les effets limbiques de la SCP-HF résultent de la stimulation de ces structures. Cependant la stimulation d'aires cérébrales supportant l'ICSS ne saurait expliquer les effets dissociatifs de la SCP qui augmente la motivation pour la nourriture et réduit celle pour la cocaïne. En particulier si l'on considère les premières études qui ont montré que les rats pouvaient arrêter de s'alimenter s'ils avaient la possibilité de déclencher une ICSS (Olds and Milner, 1954; Wise, 1996). Une stimulation analogue par la SCP-HF aurait alors un effet inhibiteur sur la motivation pour la nourriture.

Ces résultats soulèvent un ensemble de questions qui ressemblent fortement à celles qui ont été formulées à propos des effets moteurs de la SCP : à savoir est-ce que le mécanisme est dépendant du réseau direct contenant le NST ou bien fait-il intervenir des structures

voisines ? Même si le NST ne semble pas être impliqué directement, nos résultats ne nous permettent pas d'écarter une éventuelle contribution des structures qui projettent vers le NST. A plus forte raison, les intensités de stimulation que nous avons utilisées sont relativement modérées (maximum 150 μ A), ceci plaide en faveur d'un mécanisme d'action local par opposition à de fortes intensités qui peuvent recruter et activer des structures distantes. En revanche, nos résultats suggèrent un mécanisme dépendant de fibres myélinisées car seules les hautes fréquences de stimulation génèrent le comportement d'ICSS, de façon analogue à ce qui a pu être démontré pour d'autres faisceaux de fibres (Wise, 1996). Ces deux derniers éléments mettent donc en avant une potentielle implication des structures qui sont directement connectées aux NST.

Nous avons identifié un mécanisme qui pourrait toutefois intervenir dans de nombreux comportements motivés. Par ailleurs ces données se transposent facilement à des descriptions cliniques, telles que le sentiment transitoire de bien-être décrit par certains patients parkinsoniens au moment de l'activation de leur dispositif de SCP, ou la capacité de la SCP-HF à susciter l'hilarité (Krack et al., 2001). Enfin la compréhension de ces mécanismes apparait de la plus haute importance pour mieux appréhender les risques à long terme liés aux changements d'humeur, voire aux syndromes dépressifs après SCP-HF du NST. Inversement dans la perspective d'une utilisation de la SCP-HF du NST comme traitement chez les sujets usagers de cocaïne, on pourrait espérer un transfert de l'objet d'addiction de la cocaïne vers la SCP-HF elle-même, qu'il faudra suivre attentivement.

C. La SCP, action thérapeutique et mécanismes

1) Effet thérapeutique de la SCP sur l'addiction à la cocaïne

Nos résultats montrent que la SCP-HF du NST à 130Hz est en mesure de réduire l'escalade et la ré-escalade de la prise de cocaïne après abstinence. Il apparaît donc étonnant qu'elle ait peu d'effet sur la compulsivité des animaux dans la tâche de punition. A l'inverse, elle augmente même de façon transitoire la compulsivité des animaux « résistants » et donc semble accroître le phénotype pathologique « compulsif ». Ces données sont d'autant plus intéressantes que la SCP-HF augmente la motivation pour la nourriture sucrée. Or dans la tâche de punition, la nourriture sucrée est accessible de façon indépendante de la cocaïne et sa recherche pourrait à ce titre constituer une activité de substitution. Il faut toutefois rappeler la nécessité d'une période d'abstinence pour obtenir les effets bénéfiques de la SCP-HF sur la ré-escalade comme nous avons pu le montrer dans l'étude N°1. Dans le contexte présenté dans l'article N°2, nous n'avons pas soumis les rats à une période d'abstinence, ce qui pourrait empêcher la mise en place d'une potentielle fenêtre thérapeutique lors du test de la SCP-HF chez les animaux compulsifs.

Inversement, nous avons pu montrer un effet pro-compulsif de la SCP appliquée à basse fréquence (8hz) après avoir identifié des oscillations thêta de fréquence semblable (6-13Hz) comme un biomarqueur potentiellement prédictif de la compulsivité des rats. La SCP, appliquée avec une fréquence de 8Hz, a un effet pro-compulsif durant la deuxième escalade, alors qu'une stimulation à 70Hz ou l'absence de stimulation ne produisent pas cet effet. Même si nous n'avons pas pu utiliser la stimulation à 130Hz compte tenu de son effet préventif sur l'escalade, ces résultats indiquent un effet tout-à-fait spécifique des rythmes thêta même si le mécanisme reste à préciser. Il faut toutefois noter que nous n'avons pas fait la preuve qu'appliquer une stimulation à 8Hz mime exactement une activité oscillatoire thêta. De manière intéressante les études des mécanismes de la SCP suggèrent que les stimulations à basses fréquences sont associées à une augmentation d'activité neuronale dans la zone visée (Velasco et al., 2008; Arnulf et al., 2010). En particulier dans le NST, dans le contexte de la maladie de Parkinson les stimulations à basses fréquences provoquent une aggravation des symptômes moteurs (Timmermann et al., 2004; Eusebio et al., 2008). Ceci doit être mis en relation avec les nombreuses études qui montrent que la sévérité des symptômes moteurs est corrélée avec l'augmentation des activités unitaires et LFP au sein du NST (Filion and Tremblay, 1991; Brown et al., 2001; Marsden et al., 2001; Levy et al., 2002; Welter et al.,

2004; Kühn et al., 2005, 2009). Ces éléments suggèrent que nos manipulations à basse fréquence permettent une augmentation d'activité dans le NST dont l'aspect oscillatoire reste à démontrer.

Nous avons montré que les stimulations à basse fréquence dans la bande bêta (30Hz) permettent de réduire la compulsivité des animaux. Ces résultats illustrent de façon encore plus nette la spécificité fonctionnelle des rythmes oscillatoires au sein du NST. Ces données montrent que les stimulations à 30Hz, en considérant qu'elles miment des oscillations à 30Hz, sont en mesure de restaurer un certain contrôle inhibiteur via le NST. Etant donné que les stimulations à basse fréquence sont censées résulter en une activation de la structure (à l'inverse de la stimulation à haute fréquence), cela pourrait indiquer que le mécanisme d'action mis en jeu est celui d'un entraînement du NST à une rythme proche de 30Hz et résulterait en un brouillage des oscillations pathologiques thêta par analogie avec un mécanisme envisagé dans le cadre de la SCP-HF pour la maladie de Parkinson (Carlson et al., 2010; Krack et al., 2010; Hamani et al., 2017).

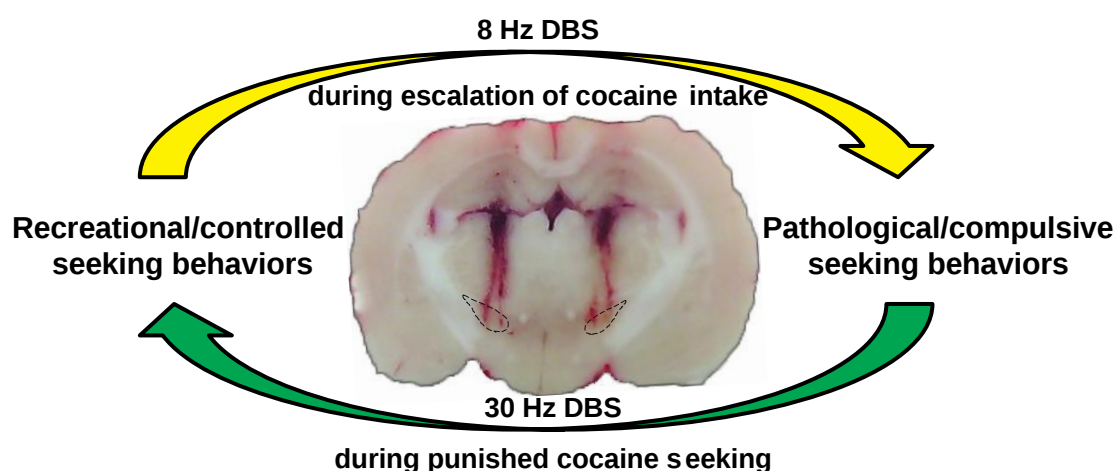


Figure 30 : Exemple du contrôle bidirectionnel possible via la modulation du NST par SCP en fonction du contexte comportemental.

Indépendamment du mécanisme exact, il apparaît clair au vu de nos résultats que l'application de la SCP pour traiter les comportements addictifs dépend d'une combinaison de facteurs. L'efficacité semble intimement dépendante du comportement ciblé, de la fréquence utilisée et de la fenêtre temporelle durant laquelle la stimulation est appliquée (Figure 30).

2) Modéliser la SCP avec de l'optogénétique

Plusieurs études récentes ont cherché à reproduire les effets de la SCP en utilisant la modulation optogénétique (Gradinaru et al., 2009; Sanders and Jaeger, 2016). Au cours de ce travail de thèse, nous avons pu démontrer que l'inhibition locale du NST par optogénétique suffit à produire des effets analogues à ceux de la SCP-HF sur la locomotion, la motivation pour la nourriture et la cocaïne. En revanche, des différences en termes de dynamique temporelle indiquent que les deux méthodes ne sont pas strictement équivalentes. Par exemple, l'inhibition optogénétique augmente transitoirement la motivation pour la nourriture, alors que cet effet est stable dans le cas de la SCP-HF. Cette différence peut être due à l'illumination discontinue du laser que nous avons appliquée par opposition à la stimulation électrique qui est appliquée de manière continue. Ces intervalles sans inhibition pourraient permettre à certains processus compensatoires de se développer. Cela suggère également que les effets de la SCP-HF sont en partie dépendants de réseaux connexes qui n'ont pas été recrutés lors de nos expériences d'optogénétique puisque les opsines étaient exclusivement exprimées dans le NST.

Il doit être également pris en considération que la stimulation optogénétique produit des effets opposés à ceux de la SCP-HF en réduisant la motivation pour la nourriture. En d'autres termes les effets de la stimulation optogénétique du NST et de ses projections sont diamétralement opposés à ceux de la SCP-HF.

Si nos résultats permettent d'apporter un certain nombre d'éléments nouveaux concernant les mécanismes fonctionnels de la SCP-HF, ils doivent être nuancés. Tout d'abord, et malgré nos enregistrements électrophysiologiques in-vitro lors des manipulations optogénétiques, nous ne disposons que d'un faisceau d'indices concordants concernant leur réelle action in-vivo. Ensuite dans le cas de la stimulation optogénétique, il a été montré que même lors de la stimulation des corps cellulaires, les profils d'activations pouvaient être relativement différents entre le corps cellulaire et l'axone, en raison de l'expression des opsines sur l'ensemble de la membrane du neurone. A ce titre, de nouveaux outils restreignant l'expression des opsines au niveau du soma pourraient être particulièrement utiles pour s'assurer du réel couplage entre corps cellulaire et axone (Shemesh et al., 2017).

3) Mécanisme de la SCP

A travers ce travail de thèse nous avons pu illustrer le fait que la SCP-HF du NST est équivalente d'un point de vue fonctionnel à une inactivation. Pourtant le mécanisme physiologique reste un sujet de débat étant donné que de nombreuses études ont montré, sous SCP-HF une augmentation d'activité dans les structures où projette le NST (Windels et al., 2000; Hashimoto et al., 2003; Maurice et al., 2003; Shehab et al., 2014). Une hypothèse a été avancée pour expliquer que la stimulation des axones afférents aboutisse aux mêmes effets qu'une lésion. Bien que les axones soient stimulés il est possible qu'ils soient en réalité peu aptes à transmettre des influx nerveux à haute fréquence en raison d'une déplétion progressive des synapses en neurotransmetteurs (Wang and Kaczmarek, 1998; Urbano et al., 2002; Zucker and Regehr, 2002). Il a notamment été montré que la stimulation des axones thalamo-corticaux permettait une excitation des cibles corticales mais que cet effet disparaissait rapidement lors d'une stimulation à haute fréquence (Urbano et al., 2002). Cependant plusieurs études ont démontré une augmentation de la quantité de neurotransmetteurs dans les compartiments extracellulaires (Windels et al., 2000, 2003) et des activations à long terme de l'activité neuronale dans les noyaux efférents (Hashimoto et al., 2003). Une étude plus récente a montré que la SCP-HF, tout en activant les axones efférents du NST, induit rapidement une diminution de l'efficacité de transmission des synapses, découplant ainsi les compartiments pré- et post-synaptiques (Rosenbaum et al., 2014). En cohérence avec ces éléments, il a été montré que la SCP-HF du NST réduit et normalise la quantité de neurotransmetteurs GABA et Glutamate extracellulaires chez un modèle de rat parkinsonien, sans pour autant affecter ces transmissions chez les contrôles (Melon et al., 2015). Par ailleurs, la cinétique de déplétion des synapses, de l'ordre de quelques secondes, peu compatible avec des stimulations thérapeutiques, laisse à penser que les bénéfices résultent pour partie de ce mécanisme de dépression synaptique (McIntyre et al., 2004; McIntyre and Anderson, 2016). Par ailleurs, une étude de modélisation récente a montré que la SCP-HF induisait un découplage entre la voie hyperdirecte et ses afférences (Anderson et al., 2018). Face à ces données, la compréhension des mécanismes de la SCP se heurte à une difficulté majeure : la nécessaire compréhension et surtout l'évaluation de la connectivité fonctionnelle lors de modulations à plus large échelle par des réseaux distants notamment via la voie hyperdirecte et le cortex.

D. Quelle place pour la voie hyperdirecte ?

1) Limites de l'approche méthodologique

A travers nos manipulations de la voie hyperdirecte, nous n'avons pas pu avoir de modulation en utilisant l'optogénétique couplée à l'enregistrement de l'activité unitaire du NST. Pourtant, de nombreuses études montrent que cette voie est fonctionnelle (Gradinaru et al., 2009; Chu et al., 2017; Janssen et al., 2017). Cette absence d'effet est probablement liée à un certain nombre de facteurs confondants parmi lesquels l'âge des animaux, la longue durée d'expression des opsines, le choix du territoire cortical ciblé qui peut ne pas avoir été le plus judicieux par rapport à la tâche comportementale utilisée et enfin, et surtout, une faible efficacité de la transfection virale.

Nos expériences de chémogénétique n'ont pas permis d'isoler une contribution spécifique de la voie hyperdirecte dans les processus motivationnels. Pourtant l'action est exercée par les DREADDs au niveau du corps cellulaire mais également au niveau des projections et terminaisons synaptiques. En résumé, qu'il s'agisse d'une stimulation ou d'une inhibition, la modulation est exercée de façon globale sur les neurones de la voie hyperdirecte une fois marqués. Cependant si la double approche virale permet en théorie une très bonne spécificité dans le choix des projections marquées, elle ne permet de sélectionner qu'un nombre limité de neurones. A ce titre la première injection virale ne sélectionne qu'une sous-population des neurones du cortex infra-limbique. De la même manière, la deuxième injection, contenant le virus rétrograde qui remonte en direction de toutes les afférences du NST, ne permet de marquer qu'un nombre limité de neurones également (Roth, 2016). En fonction de l'intersection de ces deux ensembles neuronaux, la population de neurones de la voie hyperdirecte exprimant fonctionnellement les DREADDs peut être d'autant plus restreinte. L'analyse histologique confirmera ou pas cette expression. En dépit des études anatomiques qui décrivent un nombre élevé de projections corticales (Afsharpour, 1985a; Kita et al., 2014) et sur lesquelles nous avons basé nos coordonnées pour les injections virales, ce biais dans la sélection pourrait également être responsable des faibles effets de nos manipulations sur le comportement.

Le CNO a été présenté comme un activateur artificiel et spécifique des récepteurs DREADDs. Pourtant le mécanisme d'action du CNO a récemment été mis en lumière par une étude montrant que sa rétro-conversion en clozapine est nécessaire pour que le composé puisse passer la barrière hématoencéphalique (Gomez et al., 2017). Ce mécanisme a depuis été redémontré chez le rat (Manvich et al., 2018) et le primate (Raper et al., 2017). Ainsi, dans la plupart des applications où le CNO est injecté par voie systémique, le ligand effectif des récepteurs est la clozapine, une molécule pourvue de propriétés antipsychotiques, notamment utilisée dans le traitement de la schizophrénie. Ainsi il a été proposé que la clozapine soit progressivement utilisée comme agent pharmacologique pour l'activation des DREADDs. Plusieurs arguments supportent cette approche. D'une part la clozapine semble présenter une plus forte affinité pour les DREADDs que pour les récepteurs endogènes à laquelle elle se lie spontanément. Elle présente donc un tropisme favorable et peut être administrée à des doses sous-liminales pour lesquelles l'effet antipsychotique n'est pas avéré. D'autre part, cette molécule passe facilement la barrière hématoencéphalique ce qui garantit une bonne biodisponibilité et une cinétique plus rapide que le CNO et pour un coût beaucoup plus modeste. Etant donné que les expériences ont été conçues avant la publication du mécanisme d'action, nous nous étions équipés avec du CNO. En revanche, pour de futures expériences, la clozapine apparaît comme une excellente alternative pour l'activation des DREADDs. De nouveaux ligands comme la perlapine et la salvorine B ont également été présentés comme des agonistes des DREADDs, mais en l'absence de caractérisation de leur mécanisme d'action, le choix de ces molécules apparaît plus incertain pour l'instant.

Nos résultats suggèrent par ailleurs l'existence d'un effet aspécifique suite à l'injection de CNO durant les jours post-tests avec une réduction notable en PR de la motivation pour la nourriture et la cocaïne. Cet effet n'a pas été observé durant les sessions de FR5 et donc suggère une implication potentielle du niveau de difficulté de la tâche. Etant donné que le CNO est converti in-vivo en clozapine, cet effet pourrait correspondre aux effets tranquillisants et hypotenseurs de la clozapine (Stephens, 1990). Néanmoins, la persistance de ces composées 24 à 72 heures après injection semble peu probable au regard de la demi-vie relativement courte (~2h) du CNO et de la clozapine, détectables dans le plasma sanguin du rat (Baldessarini et al., 1993). Ces résultats sont donc probablement liés à des modifications et réorganisations à moyen terme induites par le couple CNO/Clozapine qui altère l'activité du système nerveux.

2) Rôle fonctionnel de la voie hyperdirecte

La contribution de la voie hyperdirecte issue de cortex moteur dans les processus moteurs a déjà été décrite en détails dans ce manuscrit. Par ailleurs, des expériences de déconnexions entre cortex prélimbique et NST causent des déficits dans le test attentionnel à 5 choix chez des rats, ce qui supporte l'hypothèse d'une contribution de la voie hyperdirecte dans les divers processus mis en jeu dans ce test (attentionnels, contrôle de l'inhibition, motivation) (Chudasama et al., 2003). Nos données préliminaires obtenues après modulation de la voie hyperdirecte issue du cortex infra-limbique suggèrent qu'elle n'intervient pas dans les processus motivationnels pour la nourriture ou la cocaïne, ni dans ceux impliquant la locomotion.

Cependant, nous avons ciblé le cortex infra-limbique en raison de sa projection sélective vers le territoire limbique du NST. A l'inverse, nous avons écarté les cortex orbito-frontal et préfrontal médian car leurs zones de projections semblaient déborder respectivement vers des zones correspondant à la zona incerta et au noyau para-subthalamique (Kita et al., 2014). Pourtant, en raison de leur implication dans les processus de prise de drogue ou de compulsion, ces structures pourraient constituer des alternatives crédibles.

Par ailleurs, nous espérons que la modulation de la voie hyperdirecte puisse permettre de dissocier les effets opposés de la SCP-HF du NST sur la motivation pour la nourriture et la cocaïne. De la même façon, en inactivant localement le NST il apparait difficile de moduler la motivation sans impacter le comportement moteur. Il est possible que la modulation des territoires appropriés de la voie hyperdirecte permette une telle ségrégation de ces processus.

Enfin, ces projections cortico-subthalamiques présentent un autre intérêt en raison de la position semblable que semblent occuper le NST et le NAc au sein du circuit de la récompense. Étant donné que la modulation des connexions entre cortex et NAc par SCP, allié avec un traitement basé sur des antagonistes dopaminergiques a été récemment proposé comme piste de traitement pour l'addiction à la cocaïne (Creed et al., 2015), explorer l'équivalent au niveau du NST pourrait se révéler extrêmement prometteur compte tenu de son implication dans les processus addictifs. Ceci afin de réduire la motivation pour la drogue d'abus sans pour autant impacter la motivation pour d'autres récompenses naturelles comme la nourriture. Enfin l'existence de rythmes frontaux dont l'activité électrophysiologique est synchronisée avec celle du NST a été démontrée dans plusieurs pathologies comme la maladie

de Parkinson (Delaville et al., 2015) et les TOCs (Rappel et al., 2018). Cette synchronisation suggère l'existence d'un équivalent possible dans le cas de l'addiction. Des telles activités corticales pourraient constituer une cible intéressante pour des méthodes de neuromodulation moins invasives telles que la stimulation magnétique trans-crânienne, dans l'espoir de réduire les comportements addictifs.

IV. Conclusion et perspectives

A travers ce travail de thèse, nous avons contribué à mettre en lumière la contribution fondamentale du NST dans des processus motivationnels et en lien avec les mécanismes de l'addiction. Si le potentiel thérapeutique du NST pour le traitement des addictions a déjà été largement souligné, en particulier dans le cas de la cocaïne, nos résultats contribuent à mettre davantage en lumière son impact majeur dans ces processus. L'identification de signatures électrophysiologiques en lien avec la transition vers l'addiction et la prise compulsive de drogue pourrait constituer une avancée thérapeutique majeure dans l'aide au diagnostic et la prise en charge des patients. De même, en documentant les effets de différentes fréquences utilisées en SCP sur les comportements addictifs nous espérons fournir un certain nombre d'éléments susceptibles d'orienter les choix thérapeutiques en fonction du contexte pathologique.

En particulier, l'identification de marqueurs corticaux associés aux signatures que nous avons enregistrés dans le NST pourrait être un élément prometteur d'un point de vue thérapeutique. En effet, de tels marqueurs électrophysiologiques pourraient être plus facilement détectables par des méthodes non invasives comme un électro-encéphalogramme, comme cela a pu être montré dans la maladie de Parkinson. Ces marqueurs pourraient constituer un moyen d'orienter les diagnostics cliniques vers une thérapie particulière en fonction des signaux détectés. Enfin l'identification de structures corticales peu profondes, impliquées dans les mécanismes d'addiction, pourrait permettre d'utiliser la stimulation magnétique transcrânienne, une méthode non-invasive de neuromodulation, afin de réduire les comportements addictifs.

Si nous n'avons pas pu mettre en évidence pour le moment un rôle fondamental de la voie hyperdirecte dans les comportements motivés, nos études montrent à l'inverse la contribution fondamentale du NST dans les processus qui contrôlent la motivation pour la nourriture sucrée et la cocaïne. En plus de mettre en lumière une équivalence fonctionnelle entre la SCP-HF et de l'inhibition du NST à propos des effets dans la motivation pour la nourriture et la cocaïne, nous avons démontré pour la première fois un comportement d'ICSS via la SCP-HF du NST. Ce dernier aspect pourrait intervenir dans la régulation de nombreux processus limbiques chez le patient et à ce titre sa compréhension pourrait permettre de faire le lien avec nombre d'effets secondaires observés après SCP-HF, comme le sentiment de bien

être associée au démarrage de la stimulation, les modifications de l'humeur, ou des troubles dépressifs. Cependant, en raison des différences de modulation du comportement observées entre SCP-HF et manipulations optogénétiques, cela laisse entrevoir un rôle important du réseau dans lequel le NST est inséré pour la maintenance à long terme des effets de la SCP-HF. L'identification des éléments du réseau impliqués pourrait permettre la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques pour la SCP-HF, montrant une efficacité accrue sur le comportement tout en limitant les effets secondaires.

L'utilisation des outils d'optogénétique nous a permis, dans un même temps, d'isoler la contribution spécifique du NST dans les processus motivationnels, et d'identifier une partie du mécanisme fonctionnel de la SCP-HF. Pourtant, la compréhension du mécanisme d'action de cette technique reste encore sujette à débat, notamment car il est difficile d'évaluer les conséquences sur la transmission synaptique de chacune des structures affectées par la stimulation électrique. De nouvelles techniques d'optogénétique, basées sur l'utilisation de d'indicateurs fluorescents voltage-dépendants ou sensibles au calcium pourraient constituer un outil prometteur pour mesurer les variations d'activité synaptique induites par la SCP-HF, car les enregistrements électrophysiologiques peuvent être compromis par la présence d'artéfacts de stimulation. De cette façon, il pourrait être possible d'identifier les réseaux neuronaux qui sont inactivés et quelles sont les projections responsables des augmentations d'activités rapportées pour certaines structures des GB.

En montrant que la modulation optogénétique du NST est en mesure d'affecter les comportements motivés, il devient dès lors intéressant d'identifier les projections spécifiques qui supportent ces modifications du comportement. Etant donné les nombreuses connexions du NST avec des structures impliquées dans le circuit de la récompense, ces dernières constituent des cibles de la première importance pour nos futures expériences.

Dans l'ensemble, ce travail de thèse devrait permettre de mieux comprendre les fonctions du NST dans les processus en lien avec la récompense. Nos études sur les mécanismes de l'addiction pourront constituer un support intéressant pour des applications cliniques. Pourtant, des études plus poussées sont requises pour mieux comprendre et appréhender dans quelle mesure la modulation du NST est susceptible de procurer des effets bénéfiques en fonction du contexte physiopathologique.

V. Bibliographie

- Abdi A, Mallet N, Mohamed FY, Sharott A, Dodson PD, Nakamura KC, Suri S, Avery SV, Larvin JT, Garas FN, Garas SN, Vinciati F, Morin S, Bezard E, Baufreton J, Magill PJ (2015) Prototypic and Arkypallidal Neurons in the Dopamine-Intact External Globus Pallidus. *J Neurosci* 35:6667–6688.
- Aberman JE, Salamone JD (1999) Nucleus accumbens dopamine depletions make rats more sensitive to high ratio requirements but do not impair primary food reinforcement. *Neuroscience* 92:545–552.
- Absher JR, Vogt BA, Clark DG, Flowers DL, Gorman DG, Keyes JW, Wood FB (2000) Hypersexuality and hemiballism due to subthalamic infarction. *Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol* 13:220–229.
- Accolla EA, Horn A, Herrojo-Ruiz M, Neumann W-J, Kühn AA (2017) Reply: Oscillatory coupling of the subthalamic nucleus in obsessive compulsive disorder. *Brain* 140:e57–e57.
- Adamantidis AR, Zhang F, Aravanis AM, Deisseroth K, de Lecea L (2007) Neural substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons. *Nature* 450:420–424.
- Adams WK, Vonder Haar C, Tremblay M, Cocker PJ, Silveira MM, Kaur S, Baunez C, Winstanley CA (2017) Deep-Brain Stimulation of the Subthalamic Nucleus Selectively Decreases Risky Choice in Risk-Preferring Rats. *eNeuro* 4.
- Afsharpour S (1985a) Topographical projections of the cerebral cortex to the subthalamic nucleus. *J Comp Neurol* 236:14–28.
- Afsharpour S (1985b) Light microscopic analysis of Golgi-impregnated rat subthalamic neurons. *J Comp Neurol* 236:1–13.
- Ågmo A, Galvan A, Talamantes B (1995) Reward and reinforcement produced by drinking sucrose: Two processes that may depend on different neurotransmitters. *Pharmacol Biochem Behav* 52:403–414.
- Ahmed SH (2012) The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience* 211:107–125.
- Ahmed SH, Cador M (2006) Dissociation of psychomotor sensitization from compulsive cocaine consumption. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* 31:563–571.
- Ahmed SH, Koob GF (1998) Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282:298–300.
- Ahmed SH, Koob GF (1999) Long-lasting increase in the set point for cocaine self-administration after escalation in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 146:303–312.
- Ahmed SH, Koob GF (2005) Transition to drug addiction: a negative reinforcement model based on an allostatic decrease in reward function. *Psychopharmacology (Berl)* 180:473–490.
- Ahmed SH, Walker JR, Koob GF (2000) Persistent increase in the motivation to take heroin in rats with a history of drug escalation. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* 22:413–421.
- Albin RL, Young AB, Penney JB (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci* 12:366–375.
- Alexander GE, Crutcher MD (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci* 13:266–271.
- Alexander GE, Crutcher MD, DeLong MR (1990) Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, “prefrontal” and “limbic” functions. *Prog Brain Res* 85:119–146.

- Alexander GE, DeLong MR, Strick PL (1986) Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci* 9:357–381.
- Alexander GM, Rogan SC, Abbas AI, Armbruster BN, Pei Y, Allen JA, Nonneman RJ, Hartmann J, Moy SS, Nicolelis MA, McNamara JO, Roth BL (2009) Remote control of neuronal activity in transgenic mice expressing evolved G protein-coupled receptors. *Neuron* 63:27–39.
- Amalric M, Cline EJ, Martinez JL, Bloom FE, Koob GF (1987) Rewarding properties of beta-endorphin as measured by conditioned place preference. *Psychopharmacology (Berl)* 91:14–19.
- American Psychiatric Association, American Psychiatric Association, DSM-5 Task Force (2013) Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5.
- Anderson RW, Farokhniaee A, Gunalan K, Howell B, McIntyre CC (2018) Action potential initiation, propagation, and cortical invasion in the hyperdirect pathway during subthalamic deep brain stimulation. *Brain Stimulat* Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1935861X18301554> [Accessed July 31, 2018].
- Anderson SM, Schmidt HD, Pierce RC (2006) Administration of the D2 dopamine receptor antagonist sulpiride into the shell, but not the core, of the nucleus accumbens attenuates cocaine priming-induced reinstatement of drug seeking. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* 31:1452–1461.
- Aponte Y, Atasoy D, Sternson SM (2011) AGRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training. *Nat Neurosci* 14:351–355.
- Aravanis AM, Wang L-P, Zhang F, Meltzer LA, Mogri MZ, Schneider MB, Deisseroth K (2007) An optical neural interface: in vivo control of rodent motor cortex with integrated fiberoptic and optogenetic technology. *J Neural Eng* 4:S143–156.
- Armbruster BN, Li X, Pausch MH, Herlitze S, Roth BL (2007) Evolving the lock to fit the key to create a family of G protein-coupled receptors potently activated by an inert ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:5163–5168.
- Armbruster BN, Roth BL (2005) Mining the receptorome. *J Biol Chem* 280:5129–5132.
- Arnulf I, Ferraye M, Fraix V, Benabid AL, Chabardès S, Goetz L, Pollak P, Debû B (2010) Sleep induced by stimulation in the human pedunculopontine nucleus area. *Ann Neurol* 67:546–549.
- Aron AR, Poldrack RA (2006) Cortical and subcortical contributions to Stop signal response inhibition: role of the subthalamic nucleus. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 26:2424–2433.
- Atasoy D, Betley JN, Su HH, Sternson SM (2012) Deconstruction of a neural circuit for hunger. *Nature* 488:172–177.
- Atherton JF, Menard A, Urbain N, Bevan MD (2013) Short-term depression of external globus pallidus-subthalamic nucleus synaptic transmission and implications for patterning subthalamic activity. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 33:7130–7144.
- Augood SJ, Waldvogel HJ, Mönkle MC, Faull RLM, Emson PC (1999) Localization of calcium-binding proteins and GABA transporter (GAT-1) messenger RNA in the human subthalamic nucleus. *Neuroscience* 88:521–534.
- Bakshi VP, Kelley AE (1993) Feeding induced by opioid stimulation of the ventral striatum: role of opiate receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther* 265:1253–1260.
- Baldessarini RJ, Centorrino F, Flood JG, Volpicelli SA, Huston-Lyons D, Cohen BM (1993) Tissue Concentrations of Clozapine and its Metabolites in the Rat. *Neuropsychopharmacology* 9:117–124.

- Barbano MF, Cador M (2006) Differential regulation of the consummatory, motivational and anticipatory aspects of feeding behavior by dopaminergic and opiodergic drugs. *Neuropsychopharmacology* 31:1371–1381.
- Barbano MF, Cador M (2007) Opioids for hedonic experience and dopamine to get ready for it. *Psychopharmacology (Berl)* 191:497–506.
- Barbeau A, Murphy GF, Sourkes TL (1961) Excretion of dopamine in diseases of basal ganglia. *Science* 133:1706–1707.
- Bassareo V, Di Chiara G (1997) Differential influence of associative and nonassociative learning mechanisms on the responsiveness of prefrontal and accumbal dopamine transmission to food stimuli in rats fed ad libitum. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 17:851–861.
- Bassareo V, Di Chiara G (1999) Differential responsiveness of dopamine transmission to food-stimuli in nucleus accumbens shell/core compartments. *Neuroscience* 89:637–641.
- Bastin J, Polosan M, Benis D, Goetz L, Bhattacharjee M, Piallat B, Krainik A, Bougerol T, Chabardès S, David O (2014) Inhibitory control and error monitoring by human subthalamic neurons. *Transl Psychiatry* 4:e439.
- Baufreton J, Bevan MD (2008) D2-like dopamine receptor-mediated modulation of activity-dependent plasticity at GABAergic synapses in the subthalamic nucleus. *J Physiol* 586:2121–2142.
- Baufreton J, Garret M, Dovero S, Dufy B, Bioulac B, Taupignon A (2001) Activation of GABA(A) receptors in subthalamic neurons in vitro: properties of native receptors and inhibition mechanisms. *J Neurophysiol* 86:75–85.
- Baufreton J, Garret M, Rivera A, de la Calle A, Gonon F, Dufy B, Bioulac B, Taupignon A (2003) D5 (not D1) dopamine receptors potentiate burst-firing in neurons of the subthalamic nucleus by modulating an L-type calcium conductance. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 23:816–825.
- Baufreton J, Kirkham E, Atherton JF, Menard A, Magill PJ, Bolam JP, Bevan MD (2009) Sparse but Selective and Potent Synaptic Transmission From the Globus Pallidus to the Subthalamic Nucleus. *J Neurophysiol* 102:532–545.
- Baunez C, Amalric M, Robbins TW (2002) Enhanced Food-Related Motivation after Bilateral Lesions of the Subthalamic Nucleus. *J Neurosci* 22:562–568.
- Baunez C, Christakou A, Chudasama Y, Forni C, Robbins TW (2007) Bilateral high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on attentional performance: transient deleterious effects and enhanced motivation in both intact and parkinsonian rats. *Eur J Neurosci* 25:1187–1194.
- Baunez C, Dias C, Cador M, Amalric M (2005) The subthalamic nucleus exerts opposite control on cocaine and “natural” rewards. *Nat Neurosci* 8:484–489.
- Baunez C, Humby T, Eagle DM, Ryan LJ, Dunnett SB, Robbins TW (2001) Effects of STN lesions on simple vs choice reaction time tasks in the rat: preserved motor readiness, but impaired response selection. *Eur J Neurosci* 13:1609–1616.
- Baunez C, Robbins TW (1997) Bilateral lesions of the subthalamic nucleus induce multiple deficits in an attentional task in rats. *Eur J Neurosci* 9:2086–2099.
- Baunez C, Robbins TW (1999) Effects of transient inactivation of the subthalamic nucleus by local muscimol and APV infusions on performance on the five-choice serial reaction time task in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 141:57–65.
- Baunez C, Yelnik J, Mallet L (2011) Six questions on the subthalamic nucleus: lessons from animal models and from stimulated patients. *Neuroscience* 198:193–204.

- Bechtereva NP, Bondartchuk AN, Smirnov VM, Meliutcheva LA, Shandurina AN (1975) Method of electrostimulation of the deep brain structures in treatment of some chronic diseases. *Confin Neurol* 37:136–140.
- Belin D, Mar AC, Dalley JW, Robbins TW, Everitt BJ (2008) High impulsivity predicts the switch to compulsive cocaine-taking. *Science* 320:1352–1355.
- Belluzzi JD, Stein L (1977) Enkephalin may mediate euphoria and drive-reduction reward. *Nature* 266:556–558.
- Benabid AL, Pollak P, Gross C, Hoffmann D, Benazzouz A, Gao DM, Laurent A, Gentil M, Perret J (1994) Acute and long-term effects of subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease. *Stereotact Funct Neurosurg* 62:76–84.
- Benazzouz A, Gao DM, Ni ZG, Piallat B, Bouali-Benazzouz R, Benabid AL (2000) Effect of high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on the neuronal activities of the substantia nigra pars reticulata and ventrolateral nucleus of the thalamus in the rat. *Neuroscience* 99:289–295.
- Benazzouz A, Gross C, Féger J, Boraud T, Bioulac B (1993) Reversal of Rigidity and Improvement in Motor Performance by Subthalamic High-frequency Stimulation in MPTP-treated Monkeys. *Eur J Neurosci* 5:382–389.
- Bender D, Holschbach M, Stöcklin G (1994) Synthesis of n.c.a. carbon-11 labelled clozapine and its major metabolite clozapine-N-oxide and comparison of their biodistribution in mice. *Nucl Med Biol* 21:921–925.
- Beninger RJ, Hahn BL (1983) Pimozide blocks establishment but not expression of amphetamine-produced environment-specific conditioning. *Science* 220:1304–1306.
- Benis D, David O, Lachaux J-P, Seigneuret E, Krack P, Fraix V, Chabardès S, Bastin J (2014) Subthalamic nucleus activity dissociates proactive and reactive inhibition in patients with Parkinson's disease. *NeuroImage* 91:273–281.
- Benson DL, Isackson PJ, Hendry SH, Jones EG (1991) Differential gene expression for glutamic acid decarboxylase and type II calcium-calmodulin-dependent protein kinase in basal ganglia, thalamus, and hypothalamus of the monkey. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 11:1540–1564.
- Bentzley BS, Aston-Jones G (2017) Inhibiting subthalamic nucleus decreases cocaine demand and relapse: therapeutic potential. *Addict Biol* 22:946–957.
- Bergman H, Wichmann T, DeLong MR (1990) Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science* 249:1436–1438.
- Bergman H, Wichmann T, Karmon B, DeLong MR (1994) The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *J Neurophysiol* 72:507–520.
- Berndt A, Lee SY, Ramakrishnan C, Deisseroth K (2014) Structure-Guided Transformation of Channelrhodopsin into a Light-Activated Chloride Channel. *Science* 344:420–424.
- Berndt A, Schoenenberger P, Mattis J, Tye KM, Deisseroth K, Hegemann P, Oertner TG (2011) High-efficiency channelrhodopsins for fast neuronal stimulation at low light levels. *Proc Natl Acad Sci* 108:7595–7600.
- Berrendero F, Kieffer BL, Maldonado R (2002) Attenuation of nicotine-induced antinociception, rewarding effects, and dependence in mu-opioid receptor knock-out mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 22:10935–10940.
- Berridge KC (1996) Food reward: brain substrates of wanting and liking. *Neurosci Biobehav Rev* 20:1–25.
- Berridge KC (2003) Pleasures of the brain. *Brain Cogn* 52:106–128.
- Berridge KC (2004) Motivation concepts in behavioral neuroscience. *Physiol Behav* 81:179–209.

- Berridge KC, Robinson TE (1998) What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Res Brain Res Rev* 28:309–369.
- Berridge KC, Schulkin J (1989) Palatability shift of a salt-associated incentive during sodium depletion. *Q J Exp Psychol B* 41:121–138.
- Beurrier C, Bioulac B, Audin J, Hammond C (2001) High-Frequency Stimulation Produces a Transient Blockade of Voltage-Gated Currents in Subthalamic Neurons. *J Neurophysiol* 85:1351–1356.
- Beurrier C, Congar P, Bioulac B, Hammond C (1999) Subthalamic Nucleus Neurons Switch from Single-Spike Activity to Burst-Firing Mode. *J Neurosci* 19:599–609.
- Bevan MD, Bolam JP (1995) Cholinergic, GABAergic, and glutamate-enriched inputs from the mesopontine tegmentum to the subthalamic nucleus in the rat. *J Neurosci* 15:7105–7120.
- Bevan MD, Booth PAC, Eaton SA, Bolam JP (1998) Selective Innervation of Neostriatal Interneurons by a Subclass of Neuron in the Globus Pallidus of the Rat. *J Neurosci* 18:9438–9452.
- Bevan MD, Francis CM, Bolam JP (1995) The glutamate-enriched cortical and thalamic input to neurons in the subthalamic nucleus of the rat: convergence with GABA-positive terminals. *J Comp Neurol* 361:491–511.
- Bevan MD, Magill PJ, Hallworth NE, Bolam JP, Wilson CJ (2002) Regulation of the timing and pattern of action potential generation in rat subthalamic neurons in vitro by GABA-A IPSPs. *J Neurophysiol* 87:1348–1362.
- Bevan MD, Wilson CJ (1999) Mechanisms underlying spontaneous oscillation and rhythmic firing in rat subthalamic neurons. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 19:7617–7628.
- Bevan MD, Wilson CJ, Bolam JP, Magill PJ (2000) Equilibrium potential of GABA(A) current and implications for rebound burst firing in rat subthalamic neurons in vitro. *J Neurophysiol* 83:3169–3172.
- Bezzina G, Boon FS den, Hampson CL, Cheung THC, Body S, Bradshaw CM, Szabadi E, Anderson IM, Deakin JFW (2008) Effect of quinolinic acid-induced lesions of the subthalamic nucleus on performance on a progressive-ratio schedule of reinforcement: A quantitative analysis. *Behav Brain Res* 195:223–230.
- Bindra D (1974) A motivational view of learning, performance, and behavior modification. *Psychol Rev* 81:199–213.
- Birkmayer W, Hornykiewicz O (1961) [The L-3,4-dioxyphenylalanine (DOPA)-effect in Parkinson-akinesia]. *Wien Klin Wochenschr* 73:787–788.
- Bishop MP, Elder ST, Heath RG (1963) Intracranial Self-Stimulation in Man. *Science* 140:394–396.
- Bodnar RJ (2004) Endogenous opioids and feeding behavior: a 30-year historical perspective. *Peptides* 25:697–725.
- Boender AJ, Jong JW de, Boekhoudt L, Luijendijk MCM, Plasse G van der, Adan RAH (2014) Combined Use of the Canine Adenovirus-2 and DREADD-Technology to Activate Specific Neural Pathways In Vivo. *PLOS ONE* 9:e95392.
- Boyden ES, Zhang F, Bamberg E, Nagel G, Deisseroth K (2005) Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat Neurosci* 8:1263–1268.
- Breyse E, Pelloux Y, Baunez C (2015) The Good and Bad Differentially Encoded within the Subthalamic Nucleus in Rats. *eNeuro* 2:ENEURO.0014-15.2015.
- Britt JP, Benaliouad F, McDevitt RA, Stuber GD, Wise RA, Bonci A (2012) Synaptic and Behavioral Profile of Multiple Glutamatergic Inputs to the Nucleus Accumbens. *Neuron* 76:790–803.

- Brown P, Oliviero A, Mazzone P, Insola A, Tonali P, Di Lazzaro V (2001) Dopamine dependency of oscillations between subthalamic nucleus and pallidum in Parkinson's disease. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 21:1033–1038.
- Bruet N, Windels F, Carcenac C, Feuerstein C, Bertrand A, Poupard A, Savasta M (2003) Neurochemical mechanisms induced by high frequency stimulation of the subthalamic nucleus: increase of extracellular striatal glutamate and GABA in normal and hemiparkinsonian rats. *J Neuropathol Exp Neurol* 62:1228–1240.
- Burguière E, Monteiro P, Feng G, Graybiel AM (2013) Optogenetic Stimulation of Lateral Orbitofronto-Striatal Pathway Suppresses Compulsive Behaviors. *Science* 340 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3876800/> [Accessed July 24, 2018].
- Bussey TJ, Everitt BJ, Robbins TW (1997) Dissociable effects of cingulate and medial frontal cortex lesions on stimulus-reward learning using a novel Pavlovian autoshaping procedure for the rat: implications for the neurobiology of emotion. *Behav Neurosci* 111:908–919.
- Butts KA, Weinberg J, Young AH, Phillips AG (2011) Glucocorticoid receptors in the prefrontal cortex regulate stress-evoked dopamine efflux and aspects of executive function. *Proc Natl Acad Sci* 108:18459–18464.
- C. Bolles R (1972) Reinforcement, Expectancy, and Learning. *Psychol Rev* 79:394–409.
- Cador M, Taylor JR, Robbins TW (1991) Potentiation of the effects of reward-related stimuli by dopaminergic-dependent mechanisms in the nucleus accumbens. *Psychopharmacology (Berl)* 104:377–385.
- Caine SB, Koob GF (1994a) Effects of dopamine D-1 and D-2 antagonists on cocaine self-administration under different schedules of reinforcement in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 270:209–218.
- Caine SB, Koob GF (1994b) Effects of mesolimbic dopamine depletion on responding maintained by cocaine and food. *J Exp Anal Behav* 61:213–221.
- Cannon CM, Palmiter RD (2003) Reward without dopamine. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 23:10827–10831.
- Cannon WB (1932) *The wisdom of the body*. W.W. Norton & Company, inc.
- Canteras NS, Shammah-Lagnado SJ, Silva BA, Ricardo JA (1990) Afferent connections of the subthalamic nucleus: a combined retrograde and anterograde horseradish peroxidase study in the rat. *Brain Res* 513:43–59.
- Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ (2002) Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev* 26:321–352.
- Carlson JD, Cleary DR, Cetas JS, Heinricher MM, Burchiel KJ (2010) Deep Brain Stimulation Does Not Silence Neurons in Subthalamic Nucleus in Parkinson's Patients. *J Neurophysiol* 103:962–967.
- Carpenter MB (1955) Ballism associated with partial destruction of the subthalamic nucleus of luis. *Neurology* 5:479–489.
- Carpenter MB, Carleton SC, Keller JT, Conte P (1981) Connections of the subthalamic nucleus in the monkey. *Brain Res* 224:1–29.
- Castro DC, Cole SL, Berridge KC (2015) Lateral hypothalamus, nucleus accumbens, and ventral pallidum roles in eating and hunger: interactions between homeostatic and reward circuitry. *Front Syst Neurosci* 9 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4466441/> [Accessed July 26, 2018].
- Caul WF, Brindle NA (2001) Schedule-dependent effects of haloperidol and amphetamine: multiple-schedule task shows within-subject effects. *Pharmacol Biochem Behav* 68:53–63.

- Cavanagh JF, Wiecki TV, Cohen MX, Figueroa CM, Samanta J, Sherman SJ, Frank MJ (2011) Subthalamic nucleus stimulation reverses mediofrontal influence over decision threshold. *Nat Neurosci* 14:1462–1467.
- Chen BT, Yau H-J, Hatch C, Kusumoto-Yoshida I, Cho SL, Hopf FW, Bonci A (2013) Rescuing cocaine-induced prefrontal cortex hypoactivity prevents compulsive cocaine seeking. *Nature* 496:359–362.
- Chen CC, Hsu YT, Chan HL, Chiou SM, Tu PH, Lee ST, Tsai CH, Lu CS, Brown P (2010) Complexity of subthalamic 13–35 Hz oscillatory activity directly correlates with clinical impairment in patients with Parkinson's disease. *Exp Neurol* 224:234–240.
- Chetrit J, Taupignon A, Froux L, Morin S, Bouali-Benazzouz R, Naudet F, Kadiri N, Gross CE, Bioulac B, Benazzouz A (2013) Inhibiting subthalamic D5 receptor constitutive activity alleviates abnormal electrical activity and reverses motor impairment in a rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 33:14840–14849.
- Chu H-Y, Atherton JF, Wokosin D, Surmeier DJ, Bevan MD (2015) Heterosynaptic Regulation of External Globus Pallidus Inputs to the Subthalamic Nucleus by the Motor Cortex. *Neuron* 85:364–376.
- Chu H-Y, McIver EL, Kovaleski RF, Atherton JF, Bevan MD (2017) Loss of Hyperdirect Pathway Cortico-Subthalamic Inputs Following Degeneration of Midbrain Dopamine Neurons. *Neuron* 95:1306–1318.e5.
- Chudasama Y, Passetti F, Rhodes SEV, Lopian D, Desai A, Robbins TW (2003) Dissociable aspects of performance on the 5-choice serial reaction time task following lesions of the dorsal anterior cingulate, infralimbic and orbitofrontal cortex in the rat: differential effects on selectivity, impulsivity and compulsivity. *Behav Brain Res* 146:105–119.
- Cleary J, Weldon DT, O'Hare E, Billington C, Levine AS (1996) Naloxone effects on sucrose-motivated behavior. *Psychopharmacology (Berl)* 126:110–114.
- Coizet V, Graham JH, Moss J, Bolam JP, Savasta M, McHaffie JG, Redgrave P, Overton PG (2009) Short-Latency Visual Input to the Subthalamic Nucleus Is Provided by the Midbrain Superior Colliculus. *J Neurosci* 29:5701–5709.
- Contet C, Kieffer BL, Befort K (2004) Mu opioid receptor: a gateway to drug addiction. *Curr Opin Neurobiol* 14:370–378.
- Cooper S, Robison AJ, Mazei-Robison MS (2017) Reward Circuitry in Addiction. *Neurother J Am Soc Exp Neurother* 14:687–697.
- Corbett D, Wise RA (1980) Intracranial self-stimulation in relation to the ascending dopaminergic systems of the midbrain: A moveable electrode mapping study. *Brain Res* 185:1–15.
- Correa M, Carlson BB, Wisniecki A, Salamone JD (2002) Nucleus accumbens dopamine and work requirements on interval schedules. *Behav Brain Res* 137:179–187.
- Coulthard EJ, Bogacz R, Javed S, Mooney LK, Murphy G, Keeley S, Whone AL (2012) Distinct roles of dopamine and subthalamic nucleus in learning and probabilistic decision making. *Brain J Neurol* 135:3721–3734.
- Cragg SJ, Baufreton J, Xue Y, Bolam JP, Bevan MD (2004) Synaptic release of dopamine in the subthalamic nucleus. *Eur J Neurosci* 20:1788–1802.
- Crane AM, Roberts ME, Treasure J (2007) Are obsessive-compulsive personality traits associated with a poor outcome in anorexia nervosa? A systematic review of randomized controlled trials and naturalistic outcome studies. *Int J Eat Disord* 40:581–588.
- Creed M, Ntamati NR, Chandra R, Lobo MK, Lüscher C (2016) Convergence of Reinforcing and Anhedonic Cocaine Effects in the Ventral Pallidum. *Neuron* 92:214–226.

- Creed M, Pascoli VJ, Lüscher C (2015) Refining deep brain stimulation to emulate optogenetic treatment of synaptic pathology. *Science* 347:659–664.
- Dackis CA, Gold MS (1985) New concepts in cocaine addiction: the dopamine depletion hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev* 9:469–477.
- Darbaky Y, Baunez C, Arecchi P, Legallet E, Apicella P (2005) Reward-related neuronal activity in the subthalamic nucleus of the monkey. *Neuroreport* 16:1241–1244.
- Davis KL, Neuropsychopharmacology AC of (2002) *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress* : an Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology. Lippincott Williams & Wilkins.
- Deep-Brain Stimulation for Parkinson's Disease Study Group (2001) Deep-Brain Stimulation of the Subthalamic Nucleus or the Pars Interna of the Globus Pallidus in Parkinson's Disease. *N Engl J Med* 345:956–963.
- Deffains M, Iskhakova L, Katabi S, Haber SN, Israel Z, Bergman H (2016) Subthalamic, not striatal, activity correlates with basal ganglia downstream activity in normal and parkinsonian monkeys. *eLife* 5.
- Degos B, Deniau J-M, Chavez M, Maurice N (2013) Subthalamic Nucleus High-Frequency Stimulation Restores Altered Electrophysiological Properties of Cortical Neurons in Parkinsonian Rat. *PLOS ONE* 8:e83608.
- Degos B, Deniau J-M, Le Cam J, Mailly P, Maurice N (2008) Evidence for a direct subthalamo-cortical loop circuit in the rat. *Eur J Neurosci* 27:2599–2610.
- Deisseroth K (2011) Optogenetics. *Nat Methods* 8:26–29.
- Deisseroth K (2015) Optogenetics: 10 years of microbial opsins in neuroscience. *Nat Neurosci* 18:1213–1225.
- Delamater AR, LoLordo VM, Berridge KC (1986) Control of fluid palatability by exteroceptive Pavlovian signals. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 12:143–152.
- Delaville C, McCoy AJ, Gerber CM, Cruz AV, Walters JR (2015) Subthalamic Nucleus Activity in the Awake Hemiparkinsonian Rat: Relationships with Motor and Cognitive Networks. *J Neurosci* 35:6918–6930.
- Delgado JMR (1952) Permanent implantation of multilead electrodes in the brain. *Yale J Biol Med* 24:351–358.
- Delgado JMR, Hamlin H, Chapman WP (1952) Technique of intracranial electrode implantation for recording and stimulation and its possible therapeutic value in psychotic patients. *Confin Neurol* 12:315–319.
- DeLong MR (1990) Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci* 13:281–285.
- Depoortere RY, Li DH, Lane JD, Emmett-Oglesby MW (1993) Parameters of self-administration of cocaine in rats under a progressive-ratio schedule. *Pharmacol Biochem Behav* 45:539–548.
- Deroche-Gamonet V, Belin D, Piazza PV (2004) Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science* 305:1014–1017.
- Di Chiara G (1995) The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. *Drug Alcohol Depend* 38:95–137.
- Di Chiara G, Imperato A (1988) Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85:5274–5278.
- Di Chiara G, Tanda G, Bassareo V, Pontieri F, Acquas E, Fenu S, Cadoni C, Carboni E (1999) Drug addiction as a disorder of associative learning. Role of nucleus accumbens shell/extended amygdala dopamine. *Ann N Y Acad Sci* 877:461–485.

- Dilleen R, Pelloux Y, Mar AC, Molander A, Robbins TW, Everitt BJ, Dalley JW, Belin D (2012) High anxiety is a predisposing endophenotype for loss of control over cocaine, but not heroin, self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 222:89–97.
- Dodson PD, Larvin JT, Duffell JM, Garas FN, Doig NM, Kessaris N, Duguid IC, Bogacz R, Butt SJB, Magill PJ (2015) Distinct Developmental Origins Manifest in the Specialized Encoding of Movement by Adult Neurons of the External Globus Pallidus. *Neuron* 86:501–513.
- Doyle TG, Berridge KC, Gosnell BA (1993) Morphine enhances hedonic taste palatability in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 46:745–749.
- Drewnowski A, Krahn DD, Demitrack MA, Nairn K, Gosnell BA (1995) Naloxone, an opiate blocker, reduces the consumption of sweet high-fat foods in obese and lean female binge eaters. *Am J Clin Nutr* 61:1206–1212.
- Eagle DM, Baunez C (2010) Is there an inhibitory-response-control system in the rat? Evidence from anatomical and pharmacological studies of behavioral inhibition. *Neurosci Biobehav Rev* 34:50–72.
- Eagle DM, Baunez C, Hutcheson DM, Lehmann O, Shah AP, Robbins TW (2008) Stop-signal reaction-time task performance: role of prefrontal cortex and subthalamic nucleus. *Cereb Cortex* 18:178–188.
- Eldridge MAG, Lerchner W, Saunders RC, Kaneko H, Krausz KW, Gonzalez FJ, Ji B, Higuchi M, Minamimoto T, Richmond BJ (2016) Chemogenetic disconnection of monkey orbitofrontal and rhinal cortex reversibly disrupts reward value. *Nat Neurosci* 19:37–39.
- English JG, Roth BL (2015) Chemogenetics-A Transformational and Translational Platform. *JAMA Neurol* 72:1361–1366.
- Espinosa-Parrilla J-F, Baunez C, Apicella P (2015) Modulation of neuronal activity by reward identity in the monkey subthalamic nucleus. *Eur J Neurosci* 42:1705–1717.
- Ettenberg A, Koob GF, Bloom FE (1981) Response artifact in the measurement of neuroleptic-induced anhedonia. *Science* 213:357–359.
- Eusebio A, Cagnan H, Brown P (2012) Does suppression of oscillatory synchronisation mediate some of the therapeutic effects of DBS in patients with Parkinson's disease? *Front Integr Neurosci* 6:47.
- Eusebio A, Chen CC, Lu CS, Lee ST, Tsai CH, Limousin P, Hariz M, Brown P (2008) Effects of low-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on movement in Parkinson's disease. *Exp Neurol* 209:125–130.
- Eusebio A, Witjas T, Cohen J, Fluchère F, Jouve E, Régis J, Azulay J-P (2013) Subthalamic nucleus stimulation and compulsive use of dopaminergic medication in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 84:868–874.
- Everitt BJ (2014) Neural and psychological mechanisms underlying compulsive drug seeking habits and drug memories – indications for novel treatments of addiction. *Eur J Neurosci* 40:2163–2182.
- Everitt BJ, Belin D, Economidou D, Pelloux Y, Dalley JW, Robbins TW (2008) Neural mechanisms underlying the vulnerability to develop compulsive drug-seeking habits and addiction. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 363:3125–3135.
- Faget L, Zell V, Souter E, McPherson A, Ressler R, Gutierrez-Reed N, Yoo JH, Dulcis D, Hnasko TS (2018) Opponent control of behavioral reinforcement by inhibitory and excitatory projections from the ventral pallidum. *Nat Commun* 9:849.
- Fan KY, Baufreton J, Surmeier DJ, Chan CS, Bevan MD (2012) Proliferation of external globus pallidus-subthalamic nucleus synapses following degeneration of midbrain dopamine neurons. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 32:13718–13728.

- Farrell MS, Pei Y, Wan Y, Yadav PN, Daigle TL, Urban DJ, Lee H-M, Sciaky N, Simmons A, Nonneman RJ, Huang X-P, Hufeisen SJ, Guettier J-M, Moy SS, Wess J, Caron MG, Calakos N, Roth BL (2013) A G α s DREADD mouse for selective modulation of cAMP production in striatopallidal neurons. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* 38:854–862.
- Féger J, Bevan M, Crossman AR (1994) The projections from the parafascicular thalamic nucleus to the subthalamic nucleus and the striatum arise from separate neuronal populations: a comparison with the corticostriatal and corticosubthalamic efferents in a retrograde fluorescent double-labelling study. *Neuroscience* 60:125–132.
- Ferguson SM, Eskenazi D, Ishikawa M, Wanat MJ, Phillips PEM, Dong Y, Roth BL, Neumaier JF (2011) Transient neuronal inhibition reveals opposing roles of indirect and direct pathways in sensitization. *Nat Neurosci* 14:22–24.
- Ferguson SM, Phillips PEM, Roth BL, Wess J, Neumaier JF (2013) Direct-pathway striatal neurons regulate the retention of decision-making strategies. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 33:11668–11676.
- Ferrario CR, Gorny G, Crombag HS, Li Y, Kolb B, Robinson TE (2005) Neural and behavioral plasticity associated with the transition from controlled to escalated cocaine use. *Biol Psychiatry* 58:751–759.
- Fibiger HC (1978) Drugs and reinforcement mechanisms: a critical review of the catecholamine theory. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 18:37–56.
- Fife KH, Gutierrez-Reed NA, Zell V, Bailly J, Lewis CM, Aron AR, Hnasko TS (2017) Causal role for the subthalamic nucleus in interrupting behavior. *eLife* 6.
- Filion M, Tremblay L (1991) Abnormal spontaneous activity of globus pallidus neurons in monkeys with MPTP-induced parkinsonism. *Brain Res* 547:142–151.
- Filion M, Tremblay L, Bédard PJ (1991) Effects of dopamine agonists on the spontaneous activity of globus pallidus neurons in monkeys with MPTP-induced parkinsonism. *Brain Res* 547:152–161.
- François C, Savy C, Jan C, Tande D, Hirsch EC, Yelnik J (2000) Dopaminergic innervation of the subthalamic nucleus in the normal state, in MPTP-treated monkeys, and in Parkinson's disease patients. *J Comp Neurol* 425:121–129.
- François C, Yelnik J, Percheron G (1987) Golgi study of the primate substantia nigra. II. Spatial organization of dendritic arborizations in relation to the cytoarchitectonic boundaries and to the striatonigral bundle. *J Comp Neurol* 265:473–493.
- Frank MJ, Samanta J, Moustafa AA, Sherman SJ (2007) Hold your horses: impulsivity, deep brain stimulation, and medication in parkinsonism. *Science* 318:1309–1312.
- Freeze BS, Kravitz AV, Hammack N, Berke JD, Kreitzer AC (2013) Control of Basal Ganglia Output by Direct and Indirect Pathway Projection Neurons. *J Neurosci* 33:18531–18539.
- Fujimoto K, Kita H (1993) Response characteristics of subthalamic neurons to the stimulation of the sensorimotor cortex in the rat. *Brain Res* 609:185–192.
- Fuller TA, Russchen FT, Price JL (1987) Sources of presumptive glutamergic/aspartergic afferents to the rat ventral striatopallidal region. *J Comp Neurol* 258:317–338.
- Fumagalli M, Giannicola G, Rosa M, Marceglia S, Lucchiari C, Mrakic-Sposta S, Servello D, Pacchetti C, Porta M, Sassi M, Zangaglia R, Franzini A, Albanese A, Romito L, Piacentini S, Zago S, Pravettoni G, Barbieri S, Priori A (2011) Conflict-dependent dynamic of subthalamic nucleus oscillations during moral decisions. *Soc Neurosci* 6:243–256.
- Galvan A, Hu X, Rommelfanger KS, Pare J-F, Khan ZU, Smith Y, Wichmann T (2014) Localization and function of dopamine receptors in the subthalamic nucleus of normal and parkinsonian monkeys. *J Neurophysiol* 112:467–479.

- Garner AR, Rowland DC, Hwang SY, Baumgaertel K, Roth BL, Kentros C, Mayford M (2012) Generation of a Synthetic Memory Trace. *Science* 335:1513–1516.
- Gerfen CR (1992) The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *Trends Neurosci* 15:133–139.
- Gerfen CR, Bolam JP (2017) Chapter 1 - The Neuroanatomical Organization of the Basal Ganglia. In: *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Steiner H, Tseng KY, eds), pp 3–32 *Handbook of Basal Ganglia Structure and Function*, Second Edition. Elsevier.
- Gerfen CR, Engber TM, Mahan LC, Susel Z, Chase TN, Monsma FJ, Sibley DR (1990) D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* 250:1429–1432.
- Gerfen CR, Keefe KA, Gauda EB (1995) D1 and D2 dopamine receptor function in the striatum: coactivation of D1- and D2-dopamine receptors on separate populations of neurons results in potentiated immediate early gene response in D1-containing neurons. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 15:8167–8176.
- Gerrits MA, Patkina N, Zvartau EE, van Ree JM (1995) Opioid blockade attenuates acquisition and expression of cocaine-induced place preference conditioning in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 119:92–98.
- Ghozland S, Matthes HWD, Simonin F, Filliol D, Kieffer BL, Maldonado R (2002) Motivational effects of cannabinoids are mediated by mu-opioid and kappa-opioid receptors. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 22:1146–1154.
- Giraud SQ, Grace MK, Welch CC, Billington CJ, Levine AS (1993) Naloxone's anorectic effect is dependent upon the relative palatability of food. *Pharmacol Biochem Behav* 46:917–921.
- Giuliano C, Robbins TW, Wille DR, Bullmore ET, Everitt BJ (2013) Attenuation of cocaine and heroin seeking by μ -opioid receptor antagonism. *Psychopharmacology (Berl)* 227:137–147.
- Glass MJ, Billington CJ, Levine AS (1999) Opioids and food intake: distributed functional neural pathways? *Neuropeptides* 33:360–368.
- Goeders NE, Lane JD, Smith JE (1984) Self-administration of methionine enkephalin into the nucleus accumbens. *Pharmacol Biochem Behav* 20:451–455.
- Gomez JL, Bonaventura J, Lesniak W, Mathews WB, Sysa-Shah P, Rodriguez LA, Ellis RJ, Richie CT, Harvey BK, Dannals RF, Pomper MG, Bonci A, Michaelides M (2017) Chemogenetics revealed: DREADD occupancy and activation via converted clozapine. *Science* 357:503–507.
- Gouty-Colomer L-A, Michel FJ, Baude A, Lopez-Pauchet C, Dufour A, Cossart R, Hammond C (2018) Mouse subthalamic nucleus neurons with local axon collaterals. *J Comp Neurol* 526:275–284.
- Gradinaru V, Mogri M, Thompson KR, Henderson JM, Deisseroth K (2009) Optical Deconstruction of Parkinsonian Neural Circuitry. *Science* 324:354–359.
- Gradinaru V, Thompson KR, Deisseroth K (2008) eNpHR: a *Natronomonas* halorhodopsin enhanced for optogenetic applications. *Brain Cell Biol* 36:129–139.
- Gradinaru V, Thompson KR, Zhang F, Mogri M, Kay K, Schneider MB, Deisseroth K (2007) Targeting and readout strategies for fast optical neural control in vitro and in vivo. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 27:14231–14238.
- Gratton A, Wise RA (1983) Brain stimulation reward in the lateral hypothalamic medial forebrain bundle: mapping of boundaries and homogeneity. *Brain Res* 274:25–30.
- Graybiel AM (1990) Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *Trends Neurosci* 13:244–254.
- Groenewegen HJ, Berendse HW (1990) Connections of the subthalamic nucleus with ventral striatopallidal parts of the basal ganglia in the rat. *J Comp Neurol* 294:607–622.

- Groenewegen HJ, Berendse HW, Wolters JG, Lohman AH (1990) The anatomical relationship of the prefrontal cortex with the striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: evidence for a parallel organization. *Prog Brain Res* 85:95–116; discussion 116–118.
- Guettier J-M, Gautam D, Scarselli M, Ruiz de Azua I, Li JH, Rosemond E, Ma X, Gonzalez FJ, Armbruster BN, Lu H, Roth BL, Wess J (2009) A chemical-genetic approach to study G protein regulation of beta cell function in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:19197–19202.
- Gunaydin LA, Yizhar O, Berndt A, Sohal VS, Deisseroth K, Hegemann P (2010) Ultrafast optogenetic control. *Nat Neurosci* 13:387–392.
- Haber SN (2003) The primate basal ganglia: parallel and integrative networks. *J Chem Neuroanat* 26:317–330.
- Haber SN, Fudge JL, McFarland NR (2000) Striatonigrostriatal Pathways in Primates Form an Ascending Spiral from the Shell to the Dorsolateral Striatum. *J Neurosci* 20:2369–2382.
- Haber SN, Ryoo H, Cox C, Lu W (1995) Subsets of midbrain dopaminergic neurons in monkeys are distinguished by different levels of mRNA for the dopamine transporter: comparison with the mRNA for the D2 receptor, tyrosine hydroxylase and calbindin immunoreactivity. *J Comp Neurol* 362:400–410.
- Hall FS, Goeb M, Li X-F, Sora I, Uhl GR (2004) mu-Opioid receptor knockout mice display reduced cocaine conditioned place preference but enhanced sensitization of cocaine-induced locomotion. *Brain Res Mol Brain Res* 121:123–130.
- Hallworth NE, Bevan MD (2005) Globus pallidus neurons dynamically regulate the activity pattern of subthalamic nucleus neurons through the frequency-dependent activation of postsynaptic GABAA and GABAB receptors. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 25:6304–6315.
- Hamani C, Florence G, Heinsen H, Plantinga BR, Temel Y, Uludag K, Alho E, Teixeira MJ, Amaro E, Fonoff ET (2017) Subthalamic Nucleus Deep Brain Stimulation: Basic Concepts and Novel Perspectives. *eNeuro* 4:ENEURO.0140-17.2017.
- Hamani C, Saint-Cyr JA, Fraser J, Kaplitt M, Lozano AM (2004) The subthalamic nucleus in the context of movement disorders. *Brain* 127:4–20.
- Hammond C, Rouzaire-Dubois B, Féger J, Jackson A, Crossman AR (1983) Anatomical and electrophysiological studies on the reciprocal projections between the subthalamic nucleus and nucleus tegmenti pedunculopontinus in the rat. *Neuroscience* 9:41–52.
- Hashimoto T, Elder CM, Okun MS, Patrick SK, Vitek JL (2003) Stimulation of the Subthalamic Nucleus Changes the Firing Pattern of Pallidal Neurons. *J Neurosci* 23:1916–1923.
- Hassani OK, François C, Yelnik J, Féger J (1997) Evidence for a dopaminergic innervation of the subthalamic nucleus in the rat. *Brain Res* 749:88–94.
- Haynes WIA, Haber SN (2013) The Organization of Prefrontal-Subthalamic Inputs in Primates Provides an Anatomical Substrate for Both Functional Specificity and Integration: Implications for Basal Ganglia Models and Deep Brain Stimulation. *J Neurosci* 33:4804–4814.
- Hayward MD, Pinter JE, Low MJ (2002) Selective Reward Deficit in Mice Lacking β -Endorphin and Enkephalin. *J Neurosci* 22:8251–8258.
- Heath RG (1963) Electrical self-stimulation of the brain in man. *Am J Psychiatry* 120:571–577.
- Herz A (1997) Endogenous opioid systems and alcohol addiction. *Psychopharmacology (Berl)* 129:99–111.
- Herz A (1998) Opioid reward mechanisms: a key role in drug abuse? *Can J Physiol Pharmacol* 76:252–258.
- Hodos W (1961) Progressive Ratio as a Measure of Reward Strength. *Science* 134:943–944.

- Holly EN, Miczek KA (2016) Ventral tegmental area dopamine revisited: effects of acute and repeated stress. *Psychopharmacology (Berl)* 233:163–186.
- Hontanilla B, Parent A, Giménez-Amaya JM (1997) Parvalbumin and calbindin D-28k in the entopeduncular nucleus, subthalamic nucleus, and substantia nigra of the rat as revealed by double-immunohistochemical methods. *Synapse* 25:359–367.
- Horvitz JC, Ettenberg A (1991) Conditioned incentive properties of a food-paired conditioned stimulus remain intact during dopamine receptor blockade. *Behav Neurosci* 105:536–541.
- Ikemoto S, Panksepp J (1996) Dissociations between appetitive and consummatory responses by pharmacological manipulations of reward-relevant brain regions. *Behav Neurosci* 110:331–345.
- Ikemoto S, Panksepp J (1999) The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Res Rev* 31:6–41.
- Jann MW, Lam YW, Chang WH (1994) Rapid formation of clozapine in guinea-pigs and man following clozapine-N-oxide administration. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 328:243–250.
- Janssen MLF, Temel Y, Delaville C, Zwartjes DGM, Heida T, Deurwaerdere PD, Visser-Vandewalle V, Benazzouz A (2017) Cortico-subthalamic inputs from the motor, limbic, and associative areas in normal and dopamine-depleted rats are not fully segregated. *Brain Struct Funct* 222:2473–2485.
- Joel D, Weiner I (1997) The connections of the primate subthalamic nucleus: indirect pathways and the open-interconnected scheme of basal ganglia-thalamocortical circuitry. *Brain Res Brain Res Rev* 23:62–78.
- Joel D, Weiner I (2000) The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: an analysis with respect to the functional and compartmental organization of the striatum. *Neuroscience* 96:451–474.
- Junyent F, Kremer EJ (2015) CAV-2—why a canine virus is a neurobiologist’s best friend. *Curr Opin Pharmacol* 24:86–93.
- Justin Rossi P, Peden C, Castellanos O, Foote KD, Gunduz A, Okun MS (2017) The human subthalamic nucleus and globus pallidus internus differentially encode reward during action control. *Hum Brain Mapp* 38:1952–1964.
- Kalivas PW, Volkow N, Seamans J (2005) Unmanageable motivation in addiction: a pathology in prefrontal-accumbens glutamate transmission. *Neuron* 45:647–650.
- Kalivas PW, Widerlöv E, Stanley D, Breese G, Prange AJ (1983) Enkephalin action on the mesolimbic system: a dopamine-dependent and a dopamine-independent increase in locomotor activity. *J Pharmacol Exp Ther* 227:229–237.
- Kebabian JW, Calne DB (1979) Multiple receptors for dopamine. *Nature* 277:93–96.
- Kelley AE, Berridge KC (2002) The Neuroscience of Natural Rewards: Relevance to Addictive Drugs. *J Neurosci* 22:3306–3311.
- Kemp JM, Powell TP (1971) The connexions of the striatum and globus pallidus: synthesis and speculation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 262:441–457.
- Kirby GW (1967) Biosynthesis of the morphine alkaloids. *Science* 155:170–173.
- Kita H, Kitai ST (1987) Efferent projections of the subthalamic nucleus in the rat: light and electron microscopic analysis with the PHA-L method. *J Comp Neurol* 260:435–452.
- Kita H, Kitai ST (1991) Intracellular study of rat globus pallidus neurons: membrane properties and responses to neostriatal, subthalamic and nigral stimulation. *Brain Res* 564:296–305.

- Kita T, Kita H (2011) Cholinergic and non-cholinergic mesopontine tegmental neurons projecting to the subthalamic nucleus in the rat. *Eur J Neurosci* 33:433–443.
- Kita T, Kita H (2012) The Subthalamic Nucleus Is One of Multiple Innervation Sites for Long-Range Corticofugal Axons: A Single-Axon Tracing Study in the Rat. *J Neurosci* 32:5990–5999.
- Kita T, Osten P, Kita H (2014) Rat subthalamic nucleus and zona incerta share extensively overlapped representations of cortical functional territories. *J Comp Neurol* 522:4043–4056.
- Kitai ST, Deniau JM (1981) Cortical inputs to the subthalamus: intracellular analysis. *Brain Res* 214:411–415.
- Kitamura O, Wee S, Specio SE, Koob GF, Pulvirenti L (2006) Escalation of methamphetamine self-administration in rats: a dose-effect function. *Psychopharmacology (Berl)* 186:48–53.
- Klavir O, Prigge M, Sarel A, Paz R, Yizhar O (2017) Manipulating fear associations via optogenetic modulation of amygdala inputs to prefrontal cortex. *Nat Neurosci* 20:836–844.
- Konorski J (1967) Integrative Activity of the Brain: An Interdisciplinary Approach. University of Chicago Press.
- Koob GF (1992) Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends Pharmacol Sci* 13:177–184.
- Koob GF (1996) Drug addiction: the yin and yang of hedonic homeostasis. *Neuron* 16:893–896.
- Koob GF, Le Moal M (1997) Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science* 278:52–58.
- Koob GF, Le Moal M (2001) Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* 24:97–129.
- Kozorovitskiy Y, Saunders A, Johnson CA, Lowell BB, Sabatini BL (2012) Recurrent network activity drives striatal synaptogenesis. *Nature* 485:646–650.
- Krack P, Hariz MI, Baunez C, Guridi J, Obeso JA (2010) Deep brain stimulation: from neurology to psychiatry? *Trends Neurosci* 33:474–484.
- Krack P, Kumar R, Ardouin C, Dowsey PL, McVicker JM, Benabid AL, Pollak P (2001) Mirthful laughter induced by subthalamic nucleus stimulation. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 16:867–875.
- Krashes MJ, Koda S, Ye C, Rogan SC, Adams AC, Cusher DS, Maratos-Flier E, Roth BL, Lowell BB (2011) Rapid, reversible activation of AgRP neurons drives feeding behavior in mice. *J Clin Invest* 121:1424–1428.
- Krashes MJ, Shah BP, Koda S, Lowell BB (2013) Rapid versus delayed stimulation of feeding by the endogenously released AgRP neuron mediators, GABA, NPY and AgRP. *Cell Metab* 18:588–589.
- Kravitz AV, Freeze BS, Parker PRL, Kay K, Thwin MT, Deisseroth K, Kreitzer AC (2010) Regulation of parkinsonian motor behaviours by optogenetic control of basal ganglia circuitry. *Nature* 466:622–626.
- Kühn AA, Trottenberg T, Kivi A, Kupsch A, Schneider G-H, Brown P (2005) The relationship between local field potential and neuronal discharge in the subthalamic nucleus of patients with Parkinson's disease. *Exp Neurol* 194:212–220.
- Kühn AA, Tsui A, Aziz T, Ray N, Brücke C, Kupsch A, Schneider G-H, Brown P (2009) Pathological synchronisation in the subthalamic nucleus of patients with Parkinson's disease relates to both bradykinesia and rigidity. *Exp Neurol* 215:380–387.
- Kühn AA, Williams D, Kupsch A, Limousin P, Hariz M, Schneider G-H, Yarrow K, Brown P (2004) Event-related beta desynchronization in human subthalamic nucleus correlates with motor performance. *Brain J Neurol* 127:735–746.

- Künzle H, Akert K (1977) Efferent connections of cortical, area 8 (frontal eye field) in *Macaca fascicularis*. A reinvestigation using the autoradiographic technique. *J Comp Neurol* 173:147–164.
- Kuzmin AV, Gerrits MA, van Ree JM, Zvartau EE (1997) Naloxone inhibits the reinforcing and motivational aspects of cocaine addiction in mice. *Life Sci* 60:PL-257-264.
- Lammel S, Lim BK, Ran C, Huang KW, Betley MJ, Tye KM, Deisseroth K, Malenka RC (2012) Input-specific control of reward and aversion in the ventral tegmental area. *Nature* 491:212–217.
- Lardeux S, Baunez C (2008) Alcohol Preference Influences the Subthalamic Nucleus Control on Motivation for Alcohol in Rats. *Neuropsychopharmacology* 33:634–642.
- Lardeux S, Paleressompoulle D, Pernaud R, Cador M, Baunez C (2013) Different populations of subthalamic neurons encode cocaine vs. sucrose reward and predict future error. *J Neurophysiol* 110:1497–1510.
- Lardeux S, Pernaud R, Paleressompoulle D, Baunez C (2009) Beyond the Reward Pathway: Coding Reward Magnitude and Error in the Rat Subthalamic Nucleus. *J Neurophysiol* 102:2526–2537.
- Lavoie B, Parent A (1990) Immunohistochemical study of the serotonergic innervation of the basal ganglia in the squirrel monkey. *J Comp Neurol* 299:1–16.
- Le Merrer J, Becker JAJ, Befort K, Kieffer BL (2009) Reward processing by the opioid system in the brain. *Physiol Rev* 89:1379–1412.
- Lévesque J-C, Parent A (2005) GABAergic interneurons in human subthalamic nucleus. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 20:574–584.
- Levine AS, Billington CJ (2004) Opioids as agents of reward-related feeding: a consideration of the evidence. *Physiol Behav* 82:57–61.
- Levy R, Ashby P, Hutchison WD, Lang AE, Lozano AM, Dostrovsky JO (2002) Dependence of subthalamic nucleus oscillations on movement and dopamine in Parkinson's disease. *Brain J Neurol* 125:1196–1209.
- Levy R, Lang AE, Dostrovsky JO, Pahapill P, Romas J, Saint-Cyr J, Hutchison WD, Lozano AM (2001) Lidocaine and muscimol microinjections in subthalamic nucleus reverse Parkinsonian symptoms. *Brain J Neurol* 124:2105–2118.
- Li Q, Ke Y, Chan DCW, Qian Z-M, Yung KKL, Ko H, Arbuthnott GW, Yung W-H (2012) Therapeutic Deep Brain Stimulation in Parkinsonian Rats Directly Influences Motor Cortex. *Neuron* 76:1030–1041.
- Li S, Arbuthnott GW, Jutras MJ, Goldberg JA, Jaeger D (2007) Resonant Antidromic Cortical Circuit Activation as a Consequence of High-Frequency Subthalamic Deep-Brain Stimulation. *J Neurophysiol* 98:3525–3537.
- Li X, Gutierrez DV, Hanson MG, Han J, Mark MD, Chiel H, Hegemann P, Landmesser LT, Herlitze S (2005) Fast noninvasive activation and inhibition of neural and network activity by vertebrate rhodopsin and green algae channelrhodopsin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:17816–17821.
- Limousin P, Pollak P, Benazzouz A, Hoffmann D, Broussolle E, Perret JE, Benabid A-L (1995) Bilateral subthalamic nucleus stimulation for severe Parkinson's disease. *Mov Disord* 10:672–674.
- Loucif AJC, Woodhall GL, Sehirli US, Stanford IM (2008) Depolarisation and suppression of burst firing activity in the mouse subthalamic nucleus by dopamine D1/D5 receptor activation of a cyclic-nucleotide gated non-specific cation conductance. *Neuropharmacology* 55:94–105.
- Lynch WJ, Nicholson KL, Dance ME, Morgan RW, Foley PL (2010) Animal Models of Substance Abuse and Addiction: Implications for Science, Animal Welfare, and Society. *Comp Med* 60:177–188.

- MacLaren DAA, Browne RW, Shaw JK, Krishnan Radhakrishnan S, Khare P, España RA, Clark SD (2016) Clozapine N-Oxide Administration Produces Behavioral Effects in Long-Evans Rats: Implications for Designing DREADD Experiments. *eNeuro* 3:ENEURO.0219-16.2016.
- Magill PJ, Sharott A, Bolam JP, Brown P (2006) Delayed synchronization of activity in cortex and subthalamic nucleus following cortical stimulation in the rat. *J Physiol* 574:929–946.
- Mahler SV, Aston-Jones G (2018) CNO Evil? Considerations for the Use of DREADDs in Behavioral Neuroscience. *Neuropsychopharmacology* 43:934–936.
- Mahn M, Prigge M, Ron S, Levy R, Yizhar O (2016) Biophysical constraints of optogenetic inhibition at presynaptic terminals. *Nat Neurosci* 19:554–556.
- Mallet L et al. (2008a) Subthalamic nucleus stimulation in severe obsessive-compulsive disorder. *N Engl J Med* 359:2121–2134.
- Mallet L, Mesnage V, Houeto J-L, Pelissolo A, Yelnik J, Behar C, Gargiulo M, Welter M-L, Bonnet A-M, Pillon B, Cornu P, Dormont D, Pidoux B, Allilaire J-F, Agid Y (2002) Compulsions, Parkinson's disease, and stimulation. *The Lancet* 360:1302–1304.
- Mallet N, Micklem BR, Henny P, Brown MT, Williams C, Bolam JP, Nakamura KC, Magill PJ (2012) Dichotomous Organization of the External Globus Pallidus. *Neuron* 74:1075–1086.
- Mallet N, Pogosyan A, Sharott A, Csicsvari J, Bolam JP, Brown P, Magill PJ (2008b) Disrupted dopamine transmission and the emergence of exaggerated beta oscillations in subthalamic nucleus and cerebral cortex. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 28:4795–4806.
- Mantsch JR, Yuferov V, Mathieu-Kia A-M, Ho A, Kreek MJ (2004) Effects of extended access to high versus low cocaine doses on self-administration, cocaine-induced reinstatement and brain mRNA levels in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 175:26–36.
- Manvich DF, Webster KA, Foster SL, Farrell MS, Ritchie JC, Porter JH, Weinshenker D (2018) The DREADD agonist clozapine N -oxide (CNO) is reverse-metabolized to clozapine and produces clozapine-like interoceptive stimulus effects in rats and mice. *Sci Rep* 8:3840.
- Marchant NJ, Whitaker LR, Bossert JM, Harvey BK, Hope BT, Kaganovsky K, Adhikary S, Prinsinzano TE, Vardy E, Roth BL, Shaham Y (2016) Behavioral and Physiological Effects of a Novel Kappa-Opioid Receptor-Based DREADD in Rats. *Neuropsychopharmacology* 41:402–409.
- Marsden JF, Limousin-Dowsey P, Ashby P, Pollak P, Brown P (2001) Subthalamic nucleus, sensorimotor cortex and muscle interrelationships in Parkinson's disease. *Brain J Neurol* 124:378–388.
- Mastro KJ, Bouchard RS, Holt HAK, Gittis AH (2014) Transgenic Mouse Lines Subdivide External Segment of the Globus Pallidus (GPe) Neurons and Reveal Distinct GPe Output Pathways. *J Neurosci* 34:2087–2099.
- Mathon DS, Lesscher HMB, Gerrits M a. FM, Kamal A, Pintar JE, Schuller AGP, Spruijt BM, Burbach JPH, Smidt MP, van Ree JM, Ramakers GMJ (2005) Increased gabaergic input to ventral tegmental area dopaminergic neurons associated with decreased cocaine reinforcement in mu-opioid receptor knockout mice. *Neuroscience* 130:359–367.
- Matsumoto H, Tian J, Uchida N, Watabe-Uchida M (2016) Midbrain dopamine neurons signal aversion in a reward-context-dependent manner. *eLife* 5:e17328.
- Matsumura M, Kojima J, Gardiner TW, Hikosaka O (1992) Visual and oculomotor functions of monkey subthalamic nucleus. *J Neurophysiol* 67:1615–1632.
- Matsuno-Yagi A, Mukohata Y (1977) Two possible roles of bacteriorhodopsin; a comparative study of strains of *Halobacterium halobium* differing in pigmentation. *Biochem Biophys Res Commun* 78:237–243.

- Matthes HW, Maldonado R, Simonin F, Valverde O, Slowe S, Kitchen I, Befort K, Dierich A, Le Meur M, Dollé P, Tzavara E, Hanoune J, Roques BP, Kieffer BL (1996) Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the mu-opioid-receptor gene. *Nature* 383:819–823.
- Mattis J, Tye KM, Ferenczi EA, Ramakrishnan C, O’Shea DJ, Prakash R, Gunaydin LA, Hyun M, Fenno LE, Gradinaru V, Yizhar O, Deisseroth K (2012) Principles for applying optogenetic tools derived from direct comparative analysis of microbial opsins. *Nat Methods* 9:159–172.
- Maurice N, Deniau J-M, Glowinski J, Thierry A-M (1998a) Relationships between the Prefrontal Cortex and the Basal Ganglia in the Rat: Physiology of the Corticosubthalamic Circuits. *J Neurosci* 18:9539–9546.
- Maurice N, Deniau JM, Menetrey A, Glowinski J, Thierry AM (1997) Position of the ventral pallidum in the rat prefrontal cortex-basal ganglia circuit. *Neuroscience* 80:523–534.
- Maurice N, Deniau JM, Menetrey A, Glowinski J, Thierry AM (1998b) Prefrontal cortex-basal ganglia circuits in the rat: involvement of ventral pallidum and subthalamic nucleus. *Synap N Y N* 29:363–370.
- Maurice N, Thierry A-M, Glowinski J, Deniau J-M (2003) Spontaneous and Evoked Activity of Substantia Nigra Pars Reticulata Neurons during High-Frequency Stimulation of the Subthalamic Nucleus. *J Neurosci* 23:9929–9936.
- McBride WJ, Murphy JM, Ikemoto S (1999) Localization of brain reinforcement mechanisms: intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies. *Behav Brain Res* 101:129–152.
- McClelland J, Bozhilova N, Nestler S, Campbell IC, Jacob S, Johnson-Sabine E, Schmidt U (2013) Improvements in symptoms following neuronavigated repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in severe and enduring anorexia nervosa: findings from two case studies. *Eur Eat Disord Rev J Eat Disord Assoc* 21:500–506.
- McDevitt RA, Tiran-Cappello A, Shen H, Balderas I, Britt JP, Marino RAM, Chung SL, Richie CT, Harvey BK, Bonci A (2014) Serotonergic versus Nonserotonergic Dorsal Raphe Projection Neurons: Differential Participation in Reward Circuitry. *Cell Rep* 8:1857–1869.
- McFarland K, Ettenberg A (1998) Haloperidol does not affect motivational processes in an operant runway model of food-seeking behavior. *Behav Neurosci* 112:630–635.
- McIntyre CC, Anderson RW (2016) Deep brain stimulation mechanisms: the control of network activity via neurochemistry modulation. *J Neurochem* 139:338–345.
- McIntyre CC, Savasta M, Kerkerian-Le Goff L, Vitek JL (2004) Uncovering the mechanism(s) of action of deep brain stimulation: activation, inhibition, or both. *Clin Neurophysiol* 115:1239–1248.
- Melon C, Chassain C, Bielicki G, Renou J-P, Kerkerian-Le Goff L, Salin P, Durif F (2015) Progressive brain metabolic changes under deep brain stimulation of subthalamic nucleus in parkinsonian rats. *J Neurochem* 132:703–712.
- Merali Z, McIntosh J, Anisman H (2004) Anticipatory cues differentially provoke in vivo peptidergic and monoaminergic release at the medial prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology* 29:1409–1418.
- Meredith GE, Baldo BA, Andrezjewski ME, Kelley AE (2008) The structural basis for mapping behavior onto the ventral striatum and its subdivisions. *Brain Struct Funct* 213:17–27.
- Mink JW (1996) The basal ganglia: focused selection and inhibition of competing motor programs. *Prog Neurobiol* 50:381–425.
- Mitchell IJ, Clarke CE, Boyce S, Robertson RG, Peggs D, Sambrook MA, Crossman AR (1989) Neural mechanisms underlying parkinsonian symptoms based upon regional uptake of 2-deoxyglucose in monkeys exposed to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Neuroscience* 32:213–226.

- Monakow KH, Akert K, Künzle H (1978) Projections of the precentral motor cortex and other cortical areas of the frontal lobe to the subthalamic nucleus in the monkey. *Exp Brain Res* 33:395–403.
- Mouroux M, Féger J (1993) Evidence that the parafascicular projection to the subthalamic nucleus is glutamatergic. *Neuroreport* 4:613–615.
- Mouroux M, Hassani OK, Féger J (1995) Electrophysiological study of the excitatory parafascicular projection to the subthalamic nucleus and evidence for ipsi- and contralateral controls. *Neuroscience* 67:399–407.
- Nagel G, Ollig D, Fuhrmann M, Kateriya S, Musti AM, Bamberg E, Hegemann P (2002) Channelrhodopsin-1: a light-gated proton channel in green algae. *Science* 296:2395–2398.
- Nair-Roberts RG, Chatelain-Badie SD, Benson E, White-Cooper H, Bolam JP, Ungless MA (2008) Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic and glutamatergic neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra and retrorubral field in the rat. *Neuroscience* 152:1024–1031.
- Nambu A (2008) Seven problems on the basal ganglia. *Curr Opin Neurobiol* 18:595–604.
- Nambu A (2011) Somatotopic organization of the primate Basal Ganglia. *Front Neuroanat* 5:26.
- Nambu A, Takada M, Inase M, Tokuno H (1996) Dual somatotopical representations in the primate subthalamic nucleus: evidence for ordered but reversed body-map transformations from the primary motor cortex and the supplementary motor area. *J Neurosci* 16:2671–2683.
- Nambu A, Tokuno H, Takada M (2002) Functional significance of the cortico–subthalamo–pallidal ‘hyperdirect’ pathway. *Neurosci Res* 43:111–117.
- Nauta HJ, Cole M (1978) Efferent projections of the subthalamic nucleus: an autoradiographic study in monkey and cat. *J Comp Neurol* 180:1–16.
- Nauta WJ (1971) The problem of the frontal lobe: a reinterpretation. *J Psychiatr Res* 8:167–187.
- Nieh EH, Matthews GA, Allsop SA, Presbrey KN, Leppla CA, Wichmann R, Neve R, Wildes CP, Tye KM (2015) Decoding Neural Circuits that Control Compulsive Sucrose Seeking. *Cell* 160:528–541.
- Nieh EH, Vander Weele CM, Matthews GA, Presbrey KN, Wichmann R, Leppla CA, Izadmehr EM, Tye KM (2016) Inhibitory Input from the Lateral Hypothalamus to the Ventral Tegmental Area Disinhibits Dopamine Neurons and Promotes Behavioral Activation. *Neuron* Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627316301222> [Accessed May 30, 2016].
- Nuttin B, Cosyns P, Demeulemeester H, Gybels J, Meyerson B (1999) Electrical stimulation in anterior limbs of internal capsules in patients with obsessive-compulsive disorder. *Lancet Lond Engl* 354:1526.
- Obeso I, Wilkinson L, Casabona E, Speekenbrink M, Luisa Bringas M, Álvarez M, Álvarez L, Pavón N, Rodríguez-Oroz MC, Macías R, Obeso JA, Jahanshahi M (2014) The subthalamic nucleus and inhibitory control: impact of subthalamotomy in Parkinson’s disease. *Brain J Neurol* 137:1470–1480.
- Oertel WH, Mugnaini E (1984) Immunocytochemical studies of GABAergic neurons in rat basal ganglia and their relations to other neuronal systems. *Neurosci Lett* 47:233–238.
- Oesterheld D, Stoeckenius W (1971) Rhodopsin-like protein from the purple membrane of *Halobacterium halobium*. *Nature New Biol* 233:149–152.
- Olds J, Milner P (1954) POSITIVE REINFORCEMENT PRODUCED BY ELECTRICAL STIMULATION OF SEPTAL AREA AND OTHER REGIONS OF RAT BRAIN. *J Comp* 47:419–427.
- Olds ME (1979) Hypothalamic substrate for the positive reinforcing properties of morphine in the rat. *Brain Res* 168:351–360.
- Olds ME, Olds J (1963) Approach-avoidance analysis of rat diencephalon. *J Comp Neurol* 120:259–295.

- Öngür D, Price JL (2000) The Organization of Networks within the Orbital and Medial Prefrontal Cortex of Rats, Monkeys and Humans. *Cereb Cortex* 10:206–219.
- Pan M-K, Tai C-H, Liu W-C, Pei J-C, Lai W-S, Kuo C-C (2014) Deranged NMDAergic cortico-subthalamic transmission underlies parkinsonian motor deficits. *J Clin Invest* 124:4629–4641.
- Panagis G, Miliaressis E, Anagnostakis Y, Spyraiki C (1995) Ventral pallidum self-stimulation: a moveable electrode mapping study. *Behav Brain Res* 68:165–172.
- Panagis G, Spyraiki C (1996) Neuropharmacological evidence for the role of dopamine in ventral pallidum self-stimulation. *Psychopharmacology (Berl)* 123:280–288.
- Parent A, Hazrati L-N (1995a) Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res Rev* 20:91–127.
- Parent A, Hazrati L-N (1995b) Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry. *Brain Res Rev* 20:128–154.
- Parent M, Wallman M-J, Descarries L (2010) Distribution and ultrastructural features of the serotonin innervation in rat and squirrel monkey subthalamic nucleus. *Eur J Neurosci* 31:1233–1242.
- Parker LA, Maier S, Rennie M, Crebolder J (1992) Morphine- and naltrexone-induced modification of palatability: analysis by the taste reactivity test. *Behav Neurosci* 106:999–1010.
- Parkinson JA, Olmstead MC, Burns LH, Robbins TW, Everitt BJ (1999) Dissociation in effects of lesions of the nucleus accumbens core and shell on appetitive pavlovian approach behavior and the potentiation of conditioned reinforcement and locomotor activity by D-amphetamine. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 19:2401–2411.
- Pascoli V, Terrier J, Hiver A, Lüscher C (2015) Sufficiency of Mesolimbic Dopamine Neuron Stimulation for the Progression to Addiction. *Neuron* 88:1054–1066.
- Pasquereau B, Turner RS (2017) A selective role for ventromedial subthalamic nucleus in inhibitory control. *eLife* 6:pii: e31627.
- Paterson NE, Markou A (2003) Increased motivation for self-administered cocaine after escalated cocaine intake. *Neuroreport* 14:2229–2232.
- Paxinos G, Watson C (2005) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Elsevier Academic Press.
- Peciña S, Berridge KC (1995) Central enhancement of taste pleasure by intraventricular morphine. *Neurobiol Bp Hung* 3:269–280.
- Peciña S, Berridge KC (2000) Opioid site in nucleus accumbens shell mediates eating and hedonic ‘liking’ for food: map based on microinjection Fos plumes. *Brain Res* 863:71–86.
- Peciña S, Cagniard B, Berridge KC, Aldridge JW, Zhuang X (2003) Hyperdopaminergic mutant mice have higher “wanting” but not “liking” for sweet rewards. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 23:9395–9402.
- Pelloux Y, Baunez C (2013) Deep brain stimulation for addiction: why the subthalamic nucleus should be favored. *Curr Opin Neurobiol* 23:713–720.
- Pelloux Y, Baunez C (2017) Targeting the subthalamic nucleus in a preclinical model of alcohol use disorder. *Psychopharmacology (Berl)* 234:2127–2137.
- Pelloux Y, Degoulet M, Tiran-Cappello A, Cohen C, Lardeux S, George O, Koob GF, Ahmed SH, Baunez C (2018) Subthalamic nucleus high frequency stimulation prevents and reverses escalated cocaine use. *Mol Psychiatry*: 10.1038/s41380-018-0080-y.

- Pelloux Y, Dilleen R, Economidou D, Theobald D, Everitt BJ (2012) Reduced Forebrain Serotonin Transmission is Causally Involved in the Development of Compulsive Cocaine Seeking in Rats. *Neuropsychopharmacology* 37:2505–2514.
- Pelloux Y, Everitt BJ, Dickinson A (2007) Compulsive drug seeking by rats under punishment: effects of drug taking history. *Psychopharmacology (Berl)* 194:127–137.
- Peñagarikano O, Lázaro MT, Lu X-H, Gordon A, Dong H, Lam HA, Peles E, Maidment NT, Murphy NP, Yang XW, Golshani P, Geschwind DH (2015) Exogenous and evoked oxytocin restores social behavior in the Cntnap2 mouse model of autism. *Sci Transl Med* 7:271ra8.
- Percheron G, Filion M (1991) Parallel processing in the basal ganglia: up to a point. *Trends Neurosci* 14:55–59.
- Percheron G, Yelnik J, François C (1984) A Golgi analysis of the primate globus pallidus. III. Spatial organization of the striato-pallidal complex. *J Comp Neurol* 227:214–227.
- Pert CB, Snyder SH (1973) Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science* 179:1011–1014.
- Petreanu L, Huber D, Sobczyk A, Svoboda K (2007) Channelrhodopsin-2-assisted circuit mapping of long-range callosal projections. *Nat Neurosci* 10:663–668.
- Phillips null, Brown null (1999) Reaction time performance following unilateral striatal dopamine depletion and lesions of the subthalamic nucleus in the rat. *Eur J Neurosci* 11:X1003-1010.
- Phillips AG, Atkinson LJ, Blackburn JR, Blaha CD (1993) Increased extracellular dopamine in the nucleus accumbens of the rat elicited by a conditional stimulus for food: an electrochemical study. *Can J Physiol Pharmacol* 71:387–393.
- Plantinga BR, Roebroek A, Kemper VG, Uludağ K, Melse M, Mai J, Kuijf ML, Herrler A, Jahanshahi A, Ter Haar Romeny BM, Temel Y (2016) Ultra-High Field MRI Post Mortem Structural Connectivity of the Human Subthalamic Nucleus, Substantia Nigra, and Globus Pallidus. *Front Neuroanat* 10:66.
- Pratt WE, Choi E, Guy EG (2012) An examination of the effects of subthalamic nucleus inhibition or μ -opioid receptor stimulation on food-directed motivation in the non-deprived rat. *Behav Brain Res* 230:365–373.
- Raper J, Morrison RD, Daniels JS, Howell L, Bachevalier J, Wichmann T, Galvan A (2017) Metabolism and Distribution of Clozapine-N-oxide: Implications for Nonhuman Primate Chemogenetics. *ACS Chem Neurosci* 8:1570–1576.
- Rappel P, Marmor O, Bick AS, Arkadir D, Linetsky E, Castrioto A, Tamir I, Freedman SA, Mevorach T, Gilad M, Bergman H, Israel Z, Eitan R (2018) Subthalamic theta activity: a novel human subcortical biomarker for obsessive compulsive disorder. *Transl Psychiatry* 8:118.
- Rideout HJ, Parker LA (1996) Morphine enhancement of sucrose palatability: Analysis by the taste reactivity test. *Pharmacol Biochem Behav* 53:731–734.
- Ritz MC, Lamb RJ, Goldberg, Kuhar MJ (1987) Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. *Science* 237:1219–1223.
- Robbins TW, Cador M, Taylor JR, Everitt BJ (1989) Limbic-striatal interactions in reward-related processes. *Neurosci Biobehav Rev* 13:155–162.
- Robbins TW, Everitt BJ (1996) Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Curr Opin Neurobiol* 6:228–236.
- Roberts AJ, McDonald JS, Heyser CJ, Kieffer BL, Matthes HW, Koob GF, Gold LH (2000) μ -Opioid receptor knockout mice do not self-administer alcohol. *J Pharmacol Exp Ther* 293:1002–1008.

- Robinson TE, Berridge KC (1993) The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev* 18:247–291.
- Root DH, Mejias-Aponte CA, Qi J, Morales M (2014) Role of glutamatergic projections from ventral tegmental area to lateral habenula in aversive conditioning. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 34:13906–13910.
- Rosenbaum R, Zimnik A, Zheng F, Turner RS, Alzheimer C, Doiron B, Rubin JE (2014) Axonal and synaptic failure suppress the transfer of firing rate oscillations, synchrony and information during high frequency deep brain stimulation. *Neurobiol Dis* 62:86–99.
- Rossi PJ, Shute JB, Opri E, Molina R, Peden C, Castellanos O, Foote KD, Gunduz A, Okun MS (2017) Impulsivity in Parkinson's disease is associated with altered subthalamic but not globus pallidus internus activity. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 88:968–970.
- Roth BL (2016) DREADDs for Neuroscientists. *Neuron* 89:683–694.
- Rouaud T, Lardeux S, Panayotis N, Paleressompoulle D, Cador M, Baunez C (2010) Reducing the desire for cocaine with subthalamic nucleus deep brain stimulation. *Proc Natl Acad Sci* 107:1196–1200.
- Routtenberg A, Malsbury C (1969) Brainstem pathways of reward. *J Comp Physiol Psychol* 68:22–30.
- Routtenberg A, Sloan M (1972) Self-stimulation in the frontal cortex of *rattus norvegicus*. *Behav Biol* 7:567–572.
- Rouzaire-dubois B, Hammond C, Hamon B, Feger J (1980) Pharmacological blockade of the globus pallidus-induced inhibitory response of subthalamic cells in the rat. *Brain Res* 200:321–329.
- Rouzaire-Dubois B, Scarnati E (1987) Pharmacological study of the cortical-induced excitation of subthalamic nucleus neurons in the rat: evidence for amino acids as putative neurotransmitters. *Neuroscience* 21:429–440.
- Ryan LJ, Clark KB (1992) Alteration of neuronal responses in the subthalamic nucleus following globus pallidus and neostriatal lesions in rats. *Brain Res Bull* 29:319–327.
- Salamone JD, Arizzi MN, Sandoval MD, Cervone KM, Aberman JE (2002) Dopamine antagonists alter response allocation but do not suppress appetite for food in rats: contrast between the effects of SKF 83566, raclopride, and fenfluramine on a concurrent choice task. *Psychopharmacology (Berl)* 160:371–380.
- Salamone JD, Cousins MS, Bucher S (1994) Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure. *Behav Brain Res* 65:221–229.
- Salamone JD, Steinpreis RE, McCullough LD, Smith P, Grebel D, Mahan K (1991) Haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion suppress lever pressing for food but increase free food consumption in a novel food choice procedure. *Psychopharmacology (Berl)* 104:515–521.
- Salinas S, Zussy C, Loustalot F, Henaff D, Menendez G, Morton PE, Parsons M, Schiavo G, Kremer EJ (2014) Disruption of the Cocksackievirus and Adenovirus Receptor-Homodimeric Interaction Triggers Lipid Microdomain- and Dynamin-dependent Endocytosis and Lysosomal Targeting. *J Biol Chem* 289:680–695.
- Sanders TH, Jaeger D (2016) Optogenetic stimulation of cortico-subthalamic projections is sufficient to ameliorate bradykinesia in 6-ohda lesioned mice. *Neurobiol Dis* 95:225–237.
- Sasaki T, Kennedy JL, Nobrega JN (1996) Autoradiographic mapping of mu opioid receptor changes in rat brain after long-term haloperidol treatment: relationship to the development of vacuous chewing movements. *Psychopharmacology (Berl)* 128:97–104.
- Schultz W (2002) Getting formal with dopamine and reward. *Neuron* 36:241–263.

- Schultz W, Dayan P, Montague PR (1997) A neural substrate of prediction and reward. *Science* 275:1593–1599.
- Shehab S, D'souza C, Ljubisavljevic M, Redgrave P (2014) High-frequency electrical stimulation of the subthalamic nucleus excites target structures in a model using c-fos immunohistochemistry. *Neuroscience* 270:212–225.
- Shemesh OA, Tanese D, Zampini V, Linghu C, Piatkevich K, Ronzitti E, Papagiakoumou E, Boyden ES, Emiliani V (2017) Temporally precise single-cell resolution optogenetics. *Nat Neurosci* 20:1796–1806.
- Shen KZ, Johnson SW (2000) Presynaptic dopamine D2 and muscarine M3 receptors inhibit excitatory and inhibitory transmission to rat subthalamic neurones in vitro. *J Physiol* 525 Pt 2:331–341.
- Shen K-Z, Johnson SW (2002) Presynaptic modulation of synaptic transmission by opioid receptor in rat subthalamic nucleus in vitro. *J Physiol* 541:219–230.
- Shen K-Z, Johnson SW (2008) 5-HT inhibits synaptic transmission in rat subthalamic nucleus neurons in vitro. *Neuroscience* 151:1029–1033.
- Shen K-Z, Kozell LB, Johnson SW (2007) Multiple conductances are modulated by 5-HT receptor subtypes in rat subthalamic nucleus neurons. *Neuroscience* 148:996–1003.
- Skolnick P (2018) The Opioid Epidemic: Crisis and Solutions. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 58:143–159.
- Slamberová R, Rimanóczy A, Riley MA, Schindler CJ, Vathy I (2002) Mu-opioid receptors in seizure-controlling brain structures are altered by prenatal morphine exposure and by male and female gonadal steroids in adult rats. *Brain Res Bull* 58:391–400.
- Smith Y, Bolam JP, Krosigk M von (1990) Topographical and Synaptic Organization of the GABA-Containing Pallidosubthalamic Projection in the Rat. *Eur J Neurosci* 2:500–511.
- Solomon RL, Corbit JD (1974) An opponent-process theory of motivation. I. Temporal dynamics of affect. *Psychol Rev* 81:119–145.
- Song WJ, Baba Y, Otsuka T, Murakami F (2000) Characterization of Ca(2+) channels in rat subthalamic nucleus neurons. *J Neurophysiol* 84:2630–2637.
- Sora I, Funada M, Uhl GR (1997) The μ -opioid receptor is necessary for [d-Pen2,d-Pen5]enkephalin-induced analgesia. *Eur J Pharmacol* 324:R1–R2.
- Soudais C, Laplace-Builhe C, Kissa K, Kremer EJ (2001) Preferential transduction of neurons by canine adenovirus vectors and their efficient retrograde transport in vivo. *FASEB J* 15:2283–2285.
- Sparta DR, Stamatakis AM, Phillips JL, Hovelsø N, van Zessen R, Stuber GD (2012) Construction of implantable optical fibers for long-term optogenetic manipulation of neural circuits. *Nat Protoc* 7:12–23.
- Spiegel EA, Wycis HT, Marks M, Lee AJ (1947) Stereotaxic Apparatus for Operations on the Human Brain. *Science* 106:349–350.
- Stachniak TJ, Ghosh A, Sternson SM (2014) Chemogenetic synaptic silencing of neural circuits localizes a hypothalamus→midbrain pathway for feeding behavior. *Neuron* 82:797–808.
- Stanford IM, Kantaria MA, Chahal HS, Loucif KC, Wilson CL (2005) 5-Hydroxytryptamine induced excitation and inhibition in the subthalamic nucleus: action at 5-HT(2C), 5-HT(4) and 5-HT(1A) receptors. *Neuropharmacology* 49:1228–1234.
- Steiner H, Tseng K-Y eds. (2017) *Handbook of basal ganglia structure and function*, Second edition. Amsterdam ; Boston: Elsevier/Academic Press.

- Stephens P (1990) A review of clozapine: An antipsychotic for treatment-resistant schizophrenia. *Compr Psychiatry* 31:315–326.
- Sterio D, Berić A, Dogali M, Fazzini E, Alfaro G, Devinsky O (1994) Neurophysiological properties of pallidal neurons in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 35:586–591.
- Stinus L, Koob GF, Ling N, Bloom FE, Le Moal M (1980) Locomotor activation induced by infusion of endorphins into the ventral tegmental area: evidence for opiate-dopamine interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77:2323–2327.
- Stratford TR, Kelley AE, Simansky KJ (1999) Blockade of GABAA receptors in the medial ventral pallidum elicits feeding in satiated rats. *Brain Res* 825:199–203.
- Strauss U, Zhou F-W, Henning J, Battfeld A, Wree A, Köhling R, Haas SJ-P, Benecke R, Rolfs A, Gimsa U (2008) Increasing extracellular potassium results in subthalamic neuron activity resembling that seen in a 6-hydroxydopamine lesion. *J Neurophysiol* 99:2902–2915.
- Stuber GD, Sparta DR, Stamatakis AM, van Leeuwen WA, Hardjoprajitno JE, Cho S, Tye KM, Kempadoo KA, Zhang F, Deisseroth K, Bonci A (2011) Amygdala to nucleus accumbens excitatory transmission facilitates reward seeking. *Nature* 475:377–380.
- Sugimoto T, Hattori T (1983) Confirmation of thalamosubthalamic projections by electron microscopic autoradiography. *Brain Res* 267:335–339.
- Swanson LW (1982) The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Res Bull* 9:321–353.
- Tai C-H, Boraud T, Bezard E, Bioulac B, Gross C, Benazzouz A (2003) Electrophysiological and metabolic evidence that high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus bridges neuronal activity in the subthalamic nucleus and the substantia nigra reticulata. *FASEB J* 17:1820–1830.
- Takada M, Nishihama MS, Nishihama CC, Hattori T (1988) Two separate neuronal populations of the rat subthalamic nucleus project to the basal ganglia and pedunculopontine tegmental region. *Brain Res* 442:72–80.
- Teagarden MA, Rebec GV (2007) Subthalamic and striatal neurons concurrently process motor, limbic, and associative information in rats performing an operant task. *J Neurophysiol* 97:2042–2058.
- Tecuapetla F, Jin X, Lima SQ, Costa RM (2016) Complementary Contributions of Striatal Projection Pathways to Action Initiation and Execution. *Cell* 166:703–715.
- Tecuapetla F, Matias S, Dugue GP, Mainen ZF, Costa RM (2014) Balanced activity in basal ganglia projection pathways is critical for contraversive movements. *Nat Commun* 5:4315.
- Terraneo A, Leggio L, Saladini M, Ermani M, Bonci A, Gallimberti L (2016) Transcranial magnetic stimulation of dorsolateral prefrontal cortex reduces cocaine use: A pilot study. *Eur Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol* 26:37–44.
- Timmermann L, Wojtecki L, Gross J, Lehrke R, Voges J, Maarouf M, Treuer H, Sturm V, Schnitzler A (2004) Ten-Hertz stimulation of subthalamic nucleus deteriorates motor symptoms in Parkinson's disease. *Mov Disord* 19:1328–1333.
- Ting JT, Daigle TL, Chen Q, Feng G (2014) Acute brain slice methods for adult and aging animals: application of targeted patch clamp analysis and optogenetics. *Methods Mol Biol Clifton NJ* 1183:221–242.
- Toates FM (1986) Motivational Systems. CUP Archive.
- Tooley J, Marconi L, Alipio JB, Matikainen-Ankney B, Georgiou P, Kravitz AV, Creed MC (2018) Glutamatergic Ventral Pallidal Neurons Modulate Activity of the Habenula-Tegmental Circuitry and Constrain Reward Seeking. *Biol Psychiatry* 83:1012–1023.

- Treasure J, Cardi V, Leppanen J, Turton R (2015) New treatment approaches for severe and enduring eating disorders. *Physiol Behav* 152, Part B:456–465.
- Treit D, Berridge KC (1990) A comparison of benzodiazepine, serotonin, and dopamine agents in the taste-reactivity paradigm. *Pharmacol Biochem Behav* 37:451–456.
- Trillet M, Vighetto A, Croisile B, Charles N, Aimard G (1995) [Hemiballismus with logorrhea and thymoaffective disinhibition caused by hematoma of the left subthalamic nucleus]. *Rev Neurol (Paris)* 151:416–419.
- Tsai H-C, Zhang F, Adamantidis A, Stuber GD, Bonci A, Lecea L de, Deisseroth K (2009) Phasic Firing in Dopaminergic Neurons Is Sufficient for Behavioral Conditioning. *Science* 324:1080–1084.
- Turner MS, Lavin A, Grace AA, Napier TC (2001) Regulation of limbic information outflow by the subthalamic nucleus: excitatory amino acid projections to the ventral pallidum. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 21:2820–2832.
- Ungerstedt U (1971) Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol Scand Suppl* 367:95–122.
- Urban DJ, Zhu H, Marcinkiewicz CA, Michaelides M, Oshibuchi H, Rhea D, Aryal DK, Farrell MS, Lowery-Gionta E, Olsen RHJ, Wetsel WC, Kash TL, Hurd YL, Tecott LH, Roth BL (2016) Elucidation of The Behavioral Program and Neuronal Network Encoded by Dorsal Raphe Serotonergic Neurons. *Neuropsychopharmacology* 41:1404–1415.
- Urbano F, Dale E, Llinás R (2002) Interactions between high and low frequency inputs in somatosensory cortex: an in vitro optical imaging study.
- Uslaner JM, Dell’Orco JM, Pevzner A, Robinson TE (2008) The influence of subthalamic nucleus lesions on sign-tracking to stimuli paired with food and drug rewards: facilitation of incentive salience attribution? *Neuropsychopharmacology* 33:2352–2361.
- Uslaner JM, Robinson TE (2006) Subthalamic nucleus lesions increase impulsive action and decrease impulsive choice - mediation by enhanced incentive motivation? *Eur J Neurosci* 24:2345–2354.
- Uslaner JM, Yang P, Robinson TE (2005) Subthalamic Nucleus Lesions Enhance the Psychomotor-Activating, Incentive Motivational, and Neurobiological Effects of Cocaine. *J Neurosci* 25:8407–8415.
- Uylings HBM, Groenewegen HJ, Kolb B (2003) Do rats have a prefrontal cortex? *Behav Brain Res* 146:3–17.
- Valenti O, Lodge DJ, Grace AA (2011) Aversive stimuli alter ventral tegmental area dopamine neuron activity via a common action in the ventral hippocampus. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 31:4280–4289.
- Vanderschuren LJMJ, Everitt BJ (2004) Drug seeking becomes compulsive after prolonged cocaine self-administration. *Science* 305:1017–1019.
- Vandewalle V, van der Linden C, Groenewegen HJ, Caemaert J (1999) Stereotactic treatment of Gilles de la Tourette syndrome by high frequency stimulation of thalamus. *Lancet Lond Engl* 353:724.
- Vardy E et al. (2015) A New DREADD Facilitates the Multiplexed Chemogenetic Interrogation of Behavior. *Neuron* 86:936–946.
- Velasco F, Velasco M, Velasco AL, Rocha L, Carrillo-Ruiz JD, Castro G, Cuéllar-Herrera M (2008) [Central nervous system neuromodulation for the treatment of epilepsy. II. Mechanisms of action and perspectives]. *Neurochirurgie* 54:428–435.
- Volkow ND, Fowler JS, Wolf AP, Schlyer D, Shiue CY, Alpert R, Dewey SL, Logan J, Bendriem B, Christman D (1990) Effects of chronic cocaine abuse on postsynaptic dopamine receptors. *Am J Psychiatry* 147:719–724.

- Volle J, Yu X, Sun H, Tanninen SE, Insel N, Takehara-Nishiuchi K (2016) Enhancing Prefrontal Neuron Activity Enables Associative Learning of Temporally Disparate Events. *Cell Rep* 15:2400–2410.
- Vuong C, Uum V, M SH, O'Dell LE, Lutfy K, Friedman TC (2010) The Effects of Opioids and Opioid Analogs on Animal and Human Endocrine Systems. *Endocr Rev* 31:98–132.
- Wade CL, Kallupi M, Hernandez DO, Breyse E, Guglielmo G de, Crawford E, Koob GF, Schweitzer P, Baunez C, George O (2017) High-Frequency Stimulation of the Subthalamic Nucleus Blocks Compulsive-Like Re-Escalation of Heroin Taking in Rats. *Neuropsychopharmacology* 42:1850–1859.
- Wallman M-J, Gagnon D, Parent M (2011) Serotonin innervation of human basal ganglia. *Eur J Neurosci* 33:1519–1532.
- Wang L-Y, Kaczmarek LK (1998) High-frequency firing helps replenish the readily releasable pool of synaptic vesicles. *Nature* 394:384–388.
- Warthen DM, Lambeth PS, Ottolini M, Shi Y, Barker BS, Gaykema R, Newmyer B, Ohmura Y, Perez-Reyes E, Guler AD, Patel MK, Scott MM (2016) Activation of pyramidal neurons in mouse medial prefrontal cortex enhances food seeking behavior while reducing impulsivity in the absence of an effect on food intake. *Front Behav Neurosci* 10:63.
- Wee S, Orio L, Ghirmai S, Cashman JR, Koob GF (2009) Inhibition of kappa opioid receptors attenuated increased cocaine intake in rats with extended access to cocaine. *Psychopharmacology (Berl)* 205:565–575.
- Weeks JR (1962) Experimental morphine addiction: method for automatic intravenous injections in unrestrained rats. *Science* 138:143–144.
- Weingarten HP, Martin GM (1989) Mechanisms of conditioned meal initiation. *Physiol Behav* 45:735–740.
- Welter M-L et al. (2011) Basal ganglia dysfunction in OCD: subthalamic neuronal activity correlates with symptoms severity and predicts high-frequency stimulation efficacy. *Transl Psychiatry* 1:e5.
- Welter M-L, Houeto J-L, Bonnet A-M, Bejjani P-B, Mesnage V, Dormont D, Navarro S, Cornu P, Agid Y, Pidoux B (2004) Effects of High-Frequency Stimulation on Subthalamic Neuronal Activity in Parkinsonian Patients. *Arch Neurol* 61:89–96.
- Wessel JR, Aron AR (2017) On the Globality of Motor Suppression: Unexpected Events and Their Influence on Behavior and Cognition. *Neuron* 93:259–280.
- Wessel JR, Ghahremani A, Udupa K, Saha U, Kalia SK, Hodaie M, Lozano AM, Aron AR, Chen R (2016) Stop-related subthalamic beta activity indexes global motor suppression in Parkinson's disease. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc* 31:1846–1853.
- Whittier JR (1948) Rhesus hyperkinesia by subthalamic lesion. *Fed Proc* 7:133.
- Whittier JR, Mettler FA (1947) Subthalamic lesion in the primate. *Fed Proc* 6:226.
- Wichmann T, Bergman H, DeLong MR (1994) The primate subthalamic nucleus. I. Functional properties in intact animals. *J Neurophysiol* 72:494–506.
- Wilson CL, Puntis M, Lacey MG (2004) Overwhelmingly asynchronous firing of rat subthalamic nucleus neurones in brain slices provides little evidence for intrinsic interconnectivity. *Neuroscience* 123:187–200.
- Windels F, Bruet N, Poupard A, Feuerstein C, Bertrand A, Savasta M (2003) Influence of the frequency parameter on extracellular glutamate and gamma-aminobutyric acid in substantia nigra and globus pallidus during electrical stimulation of subthalamic nucleus in rats. *J Neurosci Res* 72:259–267.

- Windels F, Bruet N, Poupard A, Urbain N, Chouvet G, Feuerstein C, Savasta M (2000) Effects of high frequency stimulation of subthalamic nucleus on extracellular glutamate and GABA in substantia nigra and globus pallidus in the normal rat. *Eur J Neurosci* 12:4141–4146.
- Winstanley CA, Baunez C, Theobald DEH, Robbins TW (2005) Lesions to the subthalamic nucleus decrease impulsive choice but impair autoshaping in rats: the importance of the basal ganglia in Pavlovian conditioning and impulse control. *Eur J Neurosci* 21:3107–3116.
- Wise RA (1978) Catecholamine theories of reward: a critical review. *Brain Res* 152:215–247.
- Wise RA (1996) Addictive Drugs and Brain Stimulation Reward. *Annu Rev Neurosci* 19:319–340.
- Wise RA (2004) Dopamine, learning and motivation. *Nat Rev Neurosci* 5:483–494.
- Wise RA (2013) Dual roles of dopamine in food and drug seeking: the drive-reward paradox. *Biol Psychiatry* 73:819–826.
- Wise RA, Bozarth MA (1982) Action of drugs of abuse on brain reward systems: an update with specific attention to opiates. *Pharmacol Biochem Behav* 17:239–243.
- Wise RA, Bozarth MA (1987) A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol Rev* 94:469–492.
- Wise RA, Spindler J, deWit H, Gerberg GJ (1978) Neuroleptic-induced “anhedonia” in rats: pimozide blocks reward quality of food. *Science* 201:262–264.
- Wojtecki L, Hirschmann J, Elben S, Vesper J, Schnitzler A (2016) EP 20. Deep brain stimulation (DBS) of the subthalamic nucleus (STN) in obsessive compulsive disorder (OCD): A clinical and neurophysiological observation. *Clin Neurophysiol* 127:e182–e183.
- Woodworth RS (1918) *Dynamic psychology*, by Robert Sessions Woodworth. New York : Columbia university press.
- Wright JJ, Craggs MD (1977) Arousal and intracranial self-stimulation in split-brain monkeys. *Exp Neurol* 55:295–303.
- Xiang Z, Wang L, Kitai ST (2005) Modulation of spontaneous firing in rat subthalamic neurons by 5-HT receptor subtypes. *J Neurophysiol* 93:1145–1157.
- Yasumi M, Sato K, Shimada S, Nishimura M, Tohyama M (1997) Regional distribution of GABA transporter 1 (GAT1) mRNA in the rat brain: Comparison with glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) mRNA localization. *Mol Brain Res* 44:205–218.
- Yelnik J, François C, Percheron G, Heyner S (1987) Golgi study of the primate substantia nigra. I. Quantitative morphology and typology of nigral neurons. *J Comp Neurol* 265:455–472.
- Yelnik J, Percheron G, François C (1984) A Golgi analysis of the primate globus pallidus. II. Quantitative morphology and spatial orientation of dendritic arborizations. *J Comp Neurol* 227:200–213.
- Yeomans MR, Gray RW (1997) Effects of naltrexone on food intake and changes in subjective appetite during eating: evidence for opioid involvement in the appetizer effect. *Physiol Behav* 62:15–21.
- Yizhar O, Fenno LE, Davidson TJ, Mogri M, Deisseroth K (2011) Optogenetics in Neural Systems. *Neuron* 71:9–34.
- Yoon HH, Min J, Hwang E, Lee CJ, Suh J-KF, Hwang O, Jeon SR (2016) Optogenetic Inhibition of the Subthalamic Nucleus Reduces Levodopa-Induced Dyskinesias in a Rat Model of Parkinson’s Disease. *Stereotact Funct Neurosurg* 94:41–53.

- Yoon HH, Park JH, Kim YH, Min J, Hwang E, Lee CJ, Suh J-KF, Hwang O, Jeon SR (2014) Optogenetic inactivation of the subthalamic nucleus improves forelimb akinesia in a rat model of Parkinson disease. *Neurosurgery* 74:533–541.
- Young S, Rhodes P, Touyz S, Hay P (2013) The relationship between obsessive-compulsive personality disorder traits, obsessive-compulsive disorder and excessive exercise in patients with anorexia nervosa: a systematic review. *J Eat Disord* 1:16.
- Zaghloul KA, Weidemann CT, Lega BC, Jaggi JL, Baltuch GH, Kahana MJ (2012) Neuronal activity in the human subthalamic nucleus encodes decision conflict during action selection. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 32:2453–2460.
- Zahm DS (2000) An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neurosci Biobehav Rev* 24:85–105.
- Zalocusky KA, Fenno LE, Deisseroth K (2013) 2 Current challenges in optogenetics. In: *Optogenetics* (Hegemann P, Sigrist S, eds). Berlin, Boston: De Gruyter.
- Zavala B, Tan H, Ashkan K, Foltynie T, Limousin P, Zrinzo L, Zaghloul K, Brown P (2016) Human subthalamic nucleus-medial frontal cortex theta phase coherence is involved in conflict and error related cortical monitoring. *NeuroImage* 137:178–187.
- Zavala BA, Tan H, Little S, Ashkan K, Hariz M, Foltynie T, Zrinzo L, Zaghloul KA, Brown P (2014) Midline Frontal Cortex Low-Frequency Activity Drives Subthalamic Nucleus Oscillations during Conflict. *J Neurosci* 34:7322–7333.
- Zénon A, Duclos Y, Carron R, Witjas T, Baunez C, Régis J, Azulay J-P, Brown P, Eusebio A (2016) The human subthalamic nucleus encodes the subjective value of reward and the cost of effort during decision-making. *Brain J Neurol* 139:1830–1843.
- Zhang F, Wang L-P, Boyden ES, Deisseroth K (2006) Channelrhodopsin-2 and optical control of excitable cells. *Nat Methods* 3:785–792.
- Zhang F, Wang L-P, Brauner M, Liewald JF, Kay K, Watzke N, Wood PG, Bamberg E, Nagel G, Gottschalk A, Deisseroth K (2007) Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. *Nature* 446:633–639.
- Zhang M, Balmadrid C, Kelley AE (2003) Nucleus accumbens opioid, GABAergic, and dopaminergic modulation of palatable food motivation: contrasting effects revealed by a progressive ratio study in the rat. *Behav Neurosci* 117:202–211.
- Zhang M, Kelley AE (1997) Opiate agonists microinjected into the nucleus accumbens enhance sucrose drinking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 132:350–360.
- Zucker RS, Regehr WG (2002) Short-Term Synaptic Plasticity. *Annu Rev Physiol* 64:355–405.

Résumé grand public :

La stimulation cérébrale profonde (SCP) est actuellement un traitement efficace pour la maladie de parkinson. Cette approche est maintenant fortement envisagée pour le traitement des addictions. Elle consiste à délivrer des impulsions électriques au sein d'une structure cérébrale : le noyau subthalamique. Nous avons montré dans le noyau subthalamique l'existence de signatures associée à la transition vers l'addiction et la prise compulsive de drogue, ainsi que le potentiel thérapeutique de la SCP pour réduire la consommation pathologique et compulsive de cocaïne chez des rats. Nous avons également montré le contrôle spécifique du noyau subthalamique sur la motivation pour la nourriture sucrée et les drogues d'abus. Dans l'ensemble, cette thèse devrait permettre une meilleure compréhension des mécanismes de la SCP, de son potentiel thérapeutique pour les addictions et de ses éventuels effets secondaires.

Popularization abstract:

Deep brain stimulation (DBS) is currently one form of effective treatment for Parkinson's disease. This approach is currently considered for the treatment of addiction. It consists in the delivery of small electric impulses inside a brain structure: the subthalamic nucleus. We have shown in the subthalamic nucleus the existence of signature associated with the transition to addiction and compulsive drug abuse, as well as the therapeutic potential of DBS to reduce pathological intake and compulsive cocaine abuse in rats. We also established the specific control exerted by the subthalamic nucleus on the motivation for sweet food and drug of abuse. Overall this thesis could allow a better understanding of the mechanisms of DBS, its therapeutic potential in addiction and possible side effects.