

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

**L'IMPLICATION DE LA PROTÉINE KINASE B, AKT, DANS L'APPRENTISSAGE
MOTEUR CHEZ LA SOURIS**

**MÉMOIRE PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE DE LA
MAÎTRISE EN BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE**

**PAR
KAREN LAGUEUX**

JUIN 2025

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire, de cette thèse ou de cet essai a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire, de sa thèse ou de son essai.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire, cette thèse ou cet essai. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire, de cette thèse et de son essai requiert son autorisation.

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES
MAITRISE EN BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE (MAITRE)

Direction de recherche :

Michel Cyr

Prénom et nom

directeur de recherche

Jury d'évaluation

Lionel Berthoux

Prénom et nom

Fonction du membre de jury

Denis Boire

Prénom et nom

Fonction du membre de jury

L'imagination est plus importante que la connaissance, car la connaissance est limitée tandis que l'imagination englobe le monde entier, stimule le progrès, suscite l'évolution.

Albert Einstein, Mathématicien, Physicien, Scientifique (1879 - 1955)

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier mon très cher directeur de recherche, Dr Michel Cyr. Sans lui, rien de tout cela n'aurait été possible. Je tiens à te remercier de ta générosité à me choisir comme étudiante, moi qui n'y connaissais par grand-chose en neuroscience. Tu as réussi à développer mon ouverture d'esprit en contrecarrant mon esprit très critique grâce à ton soutien, ta disponibilité, ton énorme écoute et ta bonne humeur de tous les jours. Je te remercie de m'avoir transporté dans ton monde de la recherche et de m'avoir fait confiance et ce, même avec mes idées un peu trop extravagantes et quoi que hors du commun quelques fois. Grâce à toi, j'en ai appris énormément sur les neurosciences et je t'en remercie. Je n'oublierai jamais les fois où je paniquais et que tu as su me recentrer pour que je continue mes tâches. Je garderai précieusement tous ces souvenirs avec moi pour les années à suivre.

Je ne peux pas passer sous le silence ma précieuse collaboration avec Chloé Migneault-Bouchard. Nous nous sommes rencontrés dans le but d'optimiser son protocole de Western Blot dans un contexte de biopsies conservées au TRIZOL. Ce fut tout un défi et je n'aurais jamais cru qu'une amitié aussi précieuse à mes yeux s'en développerait. Ce fut un grand baume sur mon cœur de petite étudiante toute seule dans un grand laboratoire que de t'avoir avec moi pendant quelques mois. Nous avons ri, nous nous sommes découragées par les expériences ratées, nous nous sommes fâchées par les moins bons résultats, mais nous n'avons jamais abandonné! Il en résulte un bel article confectionné par toi-même et je suis si heureuse d'avoir pu y contribuer et de t'avoir rencontré pendant mon parcours en maîtrise. J'espère que cette amitié restera pour le restant de ma vie.

Je tiens à remercier également mon père, Alain, qui m'a soutenu tout au long de cet énorme projet que j'ai entrepris que sont les études supérieures. Je veux également remercier mon frère, Samuel, avec qui j'ai pu discuter de mon projet de maîtrise et des embûches et qu'il a réussi à m'éclairer sans vraiment y connaître le sujet et à m'aider à trouver des solutions à quelques petits problèmes un peu plus technique.

Je tiens à remercier mes ami(e)s, plus précisément Lytana Lécuyer et Annie-Jade Creamer-Éthier. Vous m'avez aidé à passer au travers de moments difficiles que ce soit en faisant des activités, en parlant de mon projet de maîtrise ou en m'apportant de nouvelles perspectives. Vous ne pouvez entrevoir l'influence que vous avez eu à mon égard dans ce grand projet et l'apaisement que vous avez procuré à mon cœur. Merci également à tous ceux que j'aime et qui m'ont aidé de loin ou de près à l'avancement de mon parcours universitaire et professionnel futur. Vous êtes un soutien incroyable et je ne pense pas que j'aurais poursuivie aussi loin mes études si ce n'était de vous.

Je tiens finalement à mentionner l'aide financière de mon directeur de recherche, le Dr Michel Cyr, le Groupe de recherche en Signalisation Cellulaire qui m'ont octroyé des bourses pour m'aider à poursuivre mes études ainsi que mon institution, pour les nombreuses bourses tel que l'aide à la diffusion qui m'ont été octroyées. Avec cette aide financière, j'ai pu obtenir, grâce à vous, une tranquillité d'esprit incroyable.

Je tiens à souligner l'aide obtenue de l'intelligence artificielle (OpenAI, *ChatGPT* V.4) pour le remaniement de certaines phrases dans mon introduction et ma discussion afin d'en faciliter la lecture et la compréhension.

RÉSUMÉ

La mémoire motrice est responsable de l'exécution automatique de tâches motrices complexes que les gens effectuent dans leur vie quotidienne, mais les mécanismes moléculaires impliqués ne sont pas entièrement compris. Des recherches antérieures chez la souris ont montré que la cible de la rapamycine chez les mammifères (mTOR) est impliquée dans l'apprentissage des habiletés motrices complexes. La protéine kinase B (AKT) est étroitement associée à la signalisation mTOR et il a été démontré qu'elle joue un rôle dans des fonctions spécifiques du système nerveux. Dans cette étude, nous avons étudié le rôle d'AKT dans l'apprentissage moteur à l'aide du rotarod accéléré, qui permet de distinguer les deux phases d'apprentissage connues : les phases d'apprentissage rapide et de consolidation.

Des souris C57BL / 6 ont été entraînées sur le rotarod accéléré et sacrifiées à divers jours d'entraînement pour analyser les tissus cérébraux à l'aide d'une analyse Western-blot et densitométrique avec un anticorps pan-AKT phosphorylé à Serine 473 et des anticorps totaux AKT1, AKT2 et AKT3. Nos données ont révélé que l'activation d'AKT3 était modulée de manière différentielle dans le striatum par rapport à d'autres régions du cerveau pendant les phases d'apprentissage d'une habileté motrice complexe. De plus, nous avons utilisé Ipatasertib, un inhibiteur pharmacologique d'AKT, pour tester notre hypothèse selon laquelle AKT joue un rôle essentiel dans les processus moléculaires d'encodage de la mémoire motrice. Nous avons constaté que le traitement par Ipatasertib n'affectait pas la fonction motrice générale, mais induisait une diminution des performances dans la phase d'apprentissage de consolidation.

Globalement, notre étude suggère que l'activation d'AKT3 est modulée de manière différentielle dans le striatum lors des phases d'apprentissage d'une habileté motrice complexe. De plus, nos résultats suggèrent que l'AKT3 striatal joue un rôle essentiel dans les processus moléculaires d'encodage de la mémoire motrice, alors qu'il n'influence pas la fonction motrice générale. Ces résultats donnent un aperçu des mécanismes moléculaires sous-jacents à l'apprentissage moteur et pourraient avoir des implications pour le développement de traitements pour les troubles de l'apprentissage moteur.

Mots-clés : AKT, Ipatasertib, GDC-0068, apprentissage moteur, striatum, GSK-3 $\alpha\beta$, Protéine kinase B, rotarod, mémoire, consolidation, motricité

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Liste des anticorps primaires employés pour la technique de Western Blot	33
---	-----------

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Diagramme des types de mémoire.....	4
Figure 2 Schéma des phases d'apprentissage moteur	5
Figure 3 Planification du mouvement moteur volontaire	8
Figure 4 Représentation somatotopique de l'aire motrice primaire	9
Figure 5 La localisation et les principales structures concevant les ganglions de la base	12
Figure 6 L'organisation du système moteur extrapyramidal dans les ganglions de la base	13
Figure 7 Vue du striatum sur une coupe transverse d'un cerveau humain	15
Figure 8 Les subdivisions fonctionnelles du striatum chez l'homme et la souris	16
Figure 9 Schéma de la cascade de signalisation cellulaire de AKT/mTOR et leurs effecteurs principaux par phosphorylation	19
Figure 10 La structure des trois isoformes d'AKT chez l'humain	21
Figure 11 Le mode d'action d'Ipatasertib (GDC-0068) sur la voie de signalisation d'AKT	23
Figure 12 Rotarod	29
Figure 13 Wire suspension test	30
Figure 14 Pole test	31
Figure 15 Lignes du temps des expériences	37
Figure 16 Rotarod accéléré	39
Figure 17 Niveaux striataux de p-AKT1, p-AKT2 et p-AKT3 lors de l'apprentissage moteur sur le Rotarod accéléré	42
Figure 18 Effet de l'Ipatasertib sur la cible moléculaire d'AKT, GSK-3 α , sur différentes parties du cerveau	44
Figure 19 Effet de l'Ipatasertib sur la cible moléculaire d'AKT, GSK-3 β , sur différentes parties du cerveau	45
Figure 20 L'effet de l'inhibition d'AKT via Ipatasertib, lors d'un traitement chronique, sur les tests d'habiletés motrices.....	47
Figure 21 L'effet de l'Ipatasertib sur l'acquisition de la mémoire motrice sur le Rotarod accéléré.....	49
Figure 22 Le rôle de la B-arrestin dans la signalisation des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR)	62
Figure 23 La signalisation complexe des récepteurs dopaminergiques dans le striatum	63
Figure 24 L'effet de l'inhibition d'AKT via Ipatasertib, lors d'un traitement aigu, sur les tests d'habiletés motrices	67

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

AKT	Protéine kinase B
ARN	Acide ribonucléique
ATP	Adénosine triphosphate
BSA	Sérum d'albumine bovine
DIE	Une fois par jour
DLS	Striatum dorsolatéral
DMS	Striatum dorsomédial
DRD2	Récepteur dopaminergique D2
EGFR	Epidermal growth factor receptor
GAPDH	Glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase
GPCR	Récepteur couplé aux protéine G
GPe	Globus pallidus externe
GPi	Globus pallidus interne
GSK-3 α	Glycogène synthase kinase 3 alpha
GSK-3 β	Glycogène synthase kinase 3 beta
HER2	Human epidermal growth factor receptor-2
KO	Knock-out
mTOR	Cible de la rapamycine chez les mammifères
mTORC1	Cible de la rapamycine chez les mammifères du complexe 1

mTORC2	Cible de la rapamycine chez les mammifères du complexe 2
Per os	Par la bouche
PH	Domaine d'homologie de la pleckstrine
PIP2	phosphatidylinositol-4,5-biphosphate
PIP3	phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate
PP2A	Protéine phosphatase 2A
RIPA	Tampon de test radio-immunoprécipitation
RPM	Rotation par minute
RTK	Récepteur à activité tyrosine kinase
SDS-PAGE	Électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium
siARN	Petit ARN interférent
SME	Système moteur extrapyramidal
SNC	Substance noire pars compacta
SNC	Système nerveux central
SNr	Substance noire per reticulatas
STN	Noyaux sous-thalamique
TBS	Tris-Buffered saline
β -Arr2	B-Arrestin2

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS.....	IV
RÉSUMÉ	VI
LISTE DES TABLEAUX.....	VII
LISTE DES FIGURES	VIII
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES	IX
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 : L'APPRENTISSAGE MOTEUR.....	3
1.1 La mémoire	3
1.2 La neurobiologie, l'initiation et l'exécution d'un mouvement	7
1.2.1 Le cortex cérébral	8
1.2.2 Le cervelet	10
1.2.3 Les ganglions de la base dans la neurobiologie des mouvements	11
1.2.3.1 Le striatum et l'apprentissage moteur	15
CHAPITRE II : VOIES DE SIGNALISATION CELLULAIRE	18
2.1 Voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR	18
2.2 Protéine kinase B (AKT)	20
2.2.1 Inhibition de la voie de signalisation AKT via Ipatasertib (GDC-0068).....	22
CHAPITRE III : HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS DE RECHERCHE	24
3.1 Est-ce que les isoformes d'AKT ont la même implication au niveau du processus moléculaire de l'apprentissage d'un mouvement moteur complexe?	25

3.2	Est-ce que l'inhibition d'AKT par un traitement pharmacologique (Ipatasertib (GDC-0068)) affecte l'apprentissage moteur?	26
-----	--	----

3.3	Est-ce que l'inhibition de la voie de signalisation d'AKT par Ipatasertib (GDC-0068) a un impact sur l'exécution, la coordination et la capacité motrice des souris?	27
-----	--	----

CHAPITRE IV : MÉTHODOLOGIE 28

4.1	Animaux.....	28
-----	--------------	----

4.2	Tests moteurs.....	28
-----	--------------------	----

4.2.1	Rotarod accéléré	28
-------	------------------------	----

4.2.2	Rotarod constant.....	29
-------	-----------------------	----

4.2.3	« Wire suspension test »	30
-------	--------------------------------	----

4.2.4	« Pole test »	30
-------	---------------------	----

4.3	Analyse biochimique	31
-----	---------------------------	----

4.3.1	Échantillons	31
-------	--------------------	----

4.3.2	Western Blot.....	32
-------	-------------------	----

4.4	Traitement pharmacologique	34
-----	----------------------------------	----

4.5	Description des groupes expérimentaux	34
-----	---	----

4.5.1	Rotarod accéléré sans traitement pharmacologique	34
-------	--	----

4.5.2	Traitement chronique à l'Ipatasertib pour les analyses biochimiques de type Western-Blot	35
-------	--	----

4.5.3	Traitement chronique à l'Ipatasertib lors de l'apprentissage du Rotarod accéléré	35
-------	--	----

4.5.4	Traitement chronique à l'Ipatasertib lors du pole et wire suspension test	35
-------	---	----

4.5.5	Traitement chronique à l'Ipatasertib lors du Rotarod constant	36
-------	---	----

4.5.6	Traitement chronique à l'Ipatasertib lors de l'apprentissage du Rotarod accéléré	36
-------	--	----

4.6	Tests statistiques.....	38
-----	-------------------------	----

CHAPITRE V : RÉSULTATS..... 39

5.1	Visualisation des différentes phases d'apprentissage moteur sur le Rotarod accéléré	39
-----	---	----

5.2	Impact de l'apprentissage moteur du Rotarod accéléré sur l'activation des isoformes d'AKT	40
-----	---	----

5.3	Effet de l'administration d'Ipatasertib (GDC-0068) sur GSK-3 α/β , une cible moléculaire d'AKT, au niveau du cerveau chez la souris.....	43
-----	---	----

5.4	Impact de l'inhibition de la voie de signalisation AKT par un traitement chronique à l'Ipatasertib sur l'exécution, la coordination et la capacité motrice des souris	46
-----	---	----

5.5	Effet de l'administration de l'Ipatasertib sur l'apprentissage moteur complexe via le Rotarod accéléré ..	48
-----	---	----

CHAPITRE VI : DISCUSSION GÉNÉRALE 50

6.1	Implication des isoformes d'AKT au niveau du processus moléculaires de l'apprentissage d'un mouvement moteur complexe	51
6.2	Impact d'Ipatasertib sur la voie de signalisation AKT	53
6.2.1	<i>Nos résultats démontrent qu'Ipatasertib passe la barrière Hémato-Encéphalique</i>	53
6.3	Impact d'un traitement avec Ipatasertib sur l'exécution, la coordination et la capacité motrice chez les souris 55	
6.4	Implication de l'inhibition pharmaceutique d'AKT sur l'apprentissage moteur	57
6.5	Implication d'AKT3 au niveau de l'apprentissage d'un mouvement moteur complexe.....	58
6.6	Conclusion, perspectives et objectifs à long terme	61
ANNEXE 1		67
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES		68

INTRODUCTION

Tous les jours nous effectuons des tâches qui sont devenues automatiques, que ce soit de conduire, marcher, faire du vélo, en somme n'importe quel mouvement qui est devenu automatique. Pourtant, nous n'avons appris aucune de ses tâches de façon automatique dès le premier essai, il ne s'agit aucunement d'un comportement inné. Nous nous sommes pratiqués et améliorés avec le temps pour acquérir cette automatisaion. Il s'agit de mouvements successifs et coordonnés qui sont dus à une combinaison de mouvements volontaires et de réflexes. Avec du temps et de la pratique, le mouvement moteur s'automatise et se retrouve encodé dans notre cerveau. Quoique ces mouvements nous semblent des plus simples à réaliser en réponse à leur apprentissage, ils nécessitent l'intégration de plusieurs régions du cerveau, que ce soit du cortex cérébral, des ganglions de la base ou bien encore du cervelet. Depuis plusieurs années, de nombreux scientifiques se sont penchés sur les mécanismes cellulaires et moléculaires entourant la mémorisation des tâches motrices complexes. Cependant, seulement des brides de découvertes ont été établies et les mécanismes d'intégration de la mémoire sont encore méconnus. Plusieurs structures, protéines ou autres peuvent être impliqués lors de l'apprentissage moteur. Les protéines font partie de voies de signalisation cellulaire qui contribuent à plusieurs fonctions du métabolisme. On y retrouve la protéine kinase B (AKT), une protéine kinase proche de la cible de la rapamycine chez les mammifères (mTOR) et de la glycogène synthase kinase 3 (GSK-3), qui elles sont bien connues pour leur implication dans l'apprentissage moteur (Bergeron, Chagniel et al. 2014, Ouimet, Pepin et al. 2019). Il s'agit d'une protéine multifonctionnelle, que ce soit au niveau de

troubles de désordres neurologiques que de son implication dans le cancer au niveau des récepteurs HER2 (Chong, Shang et al. 2012, Ruiz-Saenz, Dreyer et al. 2018). Cependant, son rôle, ainsi que celui de ses isoformes, est moins bien déterminé dans l'apprentissage d'une tâche motrice complexe. Dans le cadre de ce mémoire, j'ai principalement étudié l'implication d'AKT dans l'apprentissage d'une tâche motrice. D'entrée de jeu, une introduction sur la neuroanatomie pertinente à la motricité sera effectuée pour ensuite être suivie par une approche sur l'implication des ganglions de la base, plus précisément le striatum, ainsi que les différents types de mémoire. En second lieu, la voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR sera décrite en détail en prenant soin de distinguer l'implication d'AKT dans l'apprentissage d'une tâche motrice.

CHAPITRE 1 : L'APPRENTISSAGE MOTEUR

1.1 La mémoire

La mémoire joue un rôle crucial dans notre survie, qu'il s'agisse de se souvenir d'expériences passées ou de moments plus agréables. Elle nous permet de conserver des informations pour faire face aux situations en appliquant des savoirs acquis. Alors que peu de personnes se souviennent de ce qu'elles ont mangé pour le déjeuner il y a à peine quelques jours, l'humain est capable, après dix ans sans avoir touché à une bicyclette, de remonter sur la selle et effectuer une randonnée sans difficulté. Vous vous doutez bien qu'il est question de la mémoire dans ce contexte. Mais quel est le type de mémoire impliquée dans ces processus ? Il faut d'abord savoir qu'il existe deux catégories générales de mémoires, on reconnaît la mémoire à court terme et celle à long terme (**Fig. 1**). La mémoire à court terme repose davantage sur les connexions déjà établies dans le cerveau, tandis que la mémoire à long terme est basée sur des changements fonctionnels et structurels qui se produisent dans le cerveau (Jaffard 2011, Cabeza and Moscovitch 2013, Bisaz, Travaglia et al. 2014).

La mémoire à court terme, MCT, est un élément fondamental de notre système cognitif. Elle joue un rôle crucial dans notre capacité à traiter l'information, à prendre des décisions, à résoudre des problèmes et à interagir avec le monde qui nous entoure. Elle a une capacité limitée, ce qui signifie que nous ne pouvons pas stocker une quantité illimitée d'informations dans cette dernière. Les chercheurs estiment que la capacité de la mémoire à court terme est d'environ 7 à 9 éléments, tels que des chiffres, des mots ou des objets, pendant une période de quelques secondes à une minute (Cascella and Al Khalili 2023).

La mémoire à court terme est le maillon essentiel entre nos sens et la mémoire à long terme, permettant de stocker temporairement des informations et de les traiter avant de les transférer dans la mémoire à long terme ou de les oublier.

La mémoire à long terme se divise en deux types : la mémoire déclarative, également appelée mémoire explicite, et la mémoire non déclarative, aussi nommée implicite (**Fig. 1**). La mémoire explicite contient notre capacité à nous souvenir de noms, de visages, de lieux, d'histoires, de concepts, etc. Elle englobe notamment notre capacité à stocker des informations liées à nos expériences personnelles. La mémoire implicite, quant à elle, permet le rappel d'informations sans nécessiter une prise de conscience, c'est-à-dire sans avoir à réfléchir pour se souvenir (Cabeza and

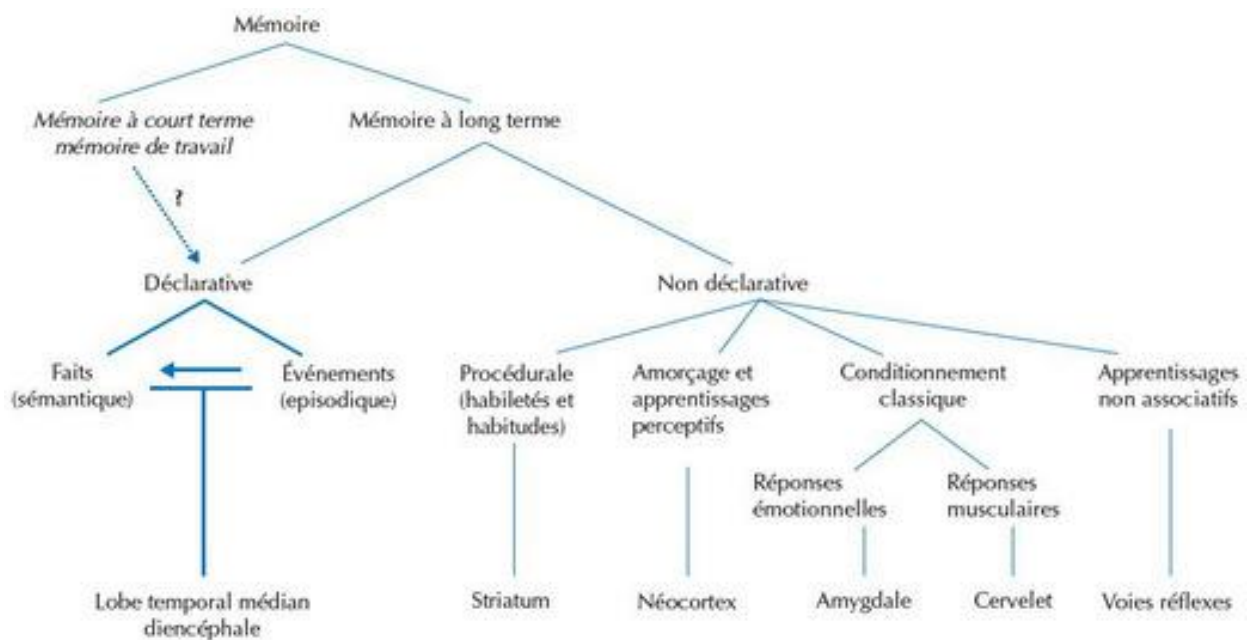


Figure 1 | Diagramme des types de mémoire

Illustration des principales catégories de mémoire humaine, divisées en mémoire à court terme et mémoire à long terme. Cette dernière se subdivise en mémoire déclarative (explicite), qui comprend la mémoire sémantique (faits) et la mémoire épisodique (événements), et en mémoire non déclarative (implicite), qui inclut la mémoire procédurale, l'amorçage perceptif, le conditionnement classique et les apprentissages non associatifs. Les structures cérébrales associées à chaque type de mémoire sont également indiquées.

© Tirée de (Jaffard 2011)

Moscovitch 2013, Szpunar and Chan 2018). La mémoire procédurale fait partie de cette dernière (Quam, Wang et al. 2018).

La mémoire procédurale est une forme de mémoire à long terme qui concerne principalement l'apprentissage de compétences motrices et de procédures, ainsi que la rétention de routines et de savoir-faire. Contrairement à la mémoire explicite, qui est liée à la mémorisation d'informations factuelles et d'événements spécifiques, la mémoire procédurale est responsable de la rétention de connaissances pratiques, telles que la façon de faire du vélo, de nager, de jouer d'un

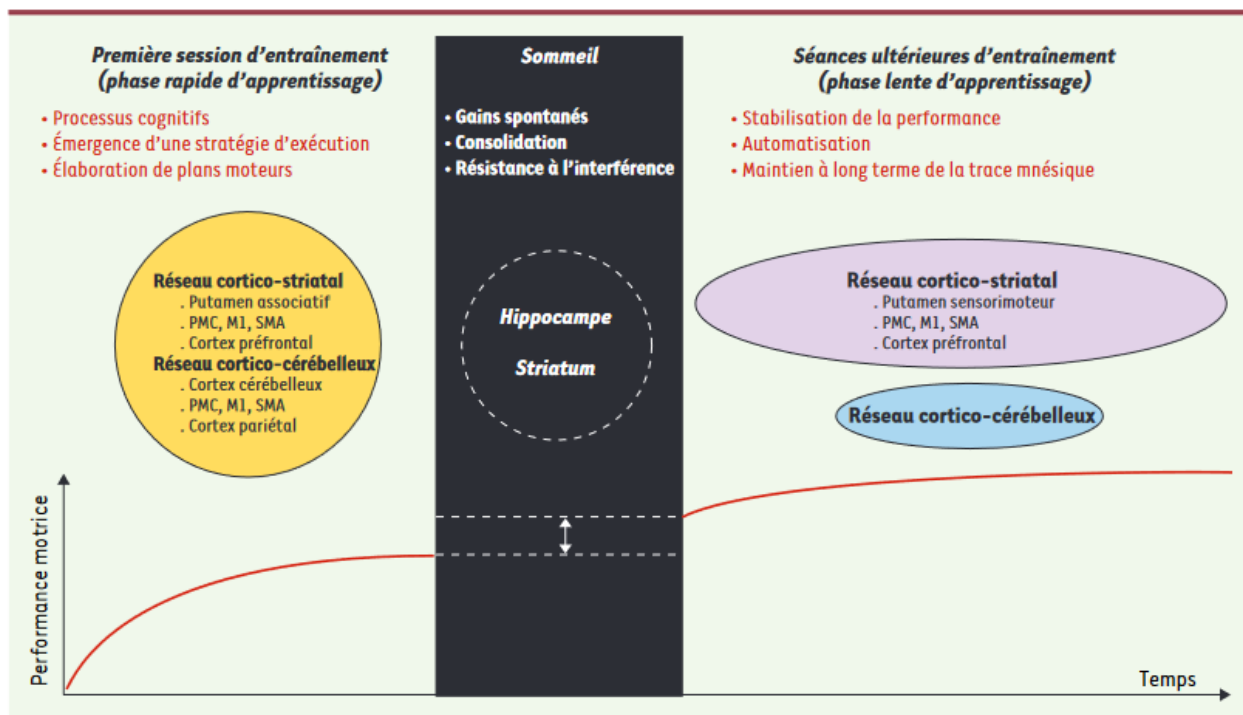


Figure 2 | Schéma des phases d'apprentissage moteur

Illustration des différentes phases de l'apprentissage moteur en fonction du temps et des réseaux neuronaux impliqués. La première session d'entraînement (phase rapide) engage principalement les réseaux cortico-striatal (putamen associatif, PMC, M1, SMA, cortex préfrontal) et cortico-cérébelleux, associés à l'émergence des stratégies motrices. Durant le sommeil, des processus de consolidation, de gains spontanés et de résistance à l'interférence se produisent, impliquant l'hippocampe et le striatum. Les séances ultérieures (phase lente) sont marquées par la stabilisation de la performance, l'automatisation et la rétention à long terme, mobilisant le réseau cortico-striatal sensorimoteur et le réseau cortico-cérébelleux. La courbe en bas illustre l'évolution de la performance motrice au fil du temps.

© Tirée de (Doyon, Orban et al. 2011)

instrument de musique ou même de conduire une voiture. Il s'agit là de tâches complexes qui ne requiert aucune prise de conscience pour les effectuer (Bouyeure and Noulhiane 2020). Cette forme de mémoire est essentielle dans notre capacité à accomplir des tâches complexes de manière automatique et avec habileté (Kropotov 2009).

La mémoire procédurale est caractérisée par différentes phases d'apprentissage en relation avec les différents réseaux de connexion se trouvant dans le cerveau. Une des premières étapes de la création de la mémoire procédurale est la phase rapide de l'apprentissage (Doyon, Bellec et al. 2009, Kropotov 2009, Doyon, Orban et al. 2011). Cette phase correspond au début de l'apprentissage d'une nouvelle tâche motrice, par exemple, après plusieurs essais sur le vélo, nous devenons rapidement meilleur après chaque chute. Cette dernière implique l'activation des neurones de la voie cortico-striatale qui permet l'élaboration de la stratégie d'exécution du mouvement, la création de plans moteurs et l'implication de processus cognitifs. Par la suite, on reconnaît la phase dite de renforcement et de stabilisation. Cette dernière survient durant le sommeil ou lors d'un repos prolongé (Doyon, Orban et al. 2011). La consolidation de la mémoire est principalement associée au sommeil à ondes lentes (ou « *slow wave sleep* » (SWS)) et à la consolidation synaptique suivant le SWS au sommeil paradoxal, également connu comme étant le *Rapid Eye Movement* (REM). Elle permet une réactivation neuronale au sein de structures clés tel que l'hippocampe, le striatum et le néocortex. Ainsi, lors de l'éveil, l'individu va effectuer à nouveau la tâche à un niveau de performance augmenté (Doyon, Orban et al. 2011, Feld and Born 2012). Vient ensuite le processus de stabilisation de la performance qui est associé à la phase lente de l'apprentissage. Cette phase est observable suite aux premières séances d'apprentissage et vise l'automatisation de la tâche ainsi que le maintien à long terme de la trace mnésique (**Fig. 2**) (Kropotov 2009, Doyon, Orban et al. 2011, Ullman 2016, Bouyeure and Noulhiane 2020).

Si l'on reprend l'analogie de faire de la bicyclette pour illustrer ce phénomène d'apprentissage et de mémorisation à long terme, lorsque nous débutons l'apprentissage de la bicyclette, nous tombons fréquemment. Cependant, après quelques essais, il est possible d'observer une amélioration rapide de la tâche effectuée. Une fois que nous avons acquis une certaine maîtrise de cette dernière, notre performance à bicyclette se stabilise et nous sommes à ce moment capables d'engager une conversation tout en pédalant, car l'action s'effectue automatiquement.

1.2 La neurobiologie, l'initiation et l'exécution d'un mouvement

La mémoire procédurale, faisant partie de la mémoire implicite, permet la mémorisation de mouvements moteurs, tel que la marche. Le réseau nerveux capte diverses informations en provenance des sens et des nerfs. Ces informations, traitées par le cerveau, suivent un vaste système de voies et de cascades d'activation qui permettent une transmission complexe des informations jusqu'à l'initiation d'un mouvement (Chloca 2018). En se limitant à l'initiation et à l'exécution d'un mouvement, nous pouvons mentionner le cortex cérébral comme point central. Toutefois, il convient de souligner que l'apprentissage moteur peut être divisé en phases distinctes ce qui nécessite que nous établissions les étapes du cheminement anatomique lors du transfert de l'information. Certaines régions du cerveau ont été identifiées dans ces processus lors de diverses études, ceci inclut le cortex, l'hippocampe, le cervelet et les ganglions de la base (Ungerleider, Doyon et al. 2002, Doyon, Orban et al. 2011). Chacune de ces régions a un rôle à jouer dans la production d'un mouvement précis et fluide.

1.2.1 Le cortex cérébral

Les mouvements involontaires, dits réflexes, sont contrôlés par la moelle épinière, tandis que les mouvements volontaires, conscients, sont organisés de manière complexe dans le système nerveux central (SNC) (Chloca 2018). Pour réaliser un mouvement volontaire, le cerveau doit sélectionner une réponse précise et appropriée en fonction du contexte. Ceci permet au cerveau d'élaborer une séquence de contractions musculaires qui produisent le mouvement approprié en réponse à la situation donnée. L'exécution d'un mouvement volontaire est contrôlée par le cortex cérébral, qui se divise en trois zones distinctes, le cortex préfrontal, le cortex prémoteur et le cortex moteur.

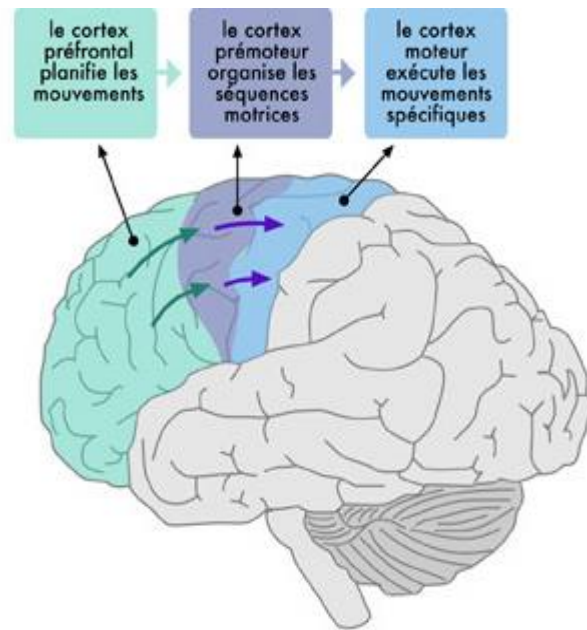


Figure 3 | Planification du mouvement moteur volontaire

Illustration montrant la séquence fonctionnelle de l'élaboration d'un mouvement volontaire : le cortex préfrontal planifie l'action, le cortex prémoteur organise les séquences motrices nécessaires à son exécution, et le cortex moteur primaire commande l'exécution précise des mouvements. Cette progression reflète l'intégration hiérarchique des informations motrices dans le cerveau.

© Tirée de l'adresse:
<https://www.frcneurodon.org>

Le cortex préfrontal est responsable de la définition et de la planification du mouvement. Les informations pertinentes de ce dernier sont ensuite transmises au cortex prémoteur, qui quant à lui, organise et structure la séquence du mouvement moteur. Ce schéma d'organisation est ensuite transmis au cortex moteur, qui commande l'exécution du mouvement en transmettant les informations à la moelle épinière et ensuite aux nerfs moteurs (**Fig. 3**) (Kolb, Whishaw et al. 2019).

système pyramidal, qui constitue la première étape dans la production des mouvements volontaires. Ces informations sont ensuite réparties en deux projections : l'une vers le tronc cérébral (faisceaux corticobulbaires), qui innerve les nerfs moteurs crâniens, et la seconde vers la moelle épinière (faisceaux corticospinaux), qui projette sur les motoneurones et les interneurones des muscles (Chloca 2018).

1.2.2 Le cervelet

Le cervelet entretient une collaboration étroite avec le cortex cérébral, jouant un rôle essentiel dans diverses fonctions liées aux mouvements du corps. Cette interaction s'effectue notamment par les voies corticopontocérébelleuses, qui transmettent l'information motrice du cortex au cervelet via les noyaux pontiques. Il assure le stockage des schémas moteurs, la coordination et l'ajustement précis des mouvements. En outre, le cervelet participe aux mouvements globaux du corps, incluant la posture et l'équilibre. Les réflexes posturaux, qui maintiennent l'équilibre et la posture en réponse aux changements de l'environnement autour de la personne, sont des fonctions primordiales du cervelet. Ce dernier est considéré depuis plusieurs années comme un élément prédictif crucial du contrôle moteur et de l'apprentissage moteur. Une maladie liée au cervelet, telle que l'ataxie cérébelleuse, souvent consécutive à une lésion, induit une perturbation notable de la coordination motrice et de l'équilibre. Cette condition neurologique perturbe les gestes essentiels du quotidien, transformant chaque mouvement en un défi imprévisible. Par exemple, marcher devient une entreprise incertaine, chaque pas étant marqué par une perte d'équilibre et de coordination (Morton and Bastian 2006, Rabe, Livne et al. 2009, van Gaalen and van de Warrenburg 2012, De Zeeuw and Ten Brinke 2015, Hull 2020, Baladron, Vitay et al. 2023).

1.2.3 Les ganglions de la base dans la neurobiologie des mouvements

Le terme Ganglions de la base a été introduit pour la première fois par David Ferrier dans sa publication intitulée *The Functions of the Brain* (Ferrier 1887), où il décrit les structures et les fonctions du cerveau. Ferrier explique que les ganglions de la base sont des masses intercalées au sein d'un système de projections de fibres qui sont connectées au cortex (**Fig. 5**).

Les ganglions de la base, aussi nommés noyaux gris centraux, font partie intégrante de la composition de la chaîne de contrôle des mouvements moteurs volontaires, avec le cortex constituant la composante principale de cette chaîne. Les ganglions de la base interviennent de façon indirecte dans le contrôle du mouvement volontaire. Bien qu'ils ne fassent pas partie des voies directes du système pyramidal, ils jouent un rôle central dans le système moteur extrapyramidal (SME). Contrairement à ce qui est parfois supposé, les ganglions de la base n'établissent pas de synapses directes avec les noyaux des nerfs crâniens ni avec les neurones moteurs de la moelle épinière. Leur influence sur la motricité s'exerce plutôt par l'intermédiaire de boucles complexes impliquant le cortex cérébral et le thalamus. Sur le plan fonctionnel, les ganglions de la base reçoivent des afférences principalement du cortex moteur et prémoteur, ainsi que du thalamus. Après traitement de ces informations dans le striatum, le globus pallidus, le noyau subthalamique et la substance noire, les signaux sont renvoyés vers le thalamus, notamment les noyaux ventraux, qui les retransmet ensuite au cortex moteur. Ce circuit en boucle permet de moduler l'initiation, l'intensité et la fluidité des mouvements. Le cervelet, quant à lui, reçoit également des informations du cortex et du tronc cérébral, qu'il intègre pour assurer la coordination motrice. Finalement, les commandes motrices corticales sont transmises aux muscles via les voies

descendantes du système pyramidal, permettant l'exécution du mouvement. (Donaldson, Marsden et al. 2012, Bhuiyan, Rajgopal et al. 2017, Peak, Hart et al. 2019, Lee and Muzio 2023).

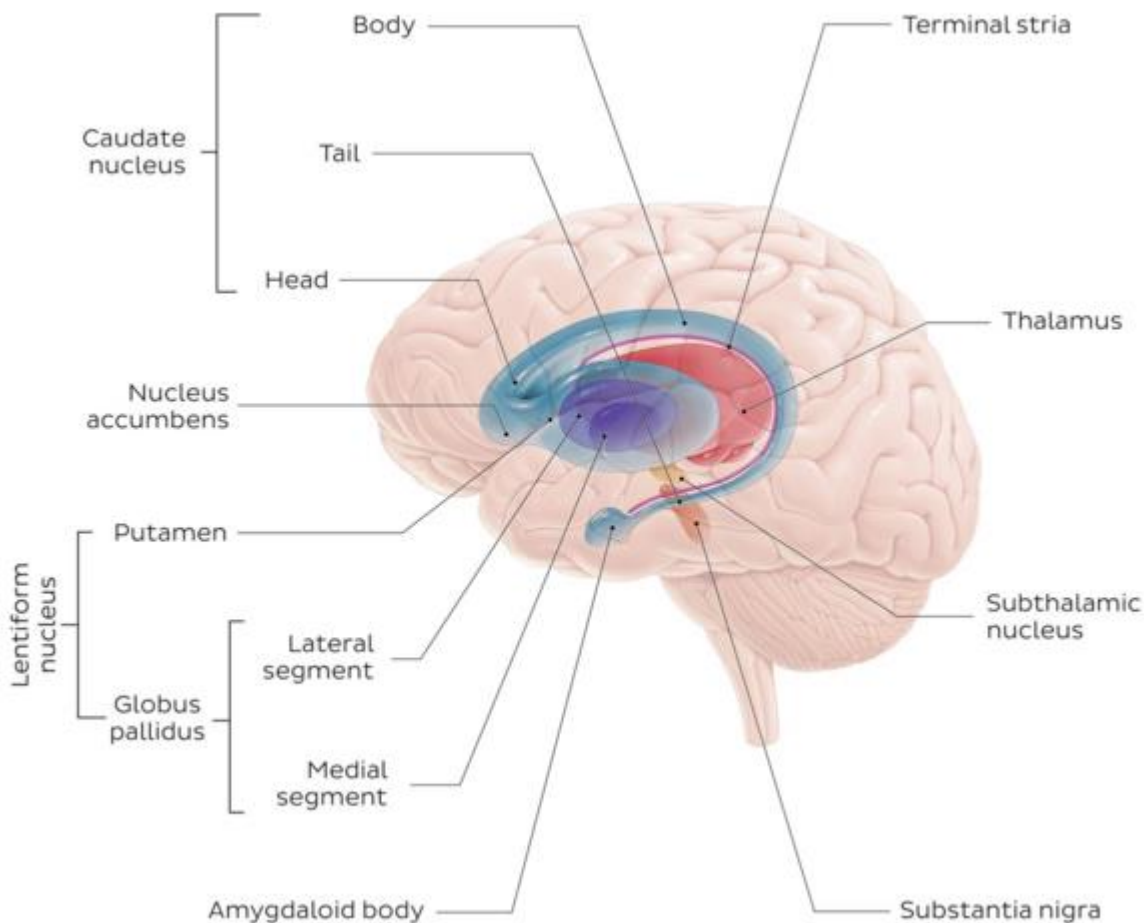


Figure 5 | La localisation et les principales structures concevant les ganglions de la base

Localisation des principales structures des ganglions de la base dans une vue sagittale du cerveau. Le schéma met en évidence les composantes majeures, incluant le noyau caudé, le putamen, le globus pallidus (segments médial et latéral), le noyau subthalamique et la substance noire, ainsi que les structures associées telles que le thalamus et l'amygdale. Ces structures sont essentielles au contrôle moteur, à la régulation des mouvements volontaires et à certaines fonctions cognitives.

© Tirée de Kenhub - Illustrateur: Paul Kim

Pour détailler davantage les fonctions des ganglions de la base au sein du SME, on peut les diviser en trois types de noyaux : les noyaux d'entrée, les noyaux de sortie et les noyaux intrinsèques. Les noyaux d'entrée comprennent le striatum dorsal (noyau caudé et putamen) et le striatum ventral (noyau accumbens). Nous ne traiterons ici que du striatum dorsal en considération que le striatum ventral est plutôt reconnu comme étant impliqué dans le système de récompense et de plaisir. Le striatum dorsal traite les informations efférentes du cortex et du thalamus, puis les transmet aux différents noyaux intrinsèques, à savoir le noyau sous-thalamique (STN) et le globus pallidus externe (GPe).

La substantia nigra pars compacta (substance noire compacte; SNc) projette ces informations vers le striatum dorsal. Les informations sont ensuite transmises aux noyaux de sortie, le globus pallidus interne (GPi) et la substantia nigra pars reticulata (substance noire réticulée) (SNr). Ces derniers renvoient l'information vers le thalamus et le cortex, contribuant ainsi à la production du mouvement moteur. Toutefois, il existe une rétroaction au niveau du thalamus pour garantir une motricité fine et pour corriger

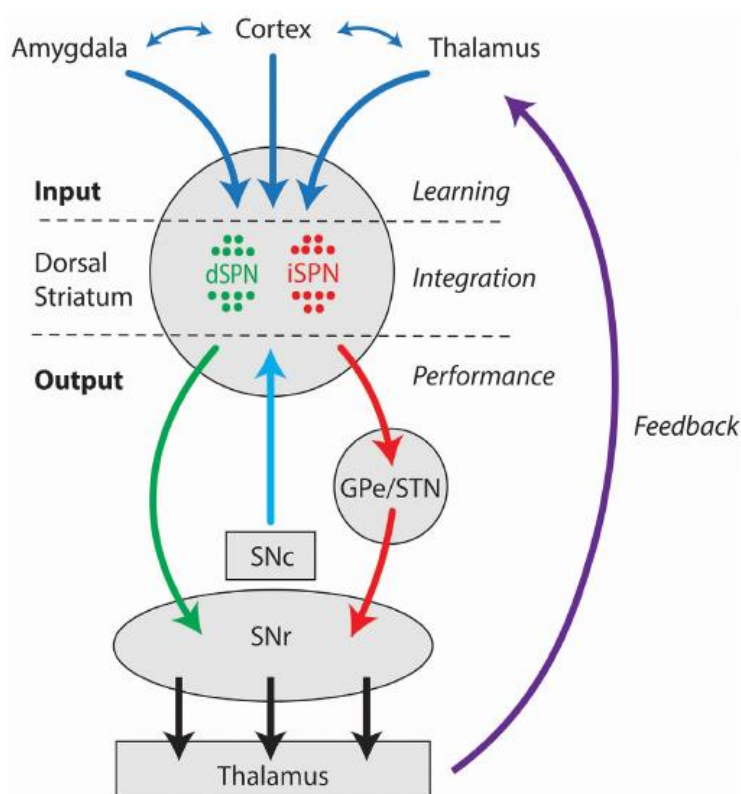


Figure 6 | L'organisation du système moteur extrapyramidal dans les ganglions de la base

SNc : substance noire compacte, SNr : substance noire réticulée, GPe : globus pallidus externe, STN : noyaux sous-thalamique, dSPN : neurones striatonigrales à voie directe, iSPN : neurones striatopallidales à voie indirecte

© Tirée de (Peak, Hart et al. 2019)

d'éventuels défauts dans le transfert de l'information. Ce signal est donc réintégré par les ganglions de la base dans le SME (**Fig. 6**) (Lanciego, Luquin et al. 2012).

Ce circuit prend place tout au long de la mémorisation de la tâche motrice et permet l'association des informations via les ganglions de la base, plus précisément dans le striatum dorsal. Ce dernier effectue le transfert de l'informations via les voies directe et indirecte vers le thalamus qui fait une rétroaction de l'information assimilées. Il existe deux médiateurs principaux à la mémoire procédurale acquise dans cette organisation du système moteur, la dopamine et l'acétylcholine. La dopamine, en provenance de la substance noire, est transportée vers le striatum tandis que l'acétylcholine est produite à même les cellules cholinergiques présentes dans le striatum. Ensemble, ces deux neurotransmetteurs modulent le flux d'informations dans le circuit des ganglions de la base en facilitant ou en inhibant la transmission des signaux selon la voie empruntée (directe ou indirecte), influençant ainsi l'initiation et la régulation des mouvements (**Fig. 6**) (Kropotov 2009).

Il a été rapporté que des lésions au niveau des ganglions de la base peuvent provoquer l'apparition de mouvements involontaires, des tremblements, des difficultés à initier un mouvement ou même une posture anormale due à une augmentation anormale du tonus musculaire (Ring and Serra-Mestres 2002, Yanagisawa 2018). Ces symptômes moteurs sont typiquement associés à des maladies des troubles du mouvement tel que la maladie de Parkinson et de Huntington. Il s'agit principalement de perturbations observées en relation avec les ganglions de la base au niveau du SME qui provoque ces maladies ce qui nous porte à croire que ces derniers seraient impliqués dans la consolidation de l'apprentissage moteur.

1.2.3.1 Le striatum et l'apprentissage moteur

Le striatum, une composante majeure des ganglions de la base, est une région d'une importance capitale. Son appellation découle de sa structure distinctive. Le striatum se compose d'un corps strié séparé par une capsule interne, où l'on peut clairement discerner les fibres myélinisées se propageant en son sein, créant un motif rayonnant (**Fig. 7**)

(Bhuiyan, Rajgopal et al. 2017). Comme mentionné précédemment, cette région se divise en deux parties distinctes : le striatum dorsal et le striatum ventral. Le striatum ventral fait partie intégrante du système limbique lié à la motivation et à la

dépendance. Le striatum dorsal, quant à lui, se subdivise en deux composants distincts : le noyau caudé et le putamen. Traditionnellement, le noyau caudé est associé aux fonctions cognitives, tandis que le putamen est davantage lié aux fonctions motrices (Gagnon, Petryszyn et al. 2017, Lipton, Gonzales et al. 2019).

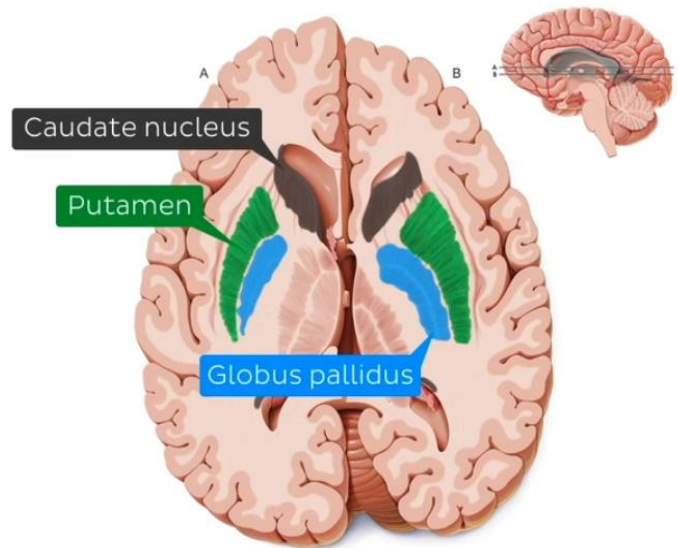


Figure 7 | Vue du striatum sur une coupe transverse d'un cerveau humain

Coupe transversale d'un cerveau humain illustrant les composantes du striatum. Le noyau caudé, le putamen (séparé par la capsule interne) et le globus pallidus sont mis en évidence, formant les structures principales des ganglions de la base impliquées dans la régulation du mouvement volontaire.

© Tirée de Kenhub - Illustrateur: Paul Kim

Le noyau caudé est la composante dorsomédiale du striatum (DMS) chez les rongeurs (Fig. 8). Il joue un rôle essentiel dans l'association des comportements automatiques lors de la phase initiale de l'apprentissage des compétences motrices (Gong, Ni et al. 2020, Cataldi, Stanley et al. 2022). Cette phase rapide permet une amélioration rapide des performances lors de l'acquisition de nouvelles compétences. Le DMS reçoit des afférences en provenance des régions du cortex préfrontal et associatif, ce qui lui permet de traiter les informations pertinentes. D'autre part, le putamen correspond au segment dorsolatéral du striatum (DLS) chez le rongeur, qui est principalement impliqué dans les processus sensorimoteurs. Il reçoit les afférences des aires corticales sensorimotrices, ce qui lui permet de coordonner les mouvements en réponse à des stimulus spécifiques. Lors de l'activation des voies directe, indirecte, hyperdirecte et

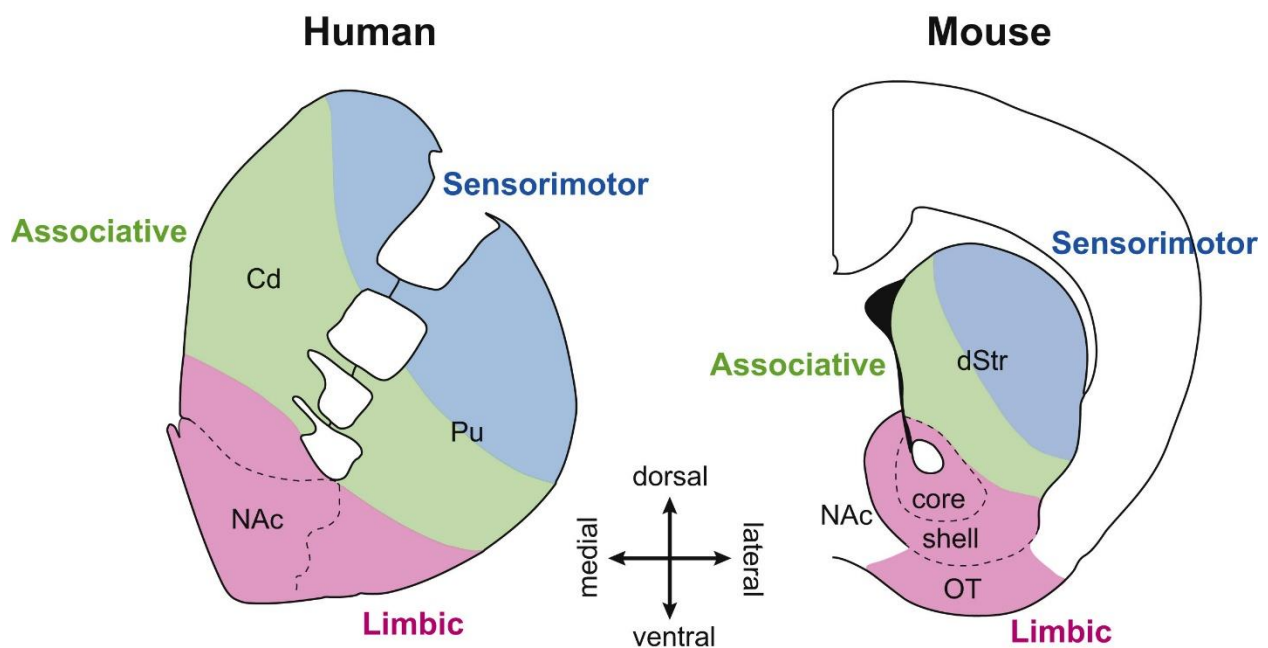


Figure 8 | Les subdivisions fonctionnelles du striatum chez l'homme et la souris

Subdivisions fonctionnelles du striatum chez l'humain et la souris. Le striatum est divisé en régions associatives, sensorimotrices et limbiques, reflétant une organisation fonctionnelle conservée entre les espèces. Ces régions participent à la régulation des fonctions cognitives, motrices et émotionnelles.

© Tirée de (Chuhma, Mingote et al. 2017)

dopaminergique, via leurs neurotransmetteurs respectifs, le DLS présente une activation plus tardive que le DMS au cours de la phase d'apprentissage (Gong, Ni et al. 2020, Cataldi, Stanley et al. 2022). Il joue un rôle clé dans la consolidation de l'apprentissage à long terme, également connue sous le nom de phase lente de l'apprentissage (**Fig. 2**). Pendant cette phase, l'information est progressivement consolidée, ce qui entraîne une progression et une amélioration graduelle de la compétence acquise jusqu'à l'obtention d'une automatisation de la tâche. Des études récentes (Gong, Ni et al. 2020, Cataldi, Stanley et al. 2022) ont également soutenu ces notions en mettant en évidence les rôles distincts du DMS et du DLS dans l'apprentissage moteur. Ces découvertes ont contribué à approfondir notre compréhension des mécanismes cérébraux sous-jacents à l'acquisition et à la consolidation des compétences motrices.

CHAPITRE II : VOIES DE SIGNALISATION CELLULAIRE

2.1 Voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR

D'un point de vue moléculaire, il a été démontré que la phosphorylation de la sérine 473 d'AKT via mTOR complexe 2 (mTORC2) est essentielle à l'activation complète d'AKT. Cette activation spécifique maximise l'activité d'AKT. Après son activation, AKT peut ensuite phosphoryler différentes protéines telles que la glycogène synthase kinase 3 (GSK3) et mTOR complexe 1 (mTORC1) (**Fig. 9**) (Manning and Cantley 2007, Yu and Cui 2016).

Dans la littérature, seules quelques études ont su identifier des voies moléculaires cérébrales impliquées dans l'apprentissage de tâches motrices complexes. Notre laboratoire a démontré que l'inhibition de mTOR dans le STR altère l'apprentissage de nouvelle tâche motrices (Bergeron, Chagniel et al. 2014, Ouimet, Pepin et al. 2019), une découverte récemment confirmée (Chen, Zheng et al. 2019). En outre, nous avons documenté que la délétion génétique générale de AKT3 est associée à des déficits d'apprentissage moteur. Ces protéines sont connues pour jouer des rôles dans l'induction et le maintien de la potentialisation à long terme (LTP) et de la dépression à long terme (LTD) (Kelleher, Govindarajan et al. 2004, Govindarajan, Kelleher et al. 2006, Wang, Zhu et al. 2014).

Nous émettons l'hypothèse que ces protéines agissent comme des nœuds de convergence pour les voies de signalisation impliquées dans la régulation de l'expression génique et la stabilisation de la mémoire à long terme (LTM). En effet, il est possible de trouver des exemples

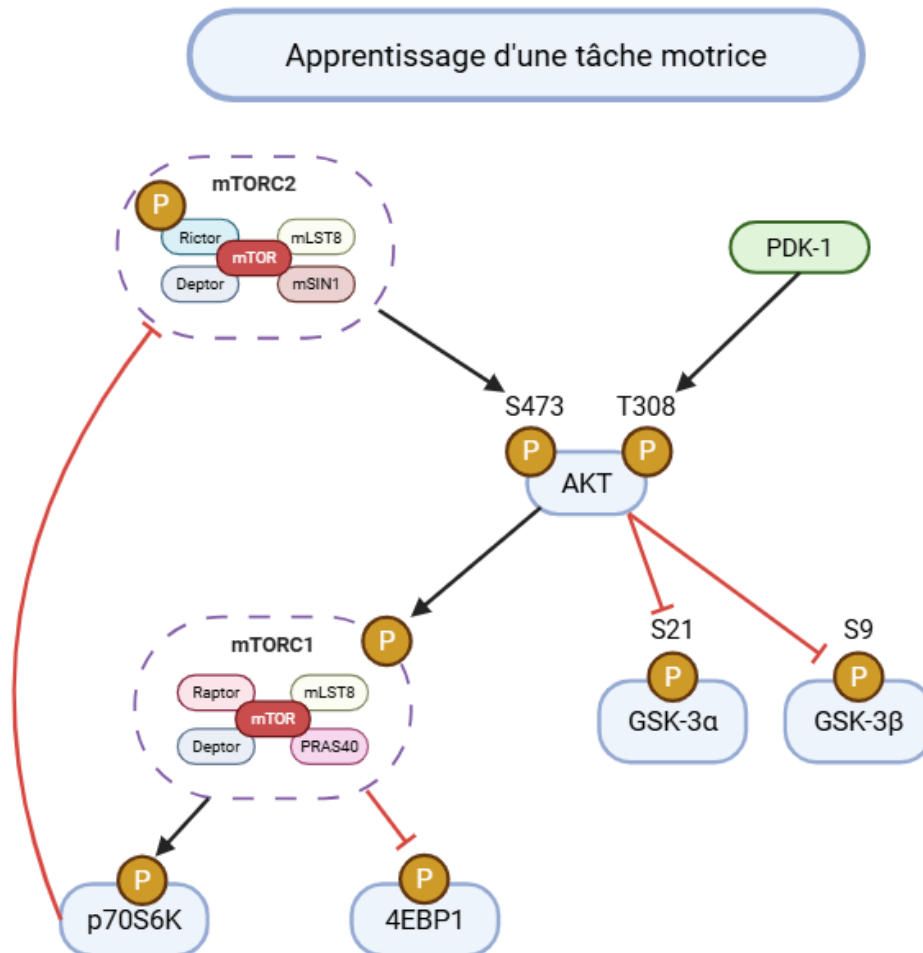


Figure 9 | Schéma de la cascade de signalisation cellulaire de AKT/mTOR et leurs effecteurs principaux par phosphorylation

Signalisation AKT-mTOR au cours de l'apprentissage d'une tâche motrice. L'activation d'AKT par PDK-1 (*phosphoinositide-dependent kinase-1*) sur la tyrosine T308 et par le complexe mTORC2 (incluant Rictor, mSIN1 (*mammalian stress-activated MAP kinase-interacting protein 1*), mLST8 (cible du complexe de rapamycine) et Deptor) sur la sérine S473 déclenche la phosphorylation de multiples cibles : GSK-3 α/β (*glycogen synthase kinase 3 alpha/beta*) sur respectivement les sérines S21 et S9, 4EBP1 (*eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1*) et p70S6K (*ribosomal protein S6 kinase beta-1*), impliqués dans le contrôle de la traduction. mTORC1 (composé de Raptor, mTOR, mLST8, PRAS40 (*prolin-rich AKT substrate of 40 kDa*) et Deptor) est activé en aval d'AKT et régule la synthèse protéique via 4EBP1 et p70S6K. Les flèches noires indiquent des activations, et les traits rouges des inhibitions.

dans la littérature de la communication croisée entre ces protéines à différents niveaux de la signalisation, comme lors de la formation de la LTM hippocampique (Bramham and Wells 2007, Pirbhoy, Farris et al. 2017). Bien que ces découvertes suggèrent que les cascades de signalisation AKT et mTOR sont d'excellents candidats moléculaires sous-jacents à la LTM, leurs rôles dans la gestion de l'activité neuronale et l'encodage de la mémoire dans les neurones du striatum dorsal pendant l'apprentissage de tâches motrices restent inconnus.

2.2 Protéine kinase B (AKT)

AKT est une kinase sérine/thréonine. Elle est considérée comme l'une des kinases effectrices au cœur de la signalisation de la voie AKT/mTOR. Cette protéine kinase se distingue par trois isoformes : AKT1 (PKB α), AKT2 (PKB β) et AKT3 (PKB γ). Le site de liaison de l'adénosine triphosphate (ATP) ainsi que le résidu thréonine se trouvent dans la structure du domaine catalytique d'AKT. Quant au résidu sérine (S473) nécessaire à l'activation d'AKT, il se situe dans la région hydrophobe du domaine régulateur C-terminal de la protéine. Chacun des isoformes d'AKT est respectivement phosphorylé à Thr308/Ser473, Thr309/Ser474 et Thr305/Ser472 (**Fig. 10**) (Elghazi, Balcazar et al. 2006). La phosphorylation à la thréonine via PIP3 permet son recrutement à la membrane plasmique. Par la suite, la deuxième phosphorylation, dite activatrice, est effectuée à la sérine par mTORC2, le complexe Rictor de mTOR (Beaulieu and Gainetdinov 2011). Cependant, bien que les isoformes d'AKT soient extrêmement similaires, elles possèdent chacune des fonctions physiologiques propres (Long, Cheng et al. 2021). AKT1 est abondamment présent dans tous les tissus du corps, jouant un rôle essentiel dans divers processus tels que la croissance cellulaire, la prolifération, l'angiogenèse et l'invasion des cellules cancéreuses (Linnerth-Petrik, Santry et al. 2016). Dans les mammifères, AKT2 est principalement présent dans le tissu adipeux et le muscle squelettique. Il est aussi établi qu'AKT2 participe à la croissance et à

la prolifération des cellules, ainsi qu'à la régulation de l'homéostasie du glucose (Garofalo, Orena et al. 2003). En ce qui concerne AKT3, bien que notre compréhension soit limitée, elle jouerait un rôle crucial dans le développement du cerveau (Ghoneum and Said 2019). La réduction anormale du développement cérébral chez les rongeurs due à la suppression génétique d'AKT3, telle qu'établie dans la littérature, suscite un vif intérêt dans le domaine de la neuroscience (Easton, Cho et al. 2005). Les investigations de notre laboratoire ont d'ailleurs démontré que la délétion génétique d'AKT3 n'exerce pas d'effets discernables sur les fonctions motrices générales chez les rongeurs. Cependant, ces résultats suggèrent une diminution de la capacité d'apprentissage moteur consécutive à cette délétion génétique (Cyr, Allain et al. 2019).

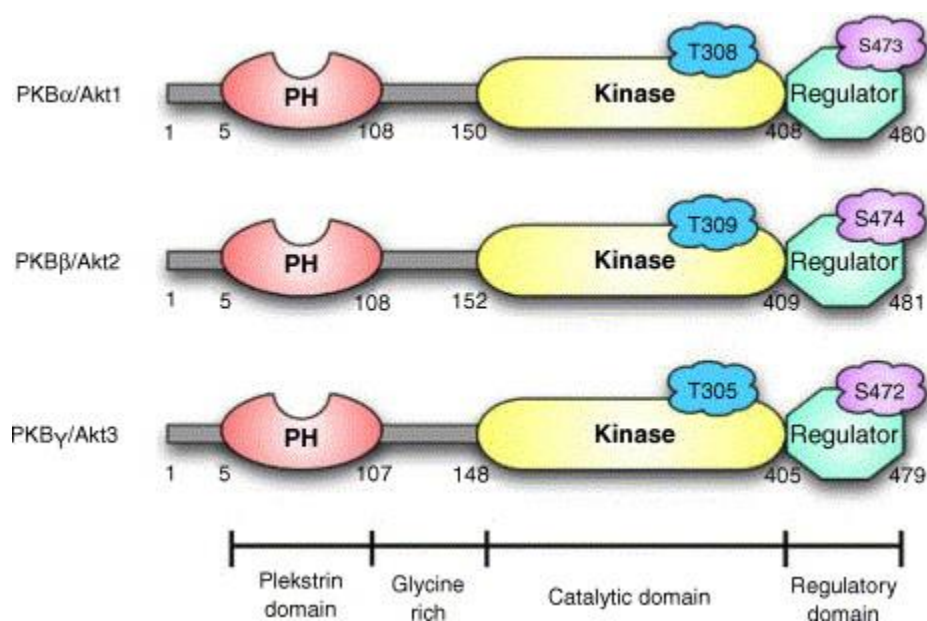


Figure 10 | La structure des trois isoformes d'AKT chez l'humain

Les isoformes possèdent un domaine PH (rouge) en N-terminale avec un domaine catalytique (jaune) au centre suivi d'un domaine régulateur (turquoise) en C-terminale. C'est trois isoformes ont une grande homologie. Il y a une première activation, partielle, lors de la phosphorylation à tyrosine. L'activation complète s'effectue par une deuxième phosphorylation à la sérine.

© Tirée de (Elghazi, Balcazar et al. 2006).

2.2.1 *Inhibition de la voie de signalisation AKT via Ipatasertib (GDC-0068)*

Une méthode privilégiée dans les modèles *in vivo*, pour sa nature moins invasive et rapide, est le traitement pharmacologique. Il existe différentes molécules pharmacologiques pouvant inhiber la voie de signalisation d'AKT. Un des médicaments en phase d'étude pharmacologique avec la plus haute concentration inhibitrice médiane à ce jour est l'Ipatasertib, (GDC-0068). Cette molécule agit en tant qu'inhibiteur compétitif de l'ATP, elle interagit donc avec le site de liaison à l'ATP d'AKT (Blake, Xu et al. 2012, Huang, Chen et al. 2022).

Le mode d'action de la molécule Ipatasertib est tout d'abord d'entrer dans la cellule via les récepteurs tyrosines kinases, tel que les récepteurs HER2 et *epidermal growth factor receptor* (EGFR) (**Fig. 11A**). Cette dernière va ensuite se lier au site de liaison de l'ATP ce qui permet d'inhiber l'activité sérine-thréonine kinase d'AKT. Ainsi, Ipatasertib inhibe les trois isoformes d'AKT de cette manière (**Fig. 11B**). S'en suit une désactivation de la protéine AKT qui ne fournit plus de signal aux sous-protéines de sa voie de signalisation, ce qui empêche toute signalisation sous-jacente (**Fig. 11C**) (Lin, Sampath et al. 2013, Nitulescu, Margina et al. 2016).

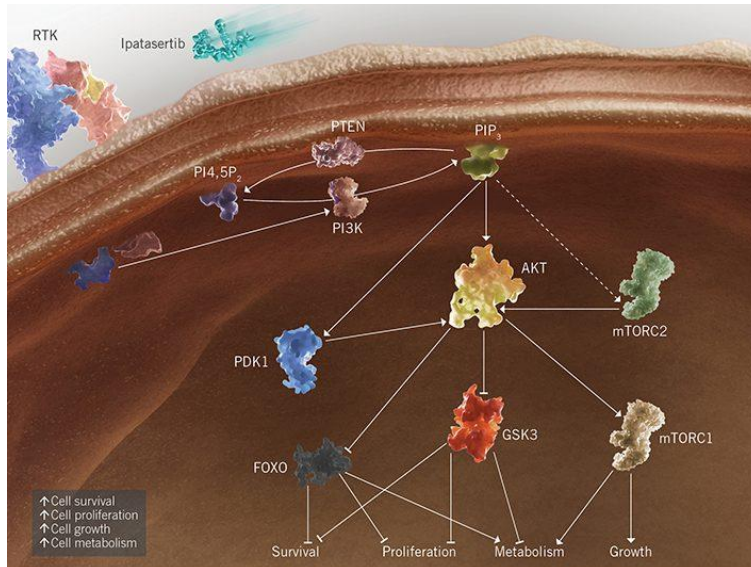
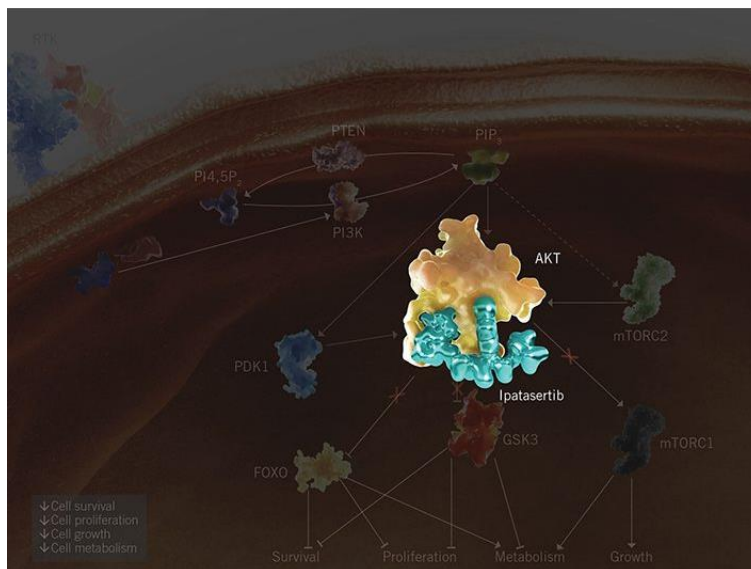
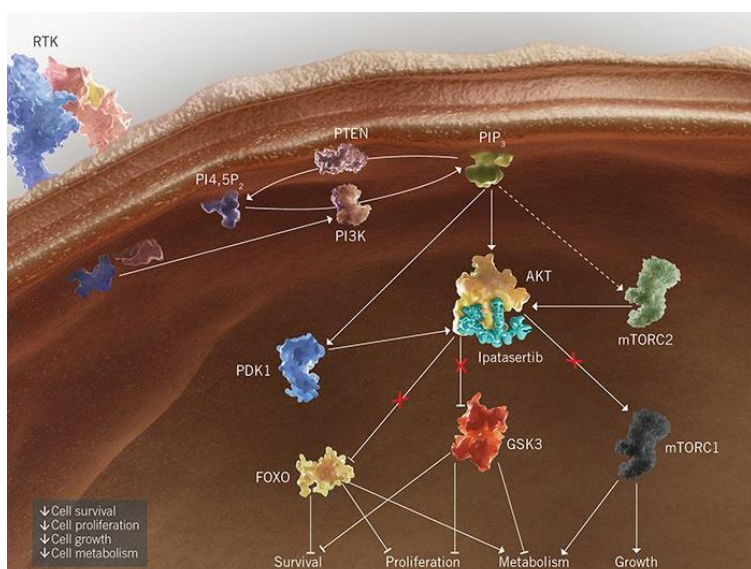
A**B****C**

Figure 11 | Le mode d'action d'Ipatasertib (GDC-0068) sur la voie de signalisation d'AKT

A. Ipatasertib entre dans la cellule via le récepteur tyrosine kinase (RTK). **B.** Ipatasertib se lie au site de liaison de l'ATP d'AKT. **C.** AKT devient inhibé. AKT n'est plus en mesure d'activer sa voie de signalisation par une inhibition de son site de liaison à l'ATP.

© Tiré de Genentech

<https://www.genentechoncology.com/pipelinemolecules/ipatasertib.html>

CHAPITRE III : HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS DE RECHERCHE

La recherche entourant les mécanismes moléculaires sous-jacents à l'apprentissage de tâche motrices complexes n'en est encore qu'à ses débuts. En effet, aucune étude n'a encore été en mesure d'établir l'entièreté des processus moléculaires entourant la mémoire motrice. En revanche, certaines études suggèrent l'implication de mécanismes potentiels associés à l'apprentissage de tâches motrices. Il a été notamment établi que la protéine mTOR jouerait un rôle critique dans le cerveau lors d'un apprentissage moteur chez la souris. L'inhibition de mTOR, au niveau du striatum, provoquerait un ralentissement de l'apprentissage moteur lors de l'apprentissage d'une tâche motrice complexe sur le rotarod accéléré (Bergeron, Chagniel et al. 2014). De plus, nos travaux précédents ont permis de démontrer que bien qu'une inhibition de l'activité de la protéine GSK-3, au niveau du striatum, ne démontrait pas de déficit de l'apprentissage de tâches motrices chez la souris, l'inhibition de la protéine AKT3 était quant à elle associée à un trouble de l'apprentissage (Ouimet, Pepin et al. 2019). En prenant en considération que la signalisation de la famille des protéines kinase B (AKT) est étroitement liée à l'activité des protéines GSK-3 et mTOR, nous mettons de l'avant l'hypothèse qu'AKT serait un point de rencontre important de plusieurs voies de signalisation faisant partie du processus moléculaire de l'apprentissage d'un mouvement complexe. L'objectif principal de ce projet est d'étudier la participation d'AKT au processus moléculaire d'acquisition de la mémoire motrice. Cet objectif est sous-divisé en trois objectifs de recherche distincts qui tenteront de répondre aux questions suivantes.

3.1 Est-ce que les isoformes d'AKT ont la même implication au niveau du processus moléculaire de l'apprentissage d'un mouvement moteur complexe?

Il a déjà été établi que l'activation complète d'AKT, nécessite l'intervention de mTORC2 à sa sérine 473 (Manning and Toker 2017) ce qui permet l'activation de plusieurs cibles moléculaires en aval d'AKT. En prenant en considération que les signalisations de GSK-3 et mTOR soient étroitement liées à la famille AKT et qu'il ait été démontré qu'elles ont une implication dans l'apprentissage moteur, il est intéressant d'investiguer l'implication de chacun des isoformes d'AKT dans les processus moléculaires lors de l'apprentissage d'une nouvelle tâche motrice. AKT1 et AKT2 jouent différents rôles dans la régulation, la prolifération et la croissance cellulaire (Garofalo, Orena et al. 2003, Linnerth-Petrik, Santry et al. 2016). Cependant, leurs rôles potentiels dans l'apprentissage moteur n'ont jamais été étudiés directement. Bien que notre compréhension d'AKT3 soit limitée, des études ont été en mesure de démontrer que la quantité de protéines AKT3 dans le cerveau est plus élevée que celle des protéines AKT1 et AKT2, et que les souris AKT3-KO adultes ont un cerveau plus petit que les souris sauvages (Ghoneum and Said 2019). Cependant, le rôle spécifique de chaque isoforme d'AKT n'a pas pu être déterminé. De plus, des mécanismes de compensation associés à la perte d'AKT3 durant le développement de la souris n'ont pas pu être vérifiés.

Afin de déterminer l'implication de chacun des isoformes d'AKT au niveau du striatum dans l'apprentissage moteur, nous proposons d'évaluer la quantité de protéines totales et phosphorylées de chaque isoforme dans différentes régions du cerveau lors de l'apprentissage moteur à l'aide de la technique d'analyse Western Blot.

3.2 Est-ce que l'inhibition d'AKT par un traitement pharmacologique (Ipatasertib (GDC-0068)) affecte l'apprentissage moteur?

La molécule Ipatasertib (GDC-0068), bien qu'encore en phase d'évaluation clinique, est bien connu pour aider à la régression de tumeur grâce à son inhibition de la protéine AKT et de ses isoformes (Ippen, Grosch et al. 2019). Comme mentionné dans le chapitre II, cette molécule agit comme inhibiteur compétitif en se logeant dans le site de liaison de l'ATP d'AKT. AKT devient alors inactif grâce à cette liaison avec le site de liaison de l'ATP. Les voies de signalisation des cibles en aval sont donc interrompues empêchant le processus cellulaire de se poursuivre. Nous savons qu'à une dose de 100 mg/kg, Ipatasertib traverse efficacement la barrière hémato-encéphalique et favorise la réduction de xénogreffe chez les souris (Ippen, Grosch et al. 2019). De plus, à ce jour, il s'agit de la molécule pharmacologique ayant la plus haute concentration inhibitrice médiane, ce qui en fait une molécule de choix pour vérifier son effet inhibiteur sur l'acquisition des compétences motrices de la souris (Blake, Xu et al. 2012, Huang, Chen et al. 2022). Cette molécule n'a jamais été utilisée pour vérifier directement la mémorisation de nouvelle tâche motrice, mais du moins aucun symptôme au niveau de la capacité motrice, de l'équilibre ou de l'exécution de mouvement n'a été rapporté dans la littérature (Ippen, Grosch et al. 2019).

Afin d'établir si l'inhibition d'AKT affecte l'apprentissage moteur, nous proposons de vérifier l'efficacité inhibitrice du traitement pharmacologique avec Ipatasertib via la cible en aval d'AKT, GSK-3 $\alpha\beta$ dans différentes régions du cerveau. Pour ce faire, nous allons traiter les souris pour une durée de cinq et 14 jours consécutifs à une dose de 100 mg/kg p.o. une fois par jour. Les souris apprendront ensuite la tâche motrice et nous serons en mesure d'observer s'il y a des difficultés d'apprentissage moteur entre les souris traitées à l'Ipatasertib et les souris témoins.

3.3 Est-ce que l'inhibition de la voie de signalisation d'AKT par Ipatasertib (GDC-0068) a un impact sur l'exécution, la coordination et la capacité motrice des souris?

Il est intéressant de vérifier l'effet du traitement pharmacologique sur les capacités motrices générales de l'individu pour être en mesure d'établir si l'inhibition d'AKT n'affecte que le paramètre de mémorisation. En considérant que nos tests concernant la mémorisation sont moteurs, il est intéressant de vérifier les aspects qui caractérisent un mouvement moteur tel que l'exécution, la coordination et la capacité motrice. Dans les études d'Ipatasertib pour sur l'animal, les effets secondaires, notamment ceux qui concernent la mémoire ou la capacité d'exécution motrice, n'y sont pas mentionnés (Ippen, Grosch et al. 2019, Buckingham, Hao et al. 2022).

Dans ce troisième objectif, nous allons traiter de manière chronique avec Ipatasertib les souris et effectuer des tests moteurs. Ces tests vont nous permettre d'observer tout trouble moteur présent lors du traitement pouvant influencer l'apprentissage moteur complexe. Nous serons alors en mesure de mieux analyser nos résultats finaux en discernant efficacement l'exécution motrice de la mémorisation d'un apprentissage moteur grâce à ces tests.

CHAPITRE IV : MÉTHODOLOGIE

4.1 Animaux

Cette étude a été effectuée en concordance avec les recommandations et exigences du Comité institutionnel de protection et d'utilisation des animaux de l'Université du Québec à Trois-Rivières conformément au Conseil canadien de protection des animaux. Des souris mâle C57Bl/6 (Charles River Laboratories, QC, CAN), âgées de 8 à 12 semaines, étaient hébergées individuellement dans des cages avec de la nourriture et de l'eau ad libitum. Lors de l'exécution des protocoles, tous les individus ont été soumis aux mêmes manipulations, type d'hébergement et environnement. Les souris avaient un cycle de 14 h lumière / 10 h d'obscurité à 22°C avec un taux d'humidité situé entre 35 % et 50 %.

4.2 Tests moteurs

4.2.1 Rotarod accéléré

Les souris ont été entraînées au Rotarod (AccuScan Instruments, Columbus, OH, USA) accéléré (**Fig. 12**), composé d'une tige rotative passant de 4 à 40 rotations par minute (RPM) en 300 secondes, à raison de 10 essais par jour sur une période allant jusqu'à 8 jours. L'essai s'arrête lorsque la souris tombe du Rotarod ou atteint les 300 secondes. Les temps sont enregistrés. Elles courent aux jours 1, 2, 3 et 8. L'ensemble a été effectué tel que décrit par Bergeron *et al.*, 2014 (Bergeron, Chagniel et al. 2014), cette technique a été utilisée à maintes reprises dans notre laboratoire (Bureau, Carrier et al. 2010, Chagniel, Robitaille et al. 2012, Bergeron, Chagniel et al.

2014, Chagniel, Bergeron et al. 2014, Ouimet, Pepin et al. 2019). Un temps d'adaptation à la salle de 30 minutes a été accordé avant le début de chaque expérimentation. Entre chaque essai, les individus ont disposé d'un temps de repos de 300 secondes. Ce test moteur permet aux souris d'établir une modification de leur patron de marche leur permettant ainsi de bonifier leur performance indépendamment de leur capacité motrice ou de leur condition physique (Buitrago, Schulz et al. 2004, Schaar, Brenneman et al. 2010, Shiotsuki, Yoshimi et al. 2010).



Figure 12 | Rotarod

© Tirée du site <https://omnitech-usa.com/product/accurotor-ezrod/>

4.2.2 Rotarod constant

Les souris ont été entraînées au Rotarod (AccuScan Instruments, Columbus, OH, USA). Le test consiste à faire tourner la tige à une vitesse constante de 10, 20, 30 ou 40 RPM pendant un maximum de 150 secondes. Ce test est effectué lors du traitement chronique à l'Ipatasertib tel que décrit à la *section 4.5.5*. Les souris sont pré-entraînées à raison de trois fois par vitesse et ensuite, dans la même journée, elles effectuent six essais sur chacune des vitesses précédemment décrites. L'essai est terminé lorsque la souris tombe du Rotarod ou atteint les 150 secondes. Les temps sont enregistrés. Un temps de repos de 180 secondes est alloué entre chaque essai.

4.2.3 « *Wire suspension test* »

Le « *wire suspension test* » est un test de coordination et de force motrice (**Fig. 13**) (Schaar, Brenneman et al. 2010). Il consiste à suspendre la souris par ses pattes avant au milieu d'un fil de 80 cm situé à une hauteur de 25 cm. À chaque extrémité du fil se trouvent deux plateformes. Le temps nécessaire pour de rendre à l'une ou l'autre des deux plateformes est enregistré. Nous allouons un temps maximal de 120 secondes. Les souris sont d'abord entraînées pour apprendre à effectuer le test à trois reprises. Par la suite, dans la même journée, nous faisons cinq essais consécutifs pour établir la valeur moyenne.

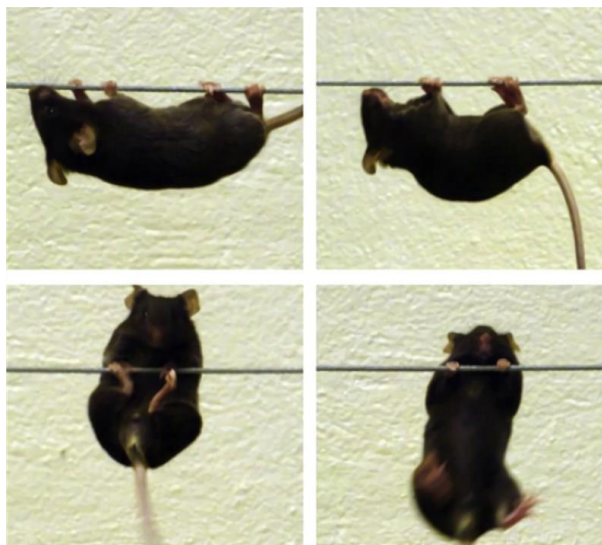


Figure 13 | Wire suspension test

© Tirée de (Dorchies, Reutenauer-Patte et al. 2013)

4.2.4 « *Pole test* »

Le « *pole test* » est un test comportemental servant à évaluer la fonction locomotrice et les troubles associés aux ganglions de la base chez la souris tel que la bradykinésie (**Fig. 14**) (Ogawa, Hirose et al. 1985, Matsuura, Kabuto et al. 1997, Bouet, Freret et al. 2007). Ce test consiste à placer

l'individu, tête orientée vers le haut, sur la partie supérieure de la pole (longueur : 50 cm, diamètre : 1,5 cm). Le temps nécessaire pour s'orienter vers le bas et descendre jusqu'à la base de la tige est enregistré. Un temps maximum de 120 secondes est alloué aux individus pour effectuer le test. Les souris sont pré-entraînées à trois reprises. La journée même, nous effectuons cinq essais pour établir la valeur moyenne.

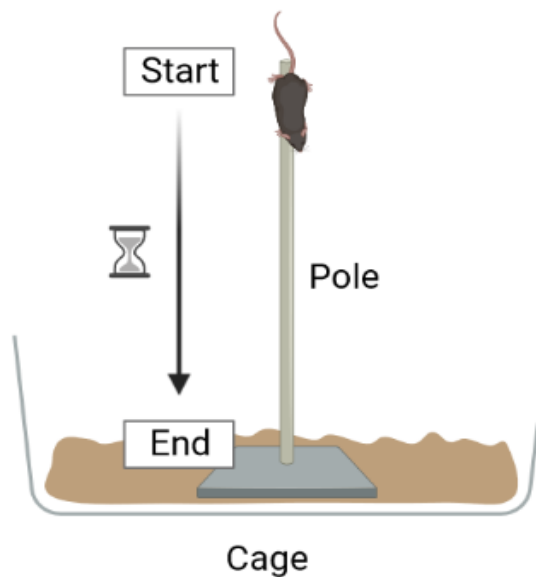


Figure 14 | Pole test

© Biorender

4.3 Analyse biochimique

4.3.1 Échantillons

Les souris ont été anesthésiées par inhalation à l'isofluorane 5% jusqu'à l'absence de réflexes. Pour assurer la mort de l'individu, une décapitation a été pratiquée selon la procédure normalisée de fonctionnement du Comité de bons soins aux animaux de l'Université du Québec à Trois-Rivières. Les cerveaux des souris, une heure post-test moteur, ont été extraits de la boîte crânienne à l'aide d'outils chirurgicaux puis ont été retirés et disséqués sur glace avec scalpel et pince. Nous avons conservé le striatum dorsal, l'hippocampe, le cervelet et le cortex frontal. Les tissus sont ensuite congelés rapidement à l'aide de la glace sèche dans un eppendorf puis conservés au -80°C jusqu'aux analyses biochimiques.

Les tissus ont ensuite été homogénéisés dans un tampon de lyse de radio-immunoprécipitation (RIPA) contenant le cocktail d'inhibiteurs de protéases (complete™, Roche, Indianapolis, IN, USA) et de phosphatases (PhosSTOP™, Roche, Indianapolis, IN, USA) pour un ratio de 30 µL de RIPA pour 1 mg de tissus. L'homogénéisation a été effectuée à l'aide d'un

homogénéisateur en verre de 2 mL avec un embout en téflon pendant 30 secondes avec des mouvements de va-et-vient continu sur glace. L'homogénat a ensuite été incubé à 4°C pendant 25 minutes en vortexant à quelques reprises. Les échantillons ont été par la suite soniqué à l'aide d'un sonicateur (Sonic Dismembrator, model FB120, Fisher Scientific, PA, USA) à une amplitude de 25% pendant une minute à des intervalles *on* et *off* de 2 secondes sur glace, pour éviter l'accumulation de chaleur provoquée par le sonicateur. L'ensemble a été suivi d'une centrifugation à 12 000 RPM à 4°C pendant 10 minutes (Heraeus Biofuge Fresco, Germany). Le surnageant est récupéré et le culot est remis en suspension dans 100 µL de RIPA buffer. Cet homogénat est centrifugé à 12 000 RPM à 4°C pendant 10 minutes et son surnageant est récupéré et ajouté au premier surnageant de l'homogénat. Le dosage de protéines est effectué à l'aide de la méthode de Bradford (DC Protein Assay, Bio-Rad, CA, USA) par spectrophotométrie (Synergy H1 Hybrid Multi-Mode Reader, Biotek, CA, USA).

4.3.2 Western Blot

Une électrophorèse sur gel SDS-PAGE 10-20%, composée à 75% avec une concentration de 10% et à 25% avec une concentration de 20%, d'une épaisseur de 1,5 mm, a été effectuée avec un chargement de 10 µg de protéine, en provenance des échantillons homogénéisés puis dénaturés pendant 5 minutes à 95°, par puits. Chaque échantillon a été analysé en triplicata. La migration a été effectuée à 90 V pendant 15 minutes puis complétée à 180 V pendant environ 1 h ou jusqu'à ce que la bande de poids moléculaire atteigne le rebord du gel. Cette procédure nous a permis d'isoler les protéines d'intérêts soit, AKT1, AKT2, AKT3, GSK-3 α , GSK-3 β , GAPDH ainsi que leurs formes phosphorylées respectives (à l'exception de GAPDH). Le transfert a ensuite été effectué à 400 mA pendant 1h30 en plaçant la cuve de transfert sur glace. Les protéines ont été transférées sur une membrane de nitrocellulose de 0,45 µm. Les membranes ont été par la suite bloquées à

l'aide d'une solution de TBS-Tween et 5% de sérum d'albumine bovine (BSA) pendant 1 heure à température pièce. Ce blocage prévient des liaisons non spécifiques avec les anticorps. Les membranes ont été nettoyées avec du TBS-Tween trois fois pendant 5 minutes avant d'être incubées avec les anticorps primaires respectifs toute la nuit à 4°C. Le **tableau 1** présente les différents anticorps primaires ainsi que leurs dilutions dans du TBS-Tween + 1 % BSA. Les membranes ont été nettoyées de la même façon que décrit précédemment. Les membranes sont incubées avec l'anticorps secondaire anti-rabbit IgG, HRP-linked antibody (1:10 000, Cell signaling technology, Beverly, MA, USA). Des réactions de chimiluminescence ont été utilisées pour visualiser les bandes de protéines à l'aide des réactifs *Supersignal West Femto Maximum Sensitivity Substrate* et *SuperSignal West Pico PLUS chemiluminescent Substrate* (ThermoFisher Scientific, USA). Les analyses densitométriques ont été effectuées grâce au Vision work LS software (UVP Bioimaging, Upland, CA, USA).

Tableau 1 | Liste des anticorps primaires employés pour la technique de Western Blot

Anticorps primaire	Fournisseur et # catalogue	Phosphorylation ciblée	Dilution	Réactif chemiluminescence
<i>Rabbit</i> mAb AKT1	Cell signaling, # 75692	-	1 : 10 000	Femto
<i>Rabbit</i> mAb AKT2	Abcam, # ab131168	-	1 : 10 000	Pico
<i>Rabbit</i> mAb AKT3	Cell signaling, # 14982	-	1 : 10 000	Pico
<i>Rabbit</i> mAb phospho-AKT	Cell signaling, # 4060	Sérines 472, 473 et 474	1 : 10 000	Femto
<i>Rabbit</i> mAb GSK-3 α	Cell signaling, # 4337	-	1 : 20 000	Pico
<i>Rabbit</i> mAb GSK-3 β	Cell signaling, #12456	-	1 : 100 000	Pico
<i>Rabbit</i> mAb phospho-GSK-3 α/β	Cell signaling, # 8566	Sérines 21 et 9	1 : 50 000	Femto
<i>Rabbit</i> GAPDH (HRP conjugate)	Abcam, # ab9482	-	1 : 10 000	Pico

4.4 Traitement pharmacologique

Les souris ont été traitées avec de l'Ipatasertib (GDC-0068, MCE MedChemExpress, NJ, USA), ou le véhicule pour les souris contrôles, à une dose de 100 mg/kg per os DIE pendant toute la durée de l'expérience. L'Ipatasertib a été solubilisé dans le véhicule constitué de 0,5% méthylcellulose et 0,2% Tween 80 dans de l'eau stérile et ajustée à un pH de 7,0. Le tout basé sur une expérience précédente démontrant que le traitement traverse la barrière hématoencéphalique de souris xénogreffées et inhibe les isoformes d'AKT, la protéine à l'étude (Ippen, Grosch et al. 2019). Ce traitement a été effectué sur les différents groupes expérimentaux décrit à la *section 4.5*.

4.5 Description des groupes expérimentaux

Nous avons réparti notre étude en six groupes distincts de souris C57Bl/6. Tous les groupes ont été soumis aux mêmes conditions expérimentales de températures, de taux d'humidité, de rythme circadien et de temps d'adaptation à leur environnement.

4.5.1 Rotarod accéléré sans traitement pharmacologique

Le premier groupe de souris, composé de 20 souris, (**Fig. 15A**) permet d'établir le schéma d'apprentissage moteur sur le Rotarod accéléré. Le fonctionnement du test du Rotarod accéléré est décrit à la *section 4.2.1*. Ce groupe divisé en cinq sous-groupes de quatre souris correspondants respectivement à chaque journée d'apprentissage, jour 1, 2, 3, 4 et 8, et un groupe témoin. Les cinq sous-groupes des jours 1, 2, 3, 4 et 8 ont été sacrifiés une heure après l'entraînement au rotarod accéléré. Nous avons prélevé le striatum, l'hippocampe, le cervelet et le cortex pour ensuite effectuer des analyses biochimiques de type Western Blot avec les anticorps associés à AKT et ses isoformes ainsi que leurs formes phosphorylées.

4.5.2 *Traitement chronique à l'Ipatasertib pour les analyses biochimiques de type Western-Blot*

La deuxième cohorte de souris (**Fig. 15B**) permet de tester l'efficacité d'inhibition d'AKT via le traitement pharmacologique avec Ipatasertib. Un groupe contrôle, composé de quatre souris, est administré avec le véhicule, celui-ci étant composé de 0,5% méthylcellulose et 0,2% Tween 80 dans de l'eau stérile, pendant 14 jours. Un deuxième groupe composé de quatre souris reçoit une dose de 100 mg/kg p.o. d'Ipatasertib une fois par jour pendant cinq jours et le troisième groupe, une dose de 100 mg/kg p.o. d'Ipatasertib une fois par jour pendant 14 jours. Les souris sont ensuite sacrifiées et le striatum, l'hippocampe, le cortex et le cervelet sont prélevés et analysés à l'aide d'analyse biochimique Western Blot, *section 4.3.2*, avec les anticorps associés à GSK-3 α/β , totaux et phosphorylés.

4.5.3 *Traitement chronique à l'Ipatasertib lors de l'apprentissage du Rotarod accéléré*

La troisième cohorte (**Fig. 15C**) de souris, composé de quatre souris pour le groupe contrôle et de quatre souris pour le groupe de souris traitées, a appris le Rotarod accéléré pendant trois jours sans recevoir aucun traitement. Ensuite, le groupe de souris traitées à l'Ipatasertib a reçu une dose de 100 mg/kg p.o. une fois par jour et le groupe contrôle a reçu le véhicule p.o. pendant cinq jours avant d'effectuer la quatrième série d'entraînement au jour 8. La dernière dose a été administrée une heure avant d'effectuer le Rotarod accéléré. Les temps ont été enregistrés. Les spécificités du test du Rotarod accéléré sont décrites à la *section 4.2.1*.

4.5.4 *Traitement chronique à l'Ipatasertib lors du pole et wire suspension test*

La quatrième cohorte (**Fig. 15D**) est utilisée aux fins de tests de capacité motrice reliée au *pole test* et *wire suspension test*. La cohorte effectuera ces tests tel que décrit à la *section 4.2.3 et 4.2.4*. Les souris ont été divisé en deux groupes de six souris pour un total de 12 souris. Le premier groupe est traité à l'Ipatasertib à une dose de 100 mg/kg p.o. une fois par jour et le deuxième groupe

est traité avec le véhicule. Les deux groupes ont été traités pendant cinq jours avec soit l'Ipatasertib, soit le véhicule, avant de passer les tests de fonctions motrices. La dernière dose a été administrée une heure avant d'effectuer les tests moteurs. Les temps sont enregistrés.

4.5.5 Traitement chronique à l'Ipatasertib lors du Rotarod constant

La cinquième cohorte (**Fig. 15E**) est composée d'un groupe de six souris traitées à l'Ipatasertib à une dose de 100 mg/kg p.o. une fois par jour et d'un groupe de six souris contrôles traitées avec le véhicule. Les deux groupes de souris subissent un traitement pendant cinq jours avant d'effectuer le test du Rotarod constant. La dernière dose est administrée une heure avant d'effectuer le Rotarod constant. Les tests sont décrits à la *section 4.2.2*.

4.5.6 Traitement chronique à l'Ipatasertib lors de l'apprentissage du Rotarod accéléré

La sixième cohorte (**Fig. 15F**) est composée d'un groupe de quatre souris traitées à l'Ipatasertib à une dose de 100 mg/kg p.o. une fois par jour et d'un groupe de quatre souris traitées avec le véhicule. Les deux groupes reçoivent leurs traitements respectifs pendant cinq jours avant d'effectuer le test du Rotarod accéléré. Par la suite, les traitements sont administrés une heure avant chaque série de test. Les souris sont alors entraînées comme indiqué à la *section 4.2.1*. Les temps sur le rotarod accéléré sont enregistrés pour chaque individu.

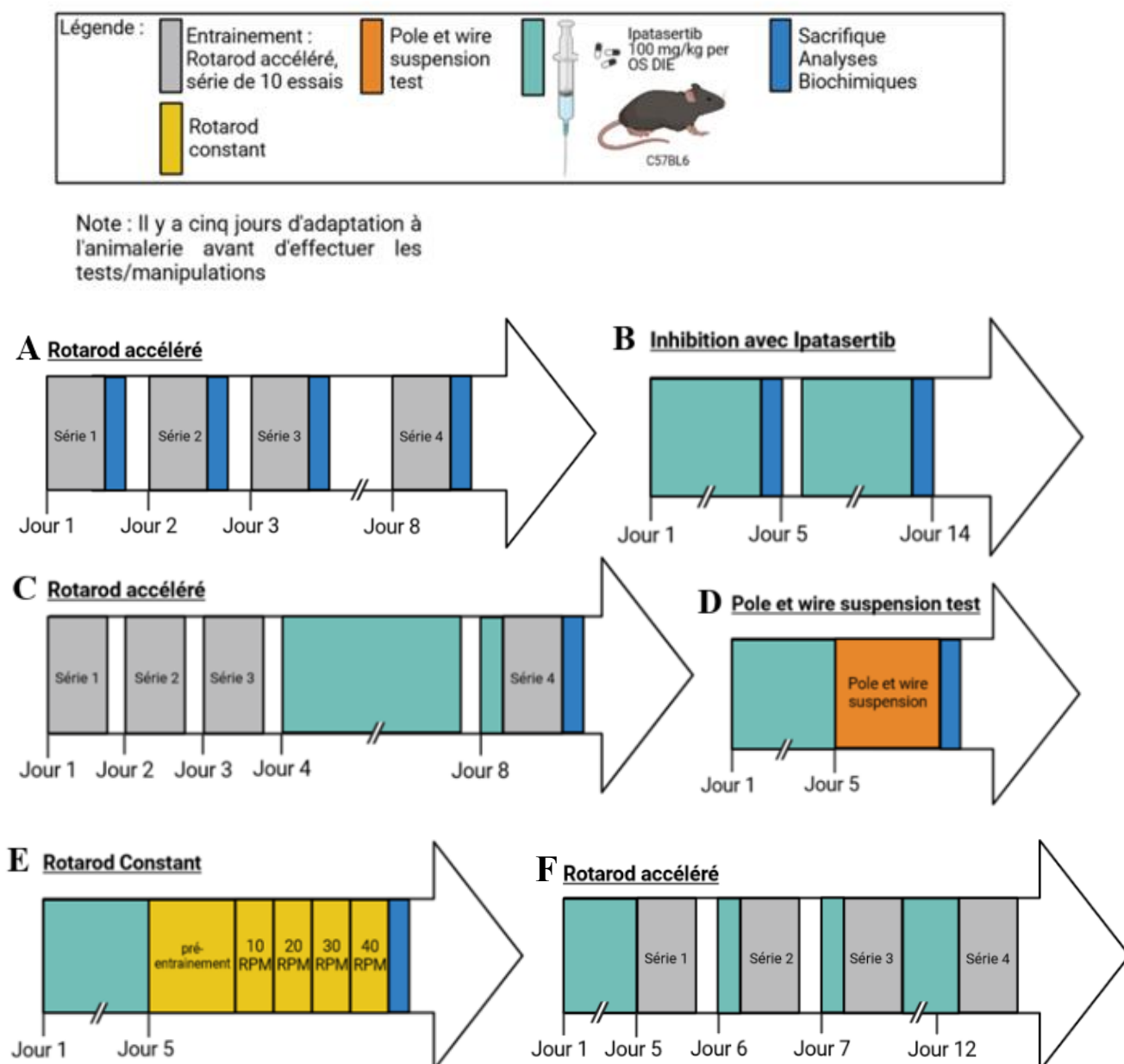


Figure 15 | Lignes du temps des expériences

Ligne du temps pour chaque expérience effectuée sur les souris C57BL6 selon les traitements et les tests. **A.** Rotarod accéléré sans traitement pharmacologique ($n = 4$ souris/série). **B.** Traitement chronique via Ipatasertib ou son véhicule ($n = 4$ souris/groupe). **C.** Rotarod accéléré avec traitement chronique (Ipatasertib ou véhicule) cinq jour pré-test jour 8 ($n = 4$ souris/groupe). **D.** Pole et wire suspension test avec traitement chronique (Ipatasertib ou véhicule) de cinq jours pré-test ($n = 6$ souris/groupe). **E.** Rotarod constant avec traitement chronique (Ipatasertib ou véhicule) pendant cinq jours pré-test ($n = 6$ souris/groupe). **F.** Rotarod accéléré avec traitement chronique (Ipatasertib ou véhicule) pendant cinq jours pré-test suivi de traitement une heure pré-test ($n = 4$ souris/groupe).

4.6 Tests statistiques

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel GraphPad Prism (version 9.4.1, Graph Pad Software, San Diego, CA, USA) pour réaliser des analyses de variance de type *one-way* ANOVA, *two-way* ANOVA, test de Student, test de Freidman, Test de Kolmogorov Smirnov avec des tests de comparaisons multiples de *post-hoc* *Tukey*, *Dunn* et *Šídák*. Les données ont été rapportées sur leur moyenne \pm SEM et la différence statistique significative est établie à $P < 0.05$.

CHAPITRE V : RÉSULTATS

5.1 Visualisation des différentes phases d'apprentissage moteur sur le Rotarod accéléré

La figure 16 présente les résultats du Rotarod accéléré de la première série d'expérimentation. Puisque 4 souris par jour d'entraînement étaient sacrifiées, le jour 1 comprend 16 souris, le jour 2 comprend 12 souris, le jour 3 comprends 8 souris et le jour 4 comprend 4 souris. Le patron d'apprentissage révélé dans cette figure est en tout point cohérent avec nos résultats précédents (Bureau, Carrier et al. 2010, Chagniel, Bergeron et al. 2014). Le premier jour d'entraînement présente une augmentation rapide des performances au cours des 10 essais. Au deuxième et troisième jours d'entraînement, les souris améliorent encore leur performance mais moins rapidement et ces dernières atteignent rapidement un plateau à la fin de la troisième journée

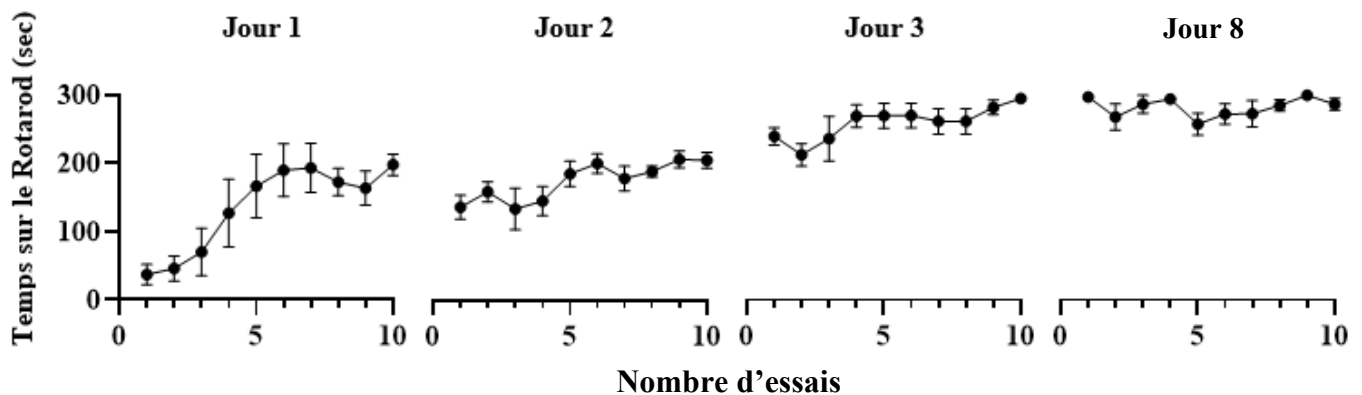


Figure 16 | Rotarod accéléré

Latence à tomber sur le rotarod accéléré, le temps est enregistré jusqu'à ce que la souris tombe ou atteigne 300 secondes sur le rotarod accéléré. Le rotarod passe de 0 à 40 RPM en 300 secondes. Au jour 1 n= 16 souris, au jour 2 n= 12 souris, au jour 3 n= 8 souris et au jour 4 n= 4 souris

d'entraînement (Luft and Buitrago 2005). Au jour 8, on remarque que les performances atteignent un plateau ce qui suggère que la tâche est entièrement apprise et exécutée aisément au maximum que nous avons fixé, qui est de tenir 300 secondes au test du rotarod accéléré.

5.2 Impact de l'apprentissage moteur du Rotarod accéléré sur l'activation des isoformes d'AKT

Afin d'étudier la possibilité qu'un apprentissage moteur induise des changements au niveau de la quantité d'AKT au cerveau, nous avons évalué les niveaux totaux et phosphorylés d'AKT1, AKT2 et AKT3. Les niveaux de protéines ont été évalués à partir de tissus du striatum des souris aux des jours 1, 2, 3 et 8 d'entraînement à l'aide de la technique de Western blots. Afin de mesurer la forme phosphorylée d'AKT, nous avons utilisé un anticorps qui reconnaît chacune des protéines AKT1, AKT2 et AKT3 dont la sérine 473, 474 et 472, respectivement, était phosphorylée. À l'aide d'un gel de SDS-PAGE 10-20% décrit à la section 4.3.2, nous sommes en mesure de distinguer chaque isoforme en fonction de leurs poids moléculaires respectifs (p-AKT1 = 62 kDa, p-AKT2 = 61 kDa et p-AKT3 = 60 kDa). La figure 17 représente les taux de p-AKT/AKT total exprimés en pourcentage de contrôle en fonction du nombre de jours d'entraînement. L'utilisation de GAPDH a permis de faire un contrôle de chargement des protéines et ainsi d'effectuer une normalisation des données pour pouvoir faire les analyses statistiques.

La **fig. 17A** présente les niveaux de la forme phosphorylée AKT1. Les niveaux totaux d'AKT1 ne varient pas en fonction de l'apprentissage. Un *one-way* ANOVA suivi d'un test de Tukey post hoc a été effectué pour évaluer AKT1. Nos résultats ne démontrent pas de différence statistiquement significative entre les valeurs moyennes de chaque journée d'entraînement et celles des souris contrôles ($p = 0,2908$). Ensuite, la **fig. 17B** représente le taux de phosphorylation pour l'isoforme AKT2. Les niveaux totaux d'AKT2 ne varient pas en fonction de l'apprentissage. Un

one-way ANOVA suivi d'un test de Tukey post hoc a été effectué pour évaluer AKT2. Nos résultats démontrent une différence statistiquement significative entre le contrôle et le jour 2 ($p = 0,0204$) avec une différence de 13,67%, entre le jour 1 et le jour 2 ($p = 0,0395$) avec une différence de 19,99%, entre le jour 1 et le jour 3 ($p = 0,0068$) avec une différence de 18,38%, et entre le jour 2 et le jour 8 ($p = 0,0164$) avec une différence de 15,90%. D'autre part, la fig. 17C représente le taux de phosphorylation pour l'isoforme AKT3. Les niveaux totaux d'AKT3 ne varient pas en fonction de l'apprentissage. Un *one-way* ANOVA of Friedman suivi d'un test de comparaisons multiples a été effectué pour évaluer AKT3 vu la distribution non-normale des données qui impose donc un test non paramétrique. Nous observons une augmentation statistiquement significative entre le contrôle et le jour 3 ($p = 0,0442$) avec une différence de 10,40% et entre le contrôle et le jour 8 ($p = 0,0037$) avec une différence de 10,80%.

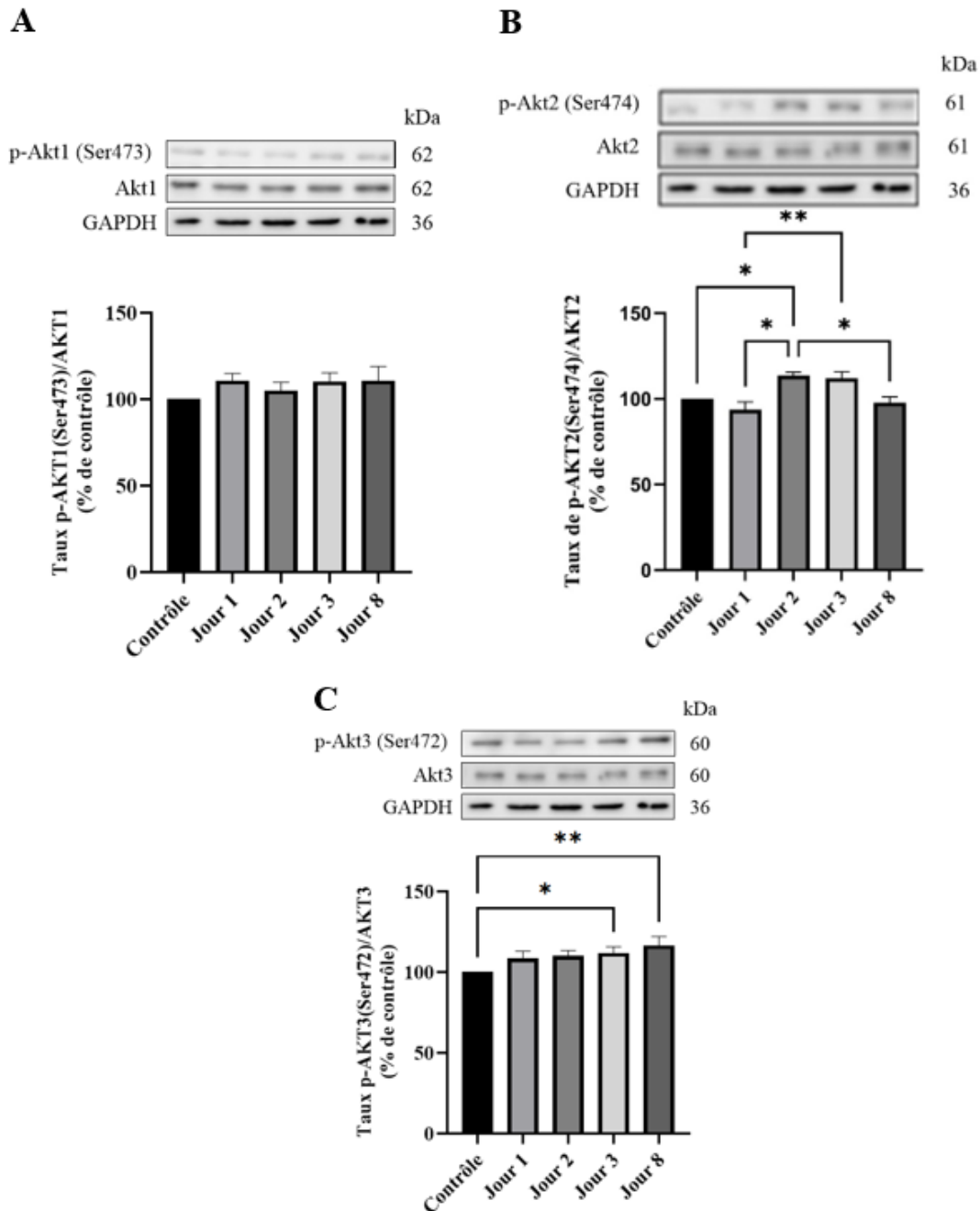


Figure 17 | Niveaux striataux de p-AKT1, p-AKT2 et p-AKT3 lors de l'apprentissage moteur sur le Rotarod accéléré

Les niveaux striataux de p-AKT1, p-AKT2 et p-AKT3 sont exprimés par rapport à, respectivement, AKT1, AKT2 et AKT3 total. Les niveaux de la protéine GAPDH sont utilisés pour visualiser le contrôle du chargement des protéines. Les données sont exprimées en pourcentage des valeurs de contrôle et présentées sous forme de moyenne \pm S.E.M. $n = 4$ souris/jour. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs contrôle. Les valeurs proviennent d'expériences en triplicata/animal. L'analyse statistique a été effectuée par *one-way ANOVA* suivie du *post-hoc Tukey*.

5.3 Effet de l'administration d'Ipatasertib (GDC-0068) sur GSK-3 α / β , une cible moléculaire d'AKT, au niveau du cerveau chez la souris

Pour valider l'inhibition d'Ipatasertib (100 mg/kg DIE) sur l'activité d'AKT, nous avons évalué par western blot les niveaux des protéines GSK-3 α phosphorylées à la sérine 21 et GSK-3 β phosphorylées à la sérine 9 ainsi que leurs niveaux totaux, dans le striatum, l'hippocampe, le cortex antérieur et le cervelet des souris traitées (**Fig. 18 et 19**).

Il est intéressant de noter que dans chaque région étudiée, les niveaux totaux de GSK-3 α et GSK-3 β ne varient pas en fonction du temps de traitement. Cependant, lorsque les données sont analysées par les tests *one-way ANOVA* et *post-hoc Tukey*, nous avons observé une baisse statistiquement significative de 34% ($p = 0,0283$) des niveaux de GSK-3 α phosphorylée du striatum, au jour 14. Au niveau de l'hippocampe, nous avons noté une baisse statistiquement significative de 30 % ($p = 0,0012$) au jour 5 et de 43 % ($p = 0,0235$) au jour 14 après le début du traitement. Quant au cortex, une diminution de la quantité de GSK-3 α phosphorylée de 14% ($p = 0,0204$) est observée après 14 jours de traitement. Nous avons aussi observé un effet intéressant au niveau du cervelet. Dans cette région du cerveau, nous avons obtenu une diminution de 23% ($p = 0,0169$) du taux de phosphorylation de GSK-3 α . Ces résultats nous ont permis de démontrer l'efficacité de l'Ipatasertib à traverser la barrière hématoencéphalique via une administration orale avec un taux d'inhibition de GSK3 α variant de 14 à 43% dépendamment de la région observée. En ce qui a trait à GSK-3 β phosphorylée, à l'aide des tests *one-way ANOVA* et *Tukey post hoc test*, nos analyses démontrent qu'elle diminue significativement de 30% ($p = 0,0028$) au jour 5 et de 38% par ($p = 0,0005$) au jour 14 dans le striatum). Les autres régions du cerveau qui ont été analysées ne présentaient pas de différence statistiquement significative.

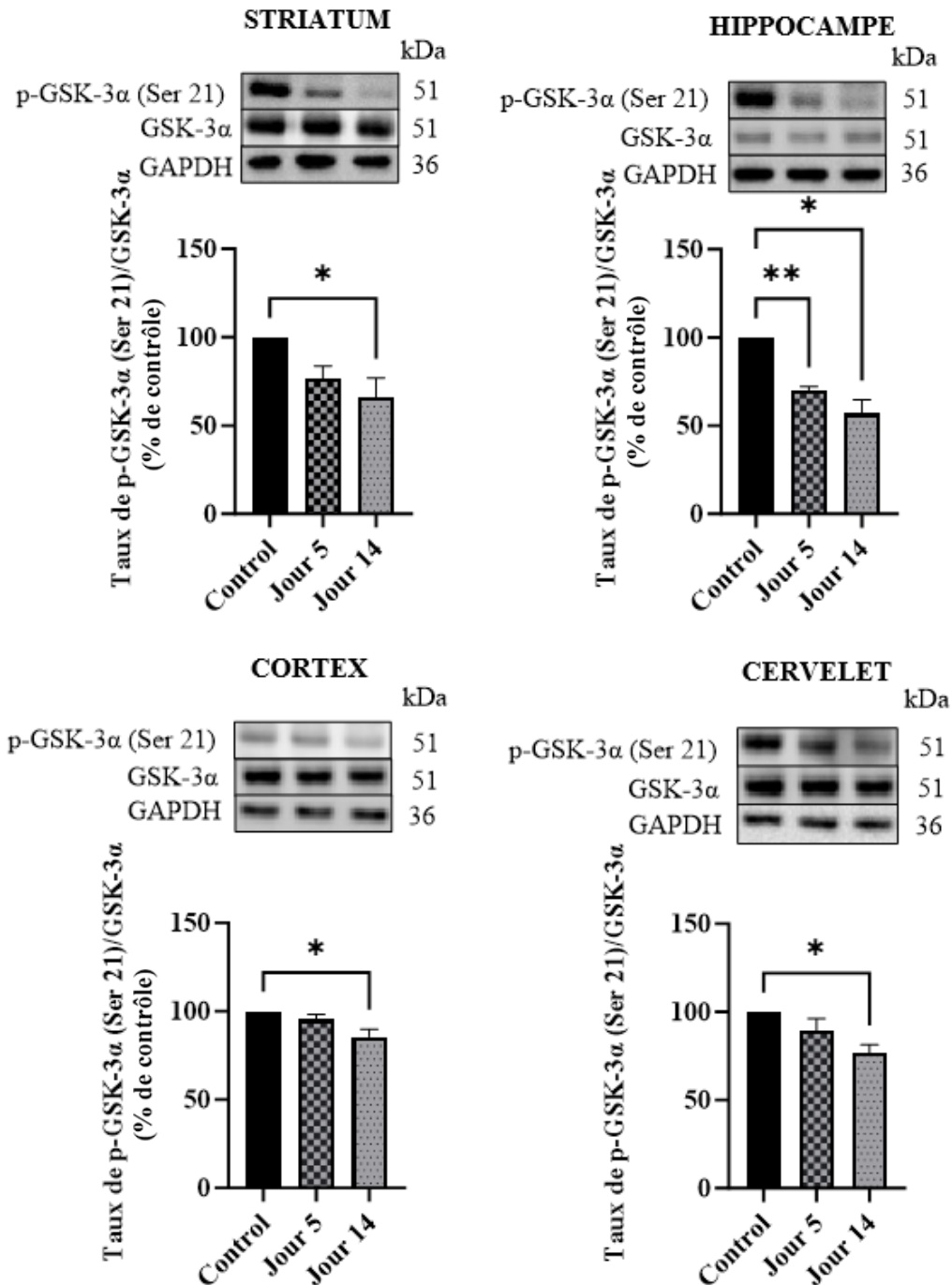


Figure 18 | Effet de l'Ipatasertib sur la cible moléculaire d'AKT, GSK-3α, sur différentes parties du cerveau

Nous avons évalué les niveaux de p-GSK-3α dans différentes régions du cerveau. Les niveaux de p-GSK-3α ont été exprimés par rapport à la GSK-3α totale et normalisée à l'aide de GAPDH. Les valeurs proviennent de triplicata/animal. Les analyses statistiques ont été réalisées par *one-way ANOVA* suivie du *post-hoc Tukey*. Les données sont exprimées en pourcentage de contrôle et présentées sous forme de moyenne \pm S.E.M. $n = 4$ souris/groupe. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs contrôle.

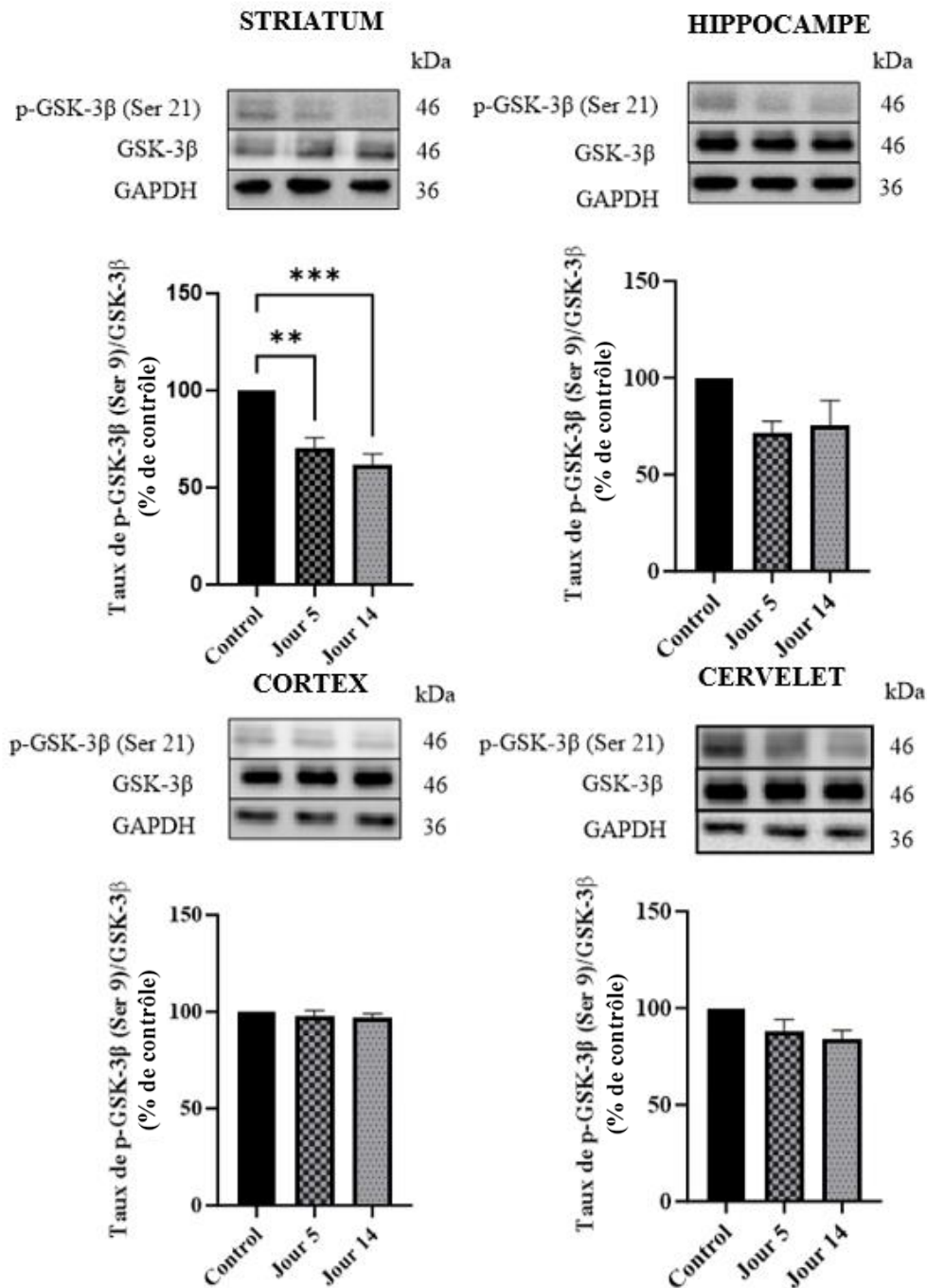


Figure 19 | Effet de l'Ipatasertib sur la cible moléculaire d'AKT, GSK-3β, sur différentes parties du cerveau

Nous avons évalué les niveaux de p-GSK-3β dans différentes régions du cerveau. Les niveaux de p-GSK-3β ont été exprimés par rapport à la GSK-3β totale et normalisée à l'aide de GAPDH. Les valeurs proviennent de triplicata/animal. Les analyses statistiques ont été réalisées par *one-way ANOVA* suivie du *post-hoc Tukey*. Les données sont exprimées en pourcentage de contrôle et présentées sous forme de moyenne \pm S.E.M. $n = 4$ souris/groupe. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

5.4 Impact de l'inhibition de la voie de signalisation AKT par un traitement chronique à l'Ipatasertib sur l'exécution, la coordination et la capacité motrice des souris

Afin de vérifier l'influence de l'inhibiteur pharmacologique (Ipatasertib) sur la capacité d'exécution motrice, nous avons effectué les tests du pole, wire suspension, Rotarod à vitesse accélérée et le Rotarod à vitesse constante (Matsuura, Kabuto et al. 1997, Shiotsuki, Yoshimi et al. 2010, Hoffman and Winder 2016) (**Fig. 20**). L'administration d'Ipatasertib a été faite à l'aide d'un traitement chronique, c'est-à-dire que les individus étaient traités tous les jours pendant 5 jours avant d'effectuer les tests. Il faut noter que la dernière administration au 5e jour était réalisée une heure avant de débiter les tests. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du test de Student pour les **figures 20 A, B et C** et d'un test multiple non apparié de Student pour la **figure 20D**.

Lors de l'exécution de ces divers tests, (**Fig. 20A à 20 D**), nous n'avons observé aucune différence statistiquement significative entre les groupes de souris traitées et non traitées. Il est intéressant de noter pour le test de la **figure 20C**, que les souris ont appris la tâche pendant trois jours avant de recevoir leur traitement chronique de cinq jours, l'apprentissage de la tâche était donc déjà établi au préalable et il n'y a pas de différence significative. Ces mêmes tests, de la **figure 20**, ont aussi été effectués à l'aide d'un traitement à l'Ipatasertib de type aigu. Le gavage a lieu une seule et unique fois tout juste avant le début des tests, soit une heure avant d'effectuer le test. Les résultats de ces tests sont présentés dans l'annexe 1.

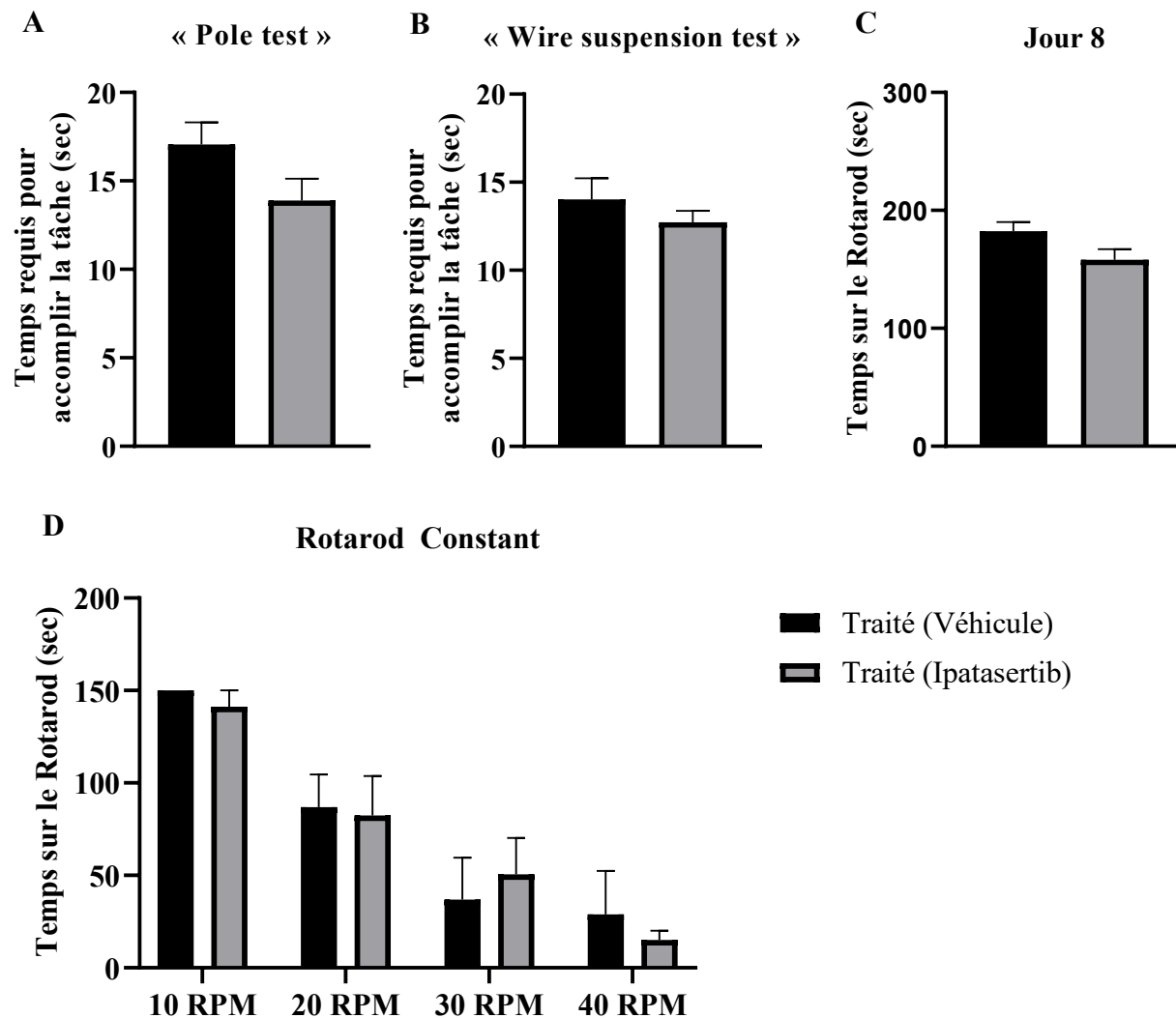


Figure 20 | L'effet de l'inhibition d'AKT via Ipatasertib, lors d'un traitement chronique, sur les tests d'habilités motrices

A, B. Les données représentent le temps total moyen requis pour compléter chaque essai. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm S.E.M. $n = 6$ souris/groupe. Les analyses statistiques ont été réalisées par un test de Student. **C.** Le temps sur le rotarod accéléré avant de tomber des souris uniquement traitées une heure avant l'entraînement au jour 8 avec le véhicule (0,5 % de méthylcellulose/0,2 % de Tween 80, $n = 6$) ou l'inhibiteur d'AKT (Ipatasertib, 100 mg/kg, $n = 6$). Les données représentent la moyenne \pm S.E.M. $n = 6$ souris/groupe. L'analyse statistique a été réalisée par le test de Kolmogorov Smirnov. **D.** Le temps sur le rotarod constant avant de tomber des souris traitées avec le véhicule (0,5 % de méthylcellulose/0,2 % de Tween 80, $n = 6$) ou l'inhibiteur d'AKT (Ipatasertib, 100 mg/kg, $n = 6$). Les données sont exprimées en moyenne \pm S.E.M. $n = 6$ souris/groupe. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide d'un test de Student multiple non apparié.

5.5 Effet de l'administration de l'Ipatasertib sur l'apprentissage moteur complexe via le Rotarod accéléré

Pour vérifier l'effet de l'administration d'Ipatasertib sur l'apprentissage moteur complexe, nous avons administré oralement Ipatasertib à une dose de 100 mg/kg p.o. DIE pendant 5 jours avant le début des tests du Rotarod accéléré. Les résultats sont présentés à la figure 21. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du *two-way ANOVA* suivie d'un *Šidák's multiple comparisons test* sur les deux premiers et deux derniers essais de chaque jour d'entraînement.

Nous remarquons que les essais initiaux ne démontrent pas de différence statistiquement significative entre le traitement et le contrôle chez les individus tout au long de l'apprentissage et la consolidation de la mémoire sur le Rotarod accéléré. Cependant, au niveau des derniers essais, aux jours 3 et 8, nous pouvons observer une différence statistiquement significative. Nous avons au jour 3 une différence de l'ordre de 26.1% de diminution par rapport aux individus contrôle ($p = 0,0049$) et au jour 8, nous observons une diminution de 25.06% par rapport au contrôle ($p = 0,0095$). Les jours 1 et 2 des derniers essais ne présentent pas de différence statistiquement significative. Ceci nous permet de mettre en corrélation l'effet des isoformes d'AKT au niveau de la phase de consolidation de l'apprentissage d'un mouvement moteur complexe via l'inhibition de la voie de signalisation d'AKT grâce à l'Ipatasertib.

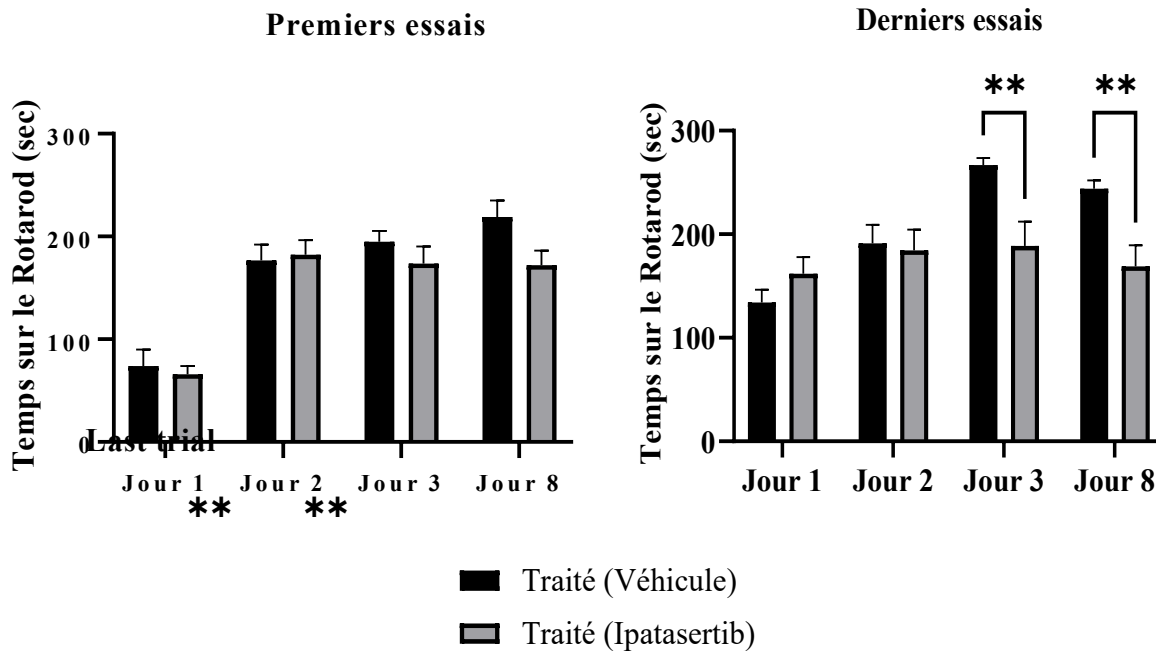


Figure 21 | L'effet de l'Ipatasertib sur l'acquisition de la mémoire motrice sur le Rotarod accéléré

Le temps moyen des deux premiers et des deux derniers essais sur le rotarod accéléré pour les souris traitées avec le véhicule (0,5 % de méthylcellulose/0,2 % de Tween 80, n = 6) ou l'inhibiteur d'AKT (Ipatasertib, 100 mg/kg, n = 10). Les valeurs sont présentées comme la moyenne des deux premiers et des deux derniers entraînements \pm S.E.M., n = 4 souris/groupe. L'analyse statistique a été effectuée par two-way ANOVA suivie du test de comparaisons multiples de Šidák. **p<0,01.

CHAPITRE VI : DISCUSSION GÉNÉRALE

De nombreuses études ont démontré de manière convaincante que l'apprentissage engendre des changements notables dans l'activité neuronale du striatum (Seger and Cincotta 2002, Peters and Crone 2017). Certaines recherches approfondies ont même révélé que ces changements étaient spécifiquement liés à l'acquisition de compétences motrices (Ungerleider, Doyon et al. 2002, Brasted and Wise 2004, Barnes, Kubota et al. 2005). Au cours de l'apprentissage de tâches motrices, de nombreux gènes impliqués dans la plasticité synaptique sont exprimés, ce qui entraîne une réorganisation des circuits corticostriataux (Wachter, Rohrich et al. 2010, D'Amours, Bureau et al. 2011). Cette réorganisation plastique induit un nouvel agencement neuronal qui favorise le développement de mouvements fluides et l'exécution presque parfaite de la tâche.

La recherche réalisée durant mes travaux de maîtrise s'est intéressée à l'implication des isoformes d'AKT dans les différentes phases de l'apprentissage moteur au niveau du striatum. Nous démontrons une augmentation d'environ 10% du taux d'activité d'AKT3 striatal lors de la consolidation de l'apprentissage et que l'inhibition d'AKT, via un inhibiteur pharmacologique, affecte les processus de mémorisation, mais pas la rétention de l'apprentissage. Les résultats de ces expériences sont discutés dans les prochaines pages de ce chapitre.

6.1 Implication des isoformes d'AKT au niveau du processus moléculaires de l'apprentissage d'un mouvement moteur complexe

Il est important de spécifier que les résultats obtenus sur l'appareil Rotarod pour les souris contrôles sont comparables aux résultats obtenus dans les études réalisées auparavant dans le laboratoire (**Fig. 16**) (Bureau, Carrier et al. 2010, Doyon, Orban et al. 2011, Bergeron, Chagniel et al. 2014, Chagniel, Bergeron et al. 2014, Ouimet, Pepin et al. 2019) et tel que décrit par d'autres chercheurs (Bureau, Carrier et al. 2010, Doyon, Orban et al. 2011, Bergeron, Chagniel et al. 2014, Chagniel, Bergeron et al. 2014, Ouimet, Pepin et al. 2019). En effet, la phase rapide est clairement définie dès le premier et le deuxième jour d'entraînement sur le Rotarod accéléré puisqu'il est possible d'observer une amélioration rapide des performances durant ces deux séries d'entraînements (Doyon, Orban et al. 2011, Bergeron, Chagniel et al. 2014). Des recherches ont démontré que l'établissement du réseau cortico-striatal est essentiel pour l'élaboration des stratégies motrices chez la souris. Ce réseau facilite l'amélioration rapide des performances motrices grâce à l'interaction entre le cortex moteur et le striatum, permettant l'adaptation et l'exécution efficace des mouvements (Bergeron, Chagniel et al. 2014, Hintiryan, Foster et al. 2016). Ensuite, aux jours 3 et 8, on observe une diminution du gain de performance et une stabilisation de la performance.

Il est bien établi que, chez l'humain, l'automatisation des tâches et le maintien à long terme de la trace mnésique se produisent au niveau du réseau cortico-striatal, en particulier dans le striatum, une structure clé pour la mémoire motrice et l'apprentissage moteur (Doyon, Orban et al. 2011). L'automatisation des tâches et le maintien à long terme de la mémoire a aussi été démontré dans des études chez la souris (Bureau, Carrier et al. 2010, Bergeron, Chagniel et al. 2014). Il existe des parallèles significatifs avec le cerveau humain et souris, en raison de similitudes anatomiques et

fonctionnelles au niveau des ganglions de la base et des circuits corticostriataux (Balsters, Zerbi et al. 2020).

Les résultats de nos expériences (**Fig. 17**) démontrent que la proportion d'AKT phosphorylé à la sérine 473 (AKT1) au niveau du striatum n'est pas altérée, ou sollicitée, durant les phases d'apprentissage lors du test Rotarod accéléré (**Fig. 16**). Cependant, au jour 2, nous constatons une augmentation par rapport au jour 1 et au groupe témoin de l'activation de la proportion d'AKT phosphorylé à la sérine 474 (AKT2) striatale (**Fig. 17**). Cette augmentation pourrait être due au besoin en glucose du cerveau pour son bon fonctionnement, étant donné que l'AKT2 est impliqué dans les processus de régulation du glucose (Cho, Mu et al. 2001, Garofalo, Orena et al. 2003, George, Rochford et al. 2004) ou encore, qu'il pourrait peut-être s'agir de son implication dans la croissance d'axone et la viabilité neuronale (Diez, Garrido et al. 2012). Néanmoins, la diminution du taux de phosphorylation d'AKT2 observée au jour 8 par rapport au jour 2 suggère qu'il pourrait s'agir davantage d'une augmentation marquée de la croissance des axones pour établir un plus vaste réseau neuronal. Toutefois, il faut garder en considération l'implication d'AKT2 dans la régulation du glucose et ne pas exclure cette possibilité (Mergenthaler, Lindauer et al. 2013). D'autres tests seraient nécessaires pour établir le véritable rôle d'AKT2 lors de cette augmentation et de cette diminution de sa phosphorylation au niveau du striatum lors de la phase rapide de l'apprentissage.

En ce qui a trait aux niveaux striatal d'AKT3 phosphorylé, aucun changement significatif n'est observé pendant la phase d'apprentissage rapide, aux jour 1 et 2 du Rotarod accéléré (**Fig.17**). Pourtant, lors du début de la phase de consolidation au jour 3, et lors de sa continuité au jour 8, nous sommes en mesure d'observer une augmentation significative de la phosphorylation et donc de son activité au niveau du striatum. Nos données suggèrent l'implication de l'isoforme Akt3 au niveau du striatum durant l'acquisition de la mémoire motrice. Il est intéressant de noter que plusieurs

groupes de recherche ont documenté divers chemins moléculaires lors d'un apprentissage moteur en fonction du temps et du nombre de répétitions exécuté (Bureau, Carrier et al. 2010, Shiflett and Balleine 2011, Shiflett and Balleine 2011, Chagniel, Robitaille et al. 2012, Bergeron, Chagniel et al. 2014, Chagniel, Bergeron et al. 2014, Ouimet, Pepin et al. 2019). Une étude a démontré l'implication d'AKT3 dans la mémoire à long terme spatial grâce au *Morris water maze* (Wong, Levenga et al. 2020). Cette étude est intéressante, mais ne permet pas de conclure formellement à l'implication d'AKT3 dans la consolidation de la mémoire motrice, d'autant plus que les taux de phosphorylation dans le cerveau n'ont pas été mesurés. De plus, bien que l'hypothèse de compensation entre AKT1 et AKT3 en cas d'absence de l'un ou l'autre ait été avancée, l'absence de confirmation de la spécificité cérébrale limite cette conclusion. En revanche, d'autres recherches ont démontré l'importance du striatum dans l'apprentissage moteur, comme en témoigne l'étude de Dang et Yokoi (2006), qui montre que l'invalidation spécifique de NMDAR1 dans le striatum empêche l'apprentissage au Rotarod accéléré. Nos résultats contribuent à préciser davantage le rôle essentiel du striatum et d'AKT3 striatal dans l'acquisition de la mémoire motrice.

6.2 Impact d'Ipatasertib sur la voie de signalisation AKT

6.2.1 Nos résultats démontrent qu'Ipatasertib passe la barrière Hémato-Encéphalique

Il existe plusieurs méthodes pour inhiber des protéines spécifiques dans un modèle *in vivo* tel que la souris. Les souris knock-out (KO) sont aussi devenues très utilisées, depuis les années 1980, grâce à leur possibilité d'inhibition d'une protéine ou d'un gène dans un tissu spécifique, ce qui permet d'étudier entre autres les conséquences d'une perte fonctionnelle d'un gène sur les comportements *in vivo* de la souris (Hall, Limaye et al. 2009). Il est possible d'utiliser des petits ARN interférents (ARNi) qui peuvent inhiber spécifiquement un gène dans un contexte *in vivo* grâce à l'interférence au niveau de l'acide ribonucléique (ARN) (Alshaer, Zureigat et al. 2021).

Le traitement pharmacologique, apprécié dans les modèles *in vivo* pour son caractère moins invasif et sa rapidité d'action, constitue une approche privilégiée, d'où l'utilisation de l'Ipatasertib dans l'expérience. Il est généralement admis que les molécules pharmacologiques traversant la barrière hématoencéphalique doivent avoir un poids moléculaire inférieur à 400 Da et former moins de huit liaisons hydrogène. Toutefois, environ 98 % des petites molécules réussissent à franchir cette barrière (Ippen, Grosch et al. 2019). Bien qu'il soit difficile de relier ces critères aux mécanismes exacts pour chaque molécule, les expériences réalisées chez la souris suggèrent que, malgré la taille relativement importante de l'Ipatasertib, elle semble induire des effets au niveau du cerveau, ce qui laisse penser qu'elle parvient à traverser la barrière hématoencéphalique (Ippen, Grosch et al. 2019). Deux mécanismes permettent aux molécules d'accéder au liquide cérébral interstitiel : la diffusion libre à travers les lipides ou le transport médié par les transporteurs ou récepteurs présents dans la barrière hématoencéphalique (Pardridge 2012). Toutefois, faute de données expérimentales concernant les propriétés physico-chimiques précises de cette molécule, il n'est pas possible à ce stade de confirmer les mécanismes exacts de son passage.

Bien entendu, comme Ipatasertib est une nouvelle molécule dont les études cliniques sont toujours en cours, il est difficile de prédire si cette dernière peut franchir la barrière hématoencéphalique et, le cas échéant, par quel moyen. Avec un poids moléculaire de 458 g/mol, nous nous situons juste au-dessus de la taille généralement prescrite pour traverser la barrière (PubChem 2023). Des études ont cependant démontré la capacité d'Ipatasertib à traverser la barrière hématoencéphalique à des doses élevées, telles que 100 mg/kg per os DIE chez les souris (Ippen, Grosch et al. 2019) et à 400 mg chez l'homme (Tiu, Welsh et al. 2021).

Le mécanisme moléculaire des inhibiteurs compétitifs d'AKT conduit à une augmentation du niveau de phosphorylation de la kinase tout en la verrouillant dans un état activé, mais non

fonctionnel. Ainsi, AKT est donc phosphorylé à sa sérine respective pour chaque isoforme, mais il lui est impossible de fonctionner (Lin, Lin et al. 2012, Lazaro, Kostaras et al. 2020, Hörnschemeyer, Kirschstein et al. 2022). GSK-3 $\alpha\beta$ devient alors un allié de taille pour vérifier l'état de la voie de signalisation d'AKT lors du traitement avec Ipatasertib.

Nos résultats nous ont permis de démontrer qu'avec une dose de 100 mg/kg per os DIE, tel qu'effectuée par Ippen, Grosh et al. 2019, nous avons été en mesure d'observer une diminution significative de la phosphorylation de GSK-3 α dans quatre régions distinctes du cerveau. Plus précisément, après 14 jours de traitement, nous avons constaté une inhibition de plus de 34% pour GSK-3 α et GSK-3 β au niveau du striatum (**Fig. 18 et 19**). De manière surprenante, nous avons même été en mesure d'observer une inhibition allant jusqu'à 43% pour GSK-3 α au niveau de l'hippocampe, région rapprochée du striatum. Ce taux d'inhibition est relativement élevé pour un traitement pharmacologique oral visant à atteindre le cerveau considérant le passage difficile de la barrière hématoencéphalique. Dans l'ensemble, ces résultats nous permettent de conclure qu'Ipatasertib traverse en quantité suffisante la barrière hématoencéphalique pour inhiber AKT au striatum, à l'hippocampe, au cortex et au cervelet (**Fig. 18**). Ainsi, nous sommes en mesure d'observer que la voie de signalisation d'AKT est impactée par la diminution de phosphorylation de GSK-3 $\alpha\beta$ grâce au traitement à l'Ipatasertib.

6.3 Impact d'un traitement avec Ipatasertib sur l'exécution, la coordination et la capacité motrice chez les souris

L'ensemble de nos résultats entourant les capacités motrices ne démontrent pas de différences significatives chez la souris, qu'elles aient été traitées ou non à l'Ipatasertib (**Fig. 20**). Si l'on prend le *pole test* (**Fig. 20A**), l'absence de différence significative nous indique que le traitement à l'Ipatasertib n'entraîne aucun trouble du mouvement pouvant être lié aux ganglions de la base, et

plus spécifiquement, dans notre cas, au striatum. Le type de trouble du mouvement détectable par ce test serait, par exemple, la bradykinésie. Dans ce cas, nous aurions observé une lenteur dans l'exécution de la tâche et, par conséquent, une augmentation du temps nécessaire pour accomplir la tâche (Ogawa, Hirose et al. 1985, Matsuura, Kabuto et al. 1997, Bouet, Freret et al. 2007).

Le *wire suspension test* (**Fig. 20B**) nous a permis de vérifier de manière approfondie la coordination et la force motrice de la souris. Une fois de plus, en n'observant aucune différence significative entre les groupes, nous sommes en mesure d'interpréter ces données en établissant qu'il y a une absence de la diminution de la force motrice et d'incoordination motrice. Ceci nous amène à affirmer que l'inhibition d'AKT n'engendre pas de modification de la force motrice ou de la coordination. Par conséquent, la souris reste donc apte à effectuer ces tâches motrices sans aucune problématique apparente.

Le rotarod accéléré au jour 8 (**Fig. 20C**), suite à l'apprentissage de la tâche, nous permet de déduire que la souris a bel et bien appris la tâche et que cette dernière est bien consolidée. Le traitement n'affecte pas la rétention de l'apprentissage moteur déjà acquis et la souris performe tout aussi bien que l'individu non traité.

Le rotarod constant (**Fig. 20D**), servant à évaluer la performance, ne démontre pas de différence significative, quelle que soit la vitesse de la tige rotative. Ceci nous permet de déduire que la performance n'est pas affectée.

En comparant l'ensemble de ces tests, nous pouvons conclure que le traitement chronique à l'Ipatasertib (100 mg/kg per os DIE) n'a pas d'impact négatif sur les capacités motrices générales et fines, la performance ou l'émergence de troubles moteurs tels que la bradykinésie ou l'akinésie. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans des souris KO AKT3, où l'absence de ce gène n'a

pas altéré les fonctions motrices de base (Bergeron, Bureau et al. 2017, Ouimet, Pepin et al. 2019). De plus, l'absence de déficits moteurs dans nos tests, y compris le pole test et le wire suspension test, correspond aux observations de Bouet et al. (2007) et Schaar et al. (2010), qui ont démontré que ces tâches sont sensibles aux altérations des ganglions de la base et de la coordination motrice. Nos résultats s'alignent également avec ceux de Bergeron et al. (2014), qui ont montré que l'apprentissage moteur mesuré par le rotarod n'est pas compromis en l'absence d'une activation complète de la voie AKT. Ainsi, l'Ipatasertib, bien qu'étant un inhibiteur pharmacologique d'AKT, ne compromet pas les capacités motrices des souris et nous permet d'évaluer son rôle dans d'autres aspects de la modulation du striatum.

6.4 Implication de l'inhibition pharmaceutique d'AKT sur l'apprentissage moteur

Au niveau comportemental, notre étude démontre que l'inhibition pharmacologique de l'activité d'AKT altère significativement la consolidation de l'apprentissage moteur (**Fig. 21**). Il nous est possible d'observer une diminution de la performance sur le Rotarod accéléré des souris traitées à l'Ipatasertib par rapport aux souris contrôles, lors des jours de consolidation de l'apprentissage, donc aux jours 3 et 8, lors des derniers essais. Il est intéressant de noter qu'une des caractéristiques du rotarod accéléré est son indépendance vis-à-vis de différents facteurs tels que les récompenses, l'espace spatial et l'instrument en tant que tel (Buitrago, Schulz et al. 2004, Luft and Buitrago 2005). Ainsi, il est possible de supposer que l'amélioration des performances sur le rotarod accéléré est attribuable à l'apprentissage d'une compétence motrice.

Bien entendu, la chute du rotarod pourrait représenter un stimulus néfaste chez la souris. Cependant, la distance de chute est de 40 cm et nous évitons toute motivation négative via des chocs électriques comme ceux utilisés dans différents tests de comportement (Doeppner, Kaltwasser et al. 2014). Nous croyons que les effets du comportement moteur lors de ce test indiquent un déficit de

l'apprentissage moteur, car nos résultats précédents indiquent qu'AKT ne perturbe pas la capacité motrice générale.

D'autre part, les modèles de souris KO AKT3 ont déjà montré des déficits moteurs au rotarod accéléré (Ouimet, Pepin et al. 2019), suggérant une implication de cet isoforme dans l'apprentissage moteur. Nos résultats sont partiellement comparables, car l'Ipatasertib inhibe l'ensemble des isoformes d'AKT (AKT1, AKT2 et AKT3), tandis que les souris KO AKT3 conservent l'activité d'AKT1 et AKT2. Cette différence pourrait expliquer pourquoi nos souris traitées à l'Ipatasertib présentent un phénotype distinct de celui observé dans les modèles génétiques. Par ailleurs, plusieurs études ont montré que la signalisation AKT joue un rôle clé dans la plasticité synaptique et l'adaptation des circuits neuronaux impliqués dans l'apprentissage moteur, notamment au niveau du striatum (Buitrago, Schulz et al. 2004, Doyon, Orban et al. 2011). En effet, la cascade AKT-mTOR est connue pour moduler la formation et la stabilisation des synapses impliquées dans la consolidation des habiletés motrices (Luft and Buitrago 2005). De plus, l'inhibition d'AKT a déjà été associée à une altération de la potentialisation à long terme (LTP) dans le striatum, un mécanisme fondamental de l'apprentissage moteur (Doeppner, Kaltwasser et al. 2014). Ainsi, nos résultats s'inscrivent dans un cadre plus large de la littérature démontrant que l'activité d'AKT est essentielle à la consolidation des apprentissages moteurs complexes, sans toutefois affecter directement les capacités motrices de base.

6.5 Implication d'AKT3 au niveau de l'apprentissage d'un mouvement moteur complexe

Bien que nos résultats indiquent des tendances précises, leur interprétation dans un contexte plus large est essentielle. Notre étude suggère que l'activation d'AKT3 dans le striatum ne joue pas un rôle déterminant dans la phase initiale de l'apprentissage moteur, mais intervient principalement dans la consolidation des acquis à travers les entraînements répétés au rotarod accéléré. La

consolidation de la mémoire motrice repose sur des mécanismes de plasticité synaptique qui stabilisent les apprentissages sur le long terme (Buitrago, Schulz et al. 2004). Plusieurs études ont exploré le rôle de la voie PI3K/AKT dans la plasticité synaptique et la mémoire en général (Horwood, Dufour et al. 2006, Levenga, Wong et al. 2017, Fabbrin, Girardi et al. 2020), mais l'implication spécifique d'AKT3 dans la consolidation des apprentissages moteurs demeure peu étudiée. Notre étude contribue ainsi à combler cette lacune en démontrant un lien direct entre l'activation d'AKT3 et la stabilisation de la mémoire motrice.

Lors de l'apprentissage d'une tâche motrice complexe, le perfectionnement de la tâche à court terme se produit lors de la répétition de la tâche pendant les premières journées d'entraînement. En ce qui concerne les améliorations à long terme, elles se développent après quelques séances, incluant des périodes de repos entre chacune, ce qui permet une stabilisation de la mémoire et conduit à un état plus stable au niveau neuronal (Yin, Mulcare et al. 2009). Nos données démontrent une augmentation de la phosphorylation d'AKT3 lors de cette stabilisation de la mémoire au niveau du striatum lors de l'entraînement au rotarod accéléré.

Toutefois, des investigations supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre comment l'activation d'AKT3 influence les mécanismes moléculaires sous-jacents à la consolidation de la mémoire motrice. La voie AKT interagit avec plusieurs régulateurs clés de la plasticité synaptique, notamment mTORC1, qui joue un rôle central dans la régulation de la traduction protéique et la formation de nouvelles connexions synaptiques via 4EBP1 et P70S6K (Bergeron, Chagniel et al. 2014). L'implication de mTORC1 dans la consolidation de la mémoire a été démontrée dans plusieurs contextes d'apprentissage (Costa-Mattioli, Sossin et al. 2009, Santini, Huynh et al. 2014), ce qui suggère une relation fonctionnelle potentielle avec AKT3. De plus, GSK-3, une cible en aval d'AKT, est connue pour influencer la plasticité synaptique et les processus d'apprentissage moteur

dans le striatum (Ouimet, Pepin et al. 2019). Ces éléments indiquent qu'AKT3 pourrait agir en modulant ces voies de signalisation pour favoriser la stabilisation des apprentissages moteurs.

En utilisant un inhibiteur pharmacologique, nous avons pu démontrer que l'activation d'AKT3 joue un rôle primordial dans les processus de consolidation de la mémoire motrice. Nos résultats montrent que son inhibition partielle entraîne une déficience dans la rétention et la consolidation de la mémoire à long terme, sans altérer la capacité motrice générale. Bien que nos analyses aient porté principalement sur le striatum, il est important de considérer que l'inhibition systémique d'AKT par gavage à l'Ipatasertib affecte l'ensemble du cerveau et de l'organisme. Une hypothèse plausible serait que la consolidation de la mémoire motrice implique une interaction entre plusieurs structures cérébrales, notamment le cortex moteur, le cervelet et l'hippocampe, qui sont également connus pour jouer un rôle clé dans l'apprentissage moteur et la plasticité synaptique (Doyon and Benali 2005, Giacosa, Karpati et al. 2016). L'activation d'AKT a été associée à des mécanismes de stabilisation synaptique et à la régulation translationnelle dans ces régions, via des voies comme mTORC1, qui est essentielle à la synthèse protéique nécessaire à la consolidation mnésique (Costa-Mattioli, Sossin et al. 2009, Santini, Huynh et al. 2014). De plus, des études ont montré que l'inhibition d'AKT peut altérer la plasticité synaptique dans l'hippocampe et le cortex moteur, ce qui pourrait expliquer un ralentissement global des processus d'apprentissage (Levenga, Wong et al. 2017, Kommaddi, Gowaikar et al. 2024). Ainsi, bien que nos résultats mettent en évidence un effet spécifique dans le striatum, l'inhibition systémique d'AKT pourrait influencer un réseau plus large impliqué dans l'apprentissage moteur, ce qui nécessite des investigations plus poussées pour comprendre l'interaction entre ces différentes structures.

6.6 Conclusion, perspectives et objectifs à long terme

Nous avons déjà une connaissance approfondie de l'influence des ganglions de la base sur nos actions et la modulation de nos mouvements. De plus, ces ganglions jouent un rôle crucial dans l'acquisition, le contrôle, la mémorisation et l'exécution des mouvements moteurs, ce qui en fait une cible privilégiée pour les troubles neurodégénératifs moteurs (Groenewegen 2003, Turner and Desmurget 2010, Dhawale, Wolff et al. 2021). Parmi les maladies neurodégénératives classiques des ganglions de la base, nous retrouvons la maladie de Parkinson, qui se caractérise par une hypokinésie, et la maladie de Huntington, qui se manifeste par une hyperkinésie. La maladie de Parkinson est causée par une diminution de l'innervation dopaminergique au niveau des ganglions de la base (DeLong and Wichmann 2007, Long, Cheng et al. 2021). La maladie de Huntington est causée par une neurodégénération sévère au niveau du striatum et du cortex (Cepeda, Murphy et al. 2014, Koch and Raymond 2019, Blumenstock and Dudanova 2020). Toutes ces maladies se traduisent par des troubles moteurs, ce qui suggère que les ganglions de la base, plus précisément le striatum, jouent un rôle central dans le contrôle ou l'exécution d'un mouvement moteur ? Qu'en est-il de l'apprentissage d'une nouvelle tâche motrice complexe, est-ce que les parkinsoniens sont capables d'apprendre une nouvelle tâche motrice.

Nous savons que ces maladies sont liées à la dopamine et au striatum. La dopamine est libérée dans le striatum lors d'expériences enrichissantes, telles que l'apprentissage moteur, et influence plusieurs voies de signalisation intracellulaires. Parmi celles-ci, la voie PI3K/AKT/mTOR est particulièrement étudiée en raison de son rôle dans la plasticité synaptique et la survie neuronale (Beaulieu and Gainetdinov 2011). Il a été démontré que l'activation des récepteurs dopaminergiques de type D2 (DRD2) peut inhiber l'activité de la protéine kinase B, mieux connue sous le nom d'AKT, grâce à leur interaction avec la β -arrestine 2, qui provoque le recrutement de la phosphatase PP2A

et d'AKT dans un complexe membranaire (Thibault, Kortleven et al. 2010). De plus, des études ont montré que la stimulation prolongée des DRD2 par des concentrations élevées de dopamine entraîne l'inhibition d'AKT et une augmentation de l'activité de GSK3 chez des souris de type sauvage, mais pas chez des souris n'exprimant pas le DRD2 (Del'Guidice and Beaulieu 2010). Ces résultats

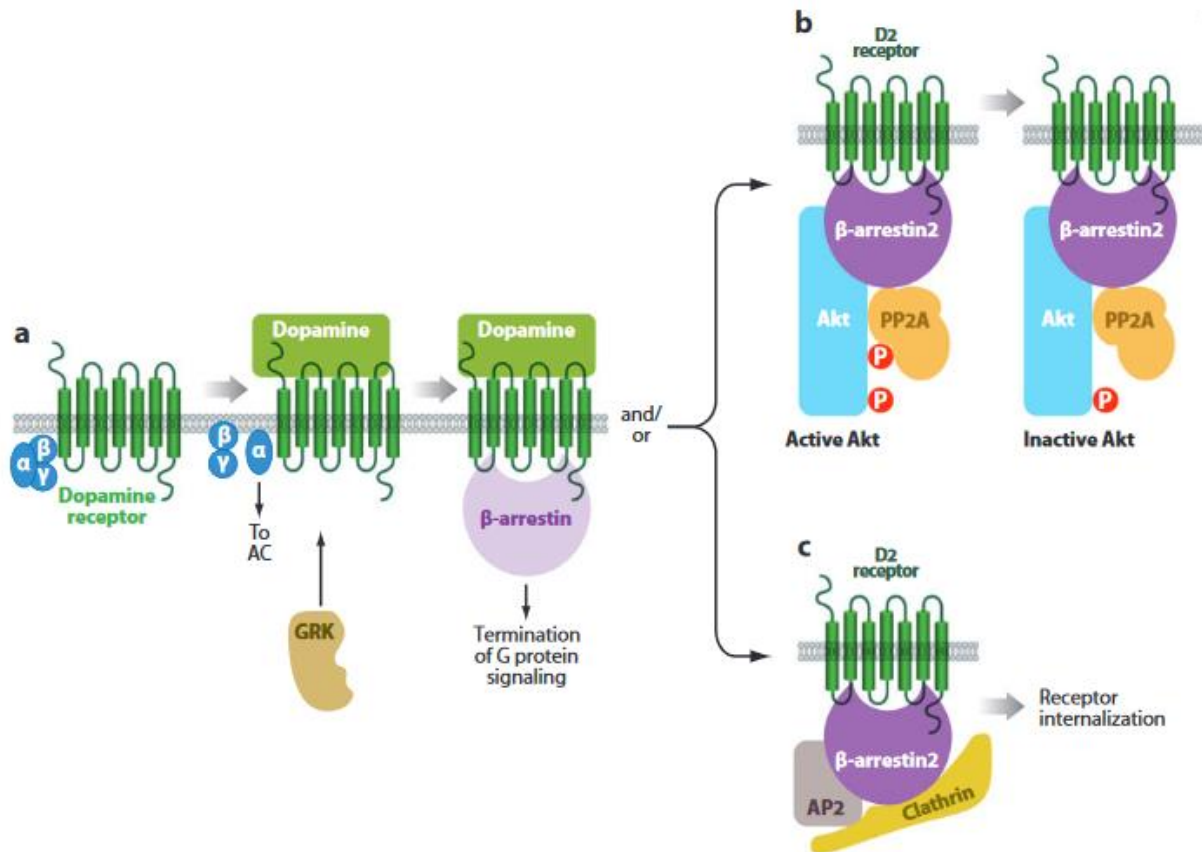


Figure 22 | Le rôle de la B-arrestin dans la signalisation des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR)

Rôle de la β -arrestine dans la signalisation des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR), illustré ici avec le récepteur à la dopamine D2. **(a)** Après liaison de la dopamine, le récepteur active la protéine G (α , β , γ), qui stimule l'adénylate cyclase (AC). La phosphorylation du récepteur par la GRK (*G protein-coupled receptor kinase*) permet le recrutement de la β -arrestine, stoppant la signalisation dépendante de la protéine G. **(b)** β -arrestine 2 peut aussi servir de plateforme de signalisation alternative : elle favorise la signalisation d'AKT (protéine kinase B), en régulant son état d'activation via la phosphatase PP2A (*protein phosphatase 2A*), qui déphosphoryle AKT. **(c)** La β -arrestine médie également l'internalisation du récepteur via des complexes avec AP2 (*adaptin protein complex 2*) et la clathrine, menant à l'endocytose du récepteur.

©Tiré de (Beaulieu, Gainetdinov et al. 2009)

indiquent que les récepteurs DRD2 sont essentiels pour l'inhibition d'AKT par la dopamine et que les récepteurs D3 participent également à cette signalisation, potentiellement en renforçant la réponse des récepteurs D2 (Beaulieu, Tirotta et al. 2007).

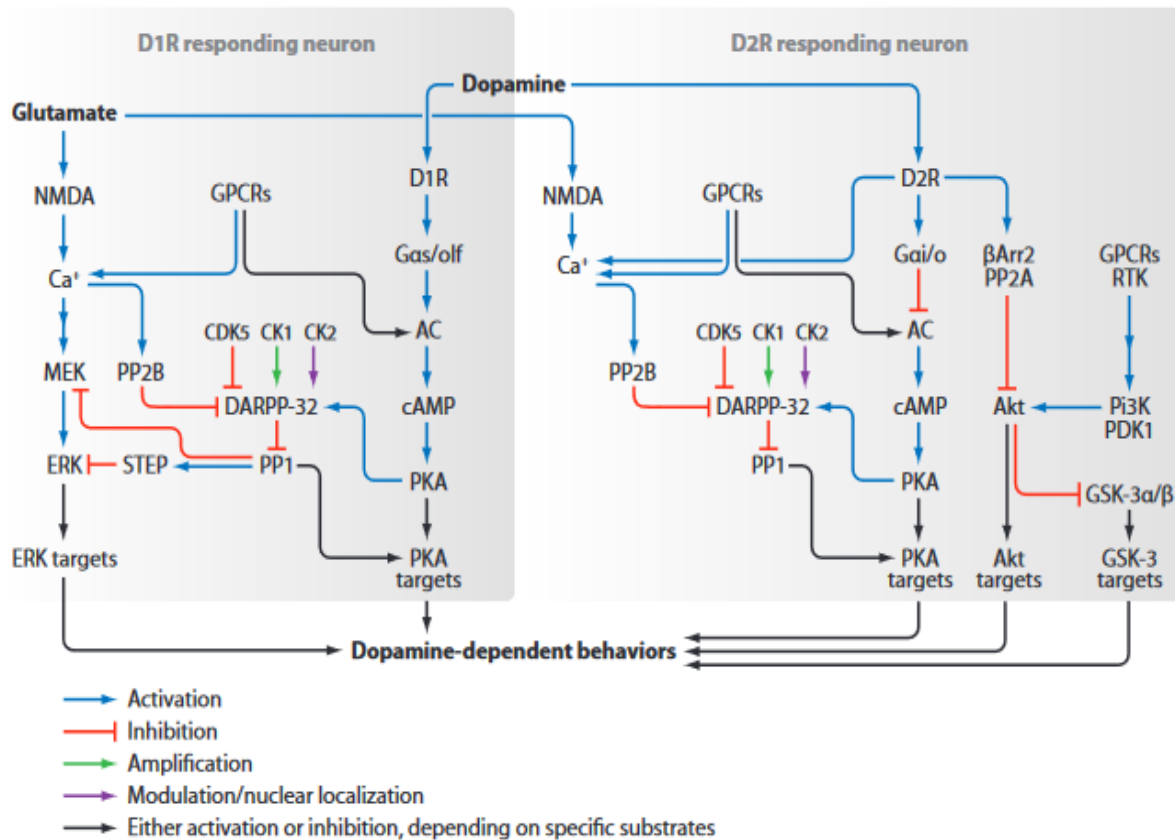


Figure 23 | La signalisation complexe des récepteurs dopaminergiques dans le striatum

La dopamine module deux types de neurones striataux en activant les récepteurs D1R (voie directe) et D2R (voie indirecte), chacun déclenchant des cascades de signalisation distinctes. À gauche, dans les neurones D1R, l'activation des récepteurs couplés aux protéines G (GPCRs) stimule l'adénylate cyclase (AC), augmentant l'AMPc et activant la PKA. Cela régule DARPP-32, une protéine clé modulée par les kinases CDK5, CK1, CK2 et les phosphatases PP1, PP2B, influençant la voie ERK via MEK et STEP. À droite, les neurones D2R activent G α i/o, inhibant l'AC et diminuant l'AMPc, réduisant l'activation de la PKA. La signalisation alternative via β -arrestine 2 et PP2A module la voie AKT, affectant GSK-3 α/β , des kinases impliquées dans la plasticité synaptique et la réponse cellulaire à la dopamine. L'ensemble de ces cascades influence les comportements dopaminergiques dépendants du striatum.

©Tirée de (Beaulieu, Gainetdinov et al. 2009)

Les DRD2 sont des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) qui jouent un rôle crucial dans la neurotransmission dopaminergique. Lorsqu'ils sont activés par la dopamine, ces récepteurs subissent une série de processus de régulation impliquant diverses protéines intracellulaires. Initialement, l'activation des DRD2 entraîne leur phosphorylation par des kinases spécifiques des RCPG, appelées GRK (*G protein-coupled receptor kinases*). Cette phosphorylation favorise la liaison des β -arrestines aux récepteurs phosphorylés, ce qui conduit à l'arrêt de l'activation continue des protéines G et initie l'internalisation des récepteurs dans la cellule (Beaulieu, Gainetdinov et al. 2009, Reiter 2021).

Les β -arrestines, en plus de leur rôle dans la désensibilisation des récepteurs, agissent comme des échafaudages pour l'assemblage de complexes protéiques spécifiques. Dans le cas des DRD2, les β -arrestines recrutent la phosphatase PP2A et la kinase AKT pour former un complexe. Cette interaction facilite la déphosphorylation et l'inhibition d'AKT, modulant ainsi les voies de signalisation intracellulaires en réponse à la dopamine dans le striatum (Beaulieu, Gainetdinov et al. 2009, Reiter 2021).

Ainsi, l'activation des DRD2 par la dopamine conduit à la formation d'un complexe impliquant β -arrestine2, PP2A et AKT, qui régule négativement l'activité d'AKT. Ce mécanisme illustre comment les récepteurs dopaminergiques peuvent influencer des voies de signalisation intracellulaires essentielles, telles que la voie PI3K/AKT/mTOR, en réponse à des stimuli externes.

Cependant, afin de saisir pleinement les mécanismes moléculaires entourant l'acquisition de la mémoire motrice, il est primordial d'approfondir davantage nos investigations. Des études ont également établi une corrélation entre mTOR et l'apprentissage moteur au niveau du striatum (Bergeron, Chagniel et al. 2014, Pagani, Barsotti et al. 2021) faisant ainsi de cette protéine une cible idéale pour observer la consolidation au niveau moléculaire dans le striatum.

Les résultats que nous avons obtenus, nous permettent de mettre en relation mTOR et AKT3 ainsi que leur rôle à jouer dans l'apprentissage moteur au niveau du striatum. Nous savons déjà que mTORC2 finalise l'activation d'AKT par la phosphorylation de sa sérine. Il serait intéressant d'étudier l'implication de la dopamine et des DRD2 dans l'activation de ce mécanisme.

La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR joue un rôle essentiel dans la régulation de divers processus cellulaires, notamment la croissance, la survie et la plasticité synaptique, qui sont fondamentaux pour la consolidation de la mémoire motrice. Cependant, cette voie se divise en deux complexes distincts : mTORC1 et mTORC2, chacun ayant des fonctions spécifiques. mTORC1 est principalement impliqué dans la régulation de la synthèse protéique et de la croissance cellulaire, tandis que mTORC2 est associé à l'organisation du cytosquelette et à la survie cellulaire (Szwed, Kim et al. 2021).

Dans le cadre de notre étude, nous avons observé une activation d'AKT3 dans le striatum en réponse à l'apprentissage moteur. Cependant, nos résultats actuels ne permettent pas de déterminer si cette activation favorise la consolidation de la mémoire motrice via mTORC1, mTORC2 ou d'autres effecteurs en aval. Cette distinction est cruciale, car une activation spécifique de mTORC1 pourrait indiquer une augmentation de la synthèse protéique nécessaire à la plasticité synaptique, tandis qu'une activation de mTORC2 pourrait suggérer des modifications du cytosquelette neuronal essentielles à la stabilisation des circuits neuronaux (Querfurth and Lee 2021).

Pour approfondir cette question, des expériences complémentaires pourraient être envisagées. L'utilisation d'inhibiteurs spécifiques de mTORC1 ou mTORC2 permettrait de dissocier leurs contributions respectives à la consolidation de la mémoire motrice. Par exemple, des études ont montré que l'inactivation génétique de mTORC1 ou mTORC2 dans les neurones entraîne des

altérations distinctes des fonctions neuronales, suggérant que ces complexes ont des rôles spécifiques dans le cerveau (McCabe, Cullen et al. 2020).

Par ailleurs, notre étude se concentre sur la signalisation d'AKT3 dans le striatum. Cependant, il est important de noter que d'autres régions des ganglions de la base, telles que le globus pallidus et le noyau sous-thalamique, pourraient également influencer la signalisation d'AKT3 et, par conséquent, la consolidation de la mémoire motrice. Des études antérieures ont mis en évidence que la modulation de la signalisation mTOR dans différentes régions cérébrales peut avoir des effets variés sur les processus cognitifs et moteurs (Querfurth and Lee 2021).

En outre, bien que notre étude n'ait pas spécifiquement exploré le rôle des DRD2 dans la modulation de la signalisation d'AKT, il est reconnu que ces récepteurs peuvent activer la voie PI3K/AKT/mTOR, influençant ainsi la plasticité synaptique et l'apprentissage moteur (Beaulieu and Gainetdinov 2011, Glaviano, Foo et al. 2023). L'exploration de cette interaction pourrait offrir une perspective plus complète sur les mécanismes moléculaires sous-jacents à la consolidation de la mémoire motrice.

Malgré ces limitations, nos résultats apportent des éléments clés sur l'organisation et la fonction des protéines impliquées dans la signalisation d'AKT lors de l'apprentissage moteur. Ils ouvrent la voie à des recherches plus approfondies visant à préciser les mécanismes sous-jacents à la consolidation de la mémoire motrice et à identifier de potentielles cibles thérapeutiques pour les troubles affectant la plasticité synaptique et le contrôle moteur.

ANNEXE 1

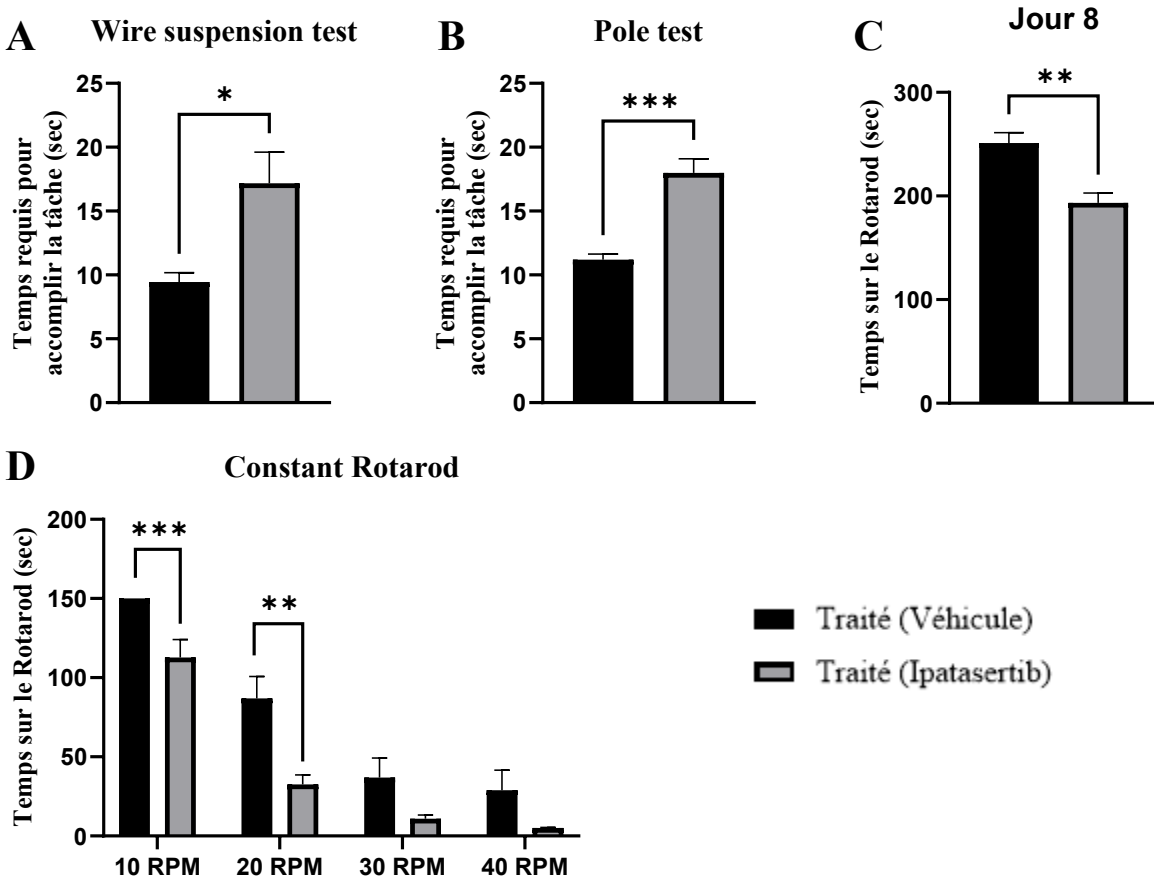


Figure 24 | L'effet de l'inhibition d'AKT via Ipatasertib, lors d'un traitement aigu, sur les tests d'habilités motrices

A, B. Les données représentent le temps total moyen requis pour compléter chaque essai. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm S.E.M. $n = 6$ souris/groupe. Les analyses statistiques ont été réalisées par un test de Student. **C.** Le temps sur le rotarod accéléré avant de tomber des souris uniquement traitées une heure avant l'entraînement au jour 8 avec le véhicule (0,5 % de méthylcellulose/0,2 % de Tween 80, $n = 6$) ou l'inhibiteur d'AKT (Ipatasertib, 100 mg/kg, $n = 6$). Les données représentent la moyenne \pm S.E.M. $n = 6$ souris/groupe. L'analyse statistique a été réalisée par le test de Kolmogorov Smirnov. **D.** Le temps sur le rotarod constant avant de tomber des souris traitées avec le véhicule (0,5 % de méthylcellulose/0,2 % de Tween 80, $n = 6$) ou l'inhibiteur d'AKT (Ipatasertib, 100 mg/kg, $n = 6$). Les données sont exprimées en moyenne \pm S.E.M. $n = 6$ souris/groupe. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide d'un test de Student multiple non apparié.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alshaer, W., H. Zureigat, A. Al Karaki, A. Al-Kadash, L. Gharaibeh, M. m. M. Hatmal, A. A. A. Aljabali and A. Awidi (2021). "siRNA: Mechanism of action, challenges, and therapeutic approaches." European Journal of Pharmacology **905**: 174178.
- Baladron, J., J. Vitay, T. Fietzek and F. H. Hamker (2023). "The contribution of the basal ganglia and cerebellum to motor learning: A neuro-computational approach." PLOS Computational Biology **19**(4): e1011024.
- Balsters, J. H., V. Zerbi, J. Sallet, N. Wenderoth and R. B. Mars (2020). "Primate homologs of mouse cortico-striatal circuits." eLife **9**: e53680.
- Barnes, T. D., Y. Kubota, D. Hu, D. Z. Jin and A. M. Graybiel (2005). "Activity of striatal neurons reflects dynamic encoding and recoding of procedural memories." Nature **437**(7062): 1158-1161.
- Beaulieu, J.-M. and R. R. Gainetdinov (2011). "The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors." Pharmacological Reviews **63**(1): 182-217.
- Beaulieu, J. M., R. R. Gainetdinov and M. G. Caron (2009). "AKT/GSK3 signaling in the action of psychotropic drugs." Annu Rev Pharmacol Toxicol **49**: 327-347.
- Beaulieu, J. M., E. Tirotta, T. D. Sotnikova, B. Masri, A. Salahpour, R. R. Gainetdinov, E. Borrelli and M. G. Caron (2007). "Regulation of AKT signaling by D2 and D3 dopamine receptors in vivo." J Neurosci **27**(4): 881-885.

- Bergeron, Y., G. Bureau, M. E. Laurier-Laurin, E. Asselin, G. Massicotte and M. Cyr (2017). "Genetic Deletion of AKT3 Induces an Endophenotype Reminiscent of Psychiatric Manifestations in Mice." Front Mol Neurosci **10**: 102.
- Bergeron, Y., L. Chagniel, G. Bureau, G. Massicotte and M. Cyr (2014). "mTOR signaling contributes to motor skill learning in mice." Front Mol Neurosci **7**: 26.
- Bhuiyan, P. S., L. Rajgopal and K. Shyamkishore (2017). Inderbir Singh's Textbook of Human Neuroanatomy: (Fundamental & Clinical), Jaypee Brothers Medical Publishers Pvt. Limited.
- Bisaz, R., A. Travaglia and C. M. Alberini (2014). "The neurobiological bases of memory formation: from physiological conditions to psychopathology." Psychopathology **47**(6): 347-356.
- Blake, J. F., R. Xu, J. R. Bencsik, D. Xiao, N. C. Kallan, S. Schlachter, I. S. Mitchell, K. L. Spencer, A. L. Banka, E. M. Wallace, S. L. Gloor, M. Martinson, R. D. Woessner, G. P. Vigers, B. J. Brandhuber, J. Liang, B. S. Safina, J. Li, B. Zhang, C. Chabot, S. Do, L. Lee, J. Oeh, D. Sampath, B. B. Lee, K. Lin, B. M. Liederer and N. J. Skelton (2012). "Discovery and preclinical pharmacology of a selective ATP-competitive AKT inhibitor (GDC-0068) for the treatment of human tumors." J. Med. Chem. **55**: 8110.
- Blumenstock, S. and I. Dudanova (2020). "Cortical and Striatal Circuits in Huntington's Disease." Front Neurosci **14**: 82.
- Bouet, V., T. Freret, J. Toutain, D. Divoux, M. Boulouard and P. Schumann-Bard (2007). "Sensorimotor and cognitive deficits after transient middle cerebral artery occlusion in the mouse." Exp Neurol **203**(2): 555-567.

- Bouyeure, A. and M. Noulhiane (2020). Chapter 17 - Memory: Normative development of memory systems. Handbook of Clinical Neurology. A. Gallagher, C. Bulteau, D. Cohen and J. L. Michaud, Elsevier. **173**: 201-213.
- Bramham, C. R. and D. G. Wells (2007). "Dendritic mRNA: transport, translation and function." Nat Rev Neurosci **8**(10): 776-789.
- Brasted, P. J. and S. P. Wise (2004). "Comparison of learning-related neuronal activity in the dorsal premotor cortex and striatum." Eur J Neurosci **19**(3): 721-740.
- Buckingham, L., T. Hao, J. O'Donnell, Z. Zhao, X. Zhang, Y. Fan, W. Sun, Y. Zhang, H. Suo, A. A. Secord, C. Zhou and V. Bae-Jump (2022). "Ipatasertib, an oral AKT inhibitor, inhibits cell proliferation and migration, and induces apoptosis in serous endometrial cancer." Am J Cancer Res **12**(6): 2850-2862.
- Buitrago, M. M., J. B. Schulz, J. Dichgans and A. R. Luft (2004). "Short and long-term motor skill learning in an accelerated rotarod training paradigm." Neurobiol Learn Mem **81**(3): 211-216.
- Bureau, G., M. Carrier, M. Lebel and M. Cyr (2010). "Intrastriatal inhibition of extracellular signal-regulated kinases impaired the consolidation phase of motor skill learning." Neurobiol Learn Mem **94**(1): 107-115.
- Cabeza, R. and M. Moscovitch (2013). "Memory Systems, Processing Modes, and Components: Functional Neuroimaging Evidence." Perspect Psychol Sci **8**(1): 49-55.
- Casella, M. and Y. Al Khalili (2023). Short-Term Memory Impairment. StatPearls. Treasure Island (FL), StatPearls Publishing

- Cataldi, S., A. T. Stanley, M. C. Miniaci and D. Sulzer (2022). "Interpreting the role of the striatum during multiple phases of motor learning." FEBS J **289**(8): 2263-2281.
- Cepeda, C., K. P. Murphy, M. Parent and M. S. Levine (2014). "The role of dopamine in Huntington's disease." Prog Brain Res **211**: 235-254.
- Chagniel, L., Y. Bergeron, G. Bureau, G. Massicotte and M. Cyr (2014). "Regulation of tyrosine phosphatase STEP61 by protein kinase A during motor skill learning in mice." PLoS One **9**(1): e86988.
- Chagniel, L., C. Robitaille, C. Lacharite-Mueller, G. Bureau and M. Cyr (2012). "Partial dopamine depletion in MPTP-treated mice differentially altered motor skill learning and action control." Behav Brain Res **228**(1): 9-15.
- Chen, K., Y. Zheng, J. A. Wei, H. Ouyang, X. Huang, F. Zhang, C. S. W. Lai, C. Ren, K. F. So and L. Zhang (2019). "Exercise training improves motor skill learning via selective activation of mTOR." Sci Adv **5**(7): eaaw1888.
- Chloca, F. (2018). Chapter 2 - The motor system. Smart Wheelchairs and Brain-Computer Interfaces. P. Diez, Academic Press: 23-32.
- Cho, H., J. Mu, J. K. Kim, J. L. Thorvaldsen, Q. Chu, E. B. Crenshaw, 3rd, K. H. Kaestner, M. S. Bartolomei, G. I. Shulman and M. J. Birnbaum (2001). "Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase AKT2 (PKB beta)." Science **292**(5522): 1728-1731.
- Chong, Z. Z., Y. C. Shang, S. Wang and K. Maiese (2012). "A Critical Kinase Cascade in Neurological Disorders: PI 3-K, AKT, and mTOR." Future Neurol **7**(6): 733-748.
- Chuhma, N., S. Mingote, A. Kalmbach, L. Yetnikoff and S. Rayport (2017). "Heterogeneity in Dopamine Neuron Synaptic Actions Across the Striatum and Its Relevance for Schizophrenia." Biol Psychiatry **81**(1): 43-51.

- Costa-Mattioli, M., W. S. Sossin, E. Klann and N. Sonenberg (2009). "Translational control of long-lasting synaptic plasticity and memory." Neuron **61**(1): 10-26.
- Cyr, M., A.-S. Allain and B. Ouimet (2019). "AKT3/GSK-3 signalling pathway regulates motor learning in mice." IBRO Reports **6**: S203.
- D'Amours, G., G. Bureau, M. J. Boily and M. Cyr (2011). "Differential gene expression profiling in the mouse brain during motor skill learning: focus on the striatum structure." Behav Brain Res **221**(1): 108-117.
- De Zeeuw, C. I. and M. M. Ten Brinke (2015). "Motor Learning and the Cerebellum." Cold Spring Harb Perspect Biol **7**(9): a021683.
- Del'Guidice, T. and J. M. Beaulieu (2010). "[Psychotropic drugs and the involvement of the AKT/GSK3 signalling pathway in mental illnesses]." Med Sci (Paris) **26**(6-7): 647-651.
- DeLong, M. R. and T. Wichmann (2007). "Circuits and Circuit Disorders of the Basal Ganglia." Archives of Neurology **64**(1): 20-24.
- Dhawale, A. K., S. B. E. Wolff, R. Ko and B. P. Ölveczky (2021). "The basal ganglia control the detailed kinematics of learned motor skills." Nat Neurosci **24**(9): 1256-1269.
- Diez, H., J. J. Garrido and F. Wandosell (2012). "Specific roles of AKT iso forms in apoptosis and axon growth regulation in neurons." PLoS One **7**(4): e32715.
- Doeppner, T. R., B. Kaltwasser, M. Bahr and D. M. Hermann (2014). "Effects of neural progenitor cells on post-stroke neurological impairment-a detailed and comprehensive analysis of behavioral tests." Front Cell Neurosci **8**: 338.
- Donaldson, I., C. D. Marsden, S. Schneider and K. Bhatia (2012). Marsden's Book of Movement Disorders, Oxford University Press.
- Dorchies, O. M., J. Reutenauer-Patte, E. Dahmane, H. M. Ismail, O. Petermann, O. Patthey-Vuadens, S. A. Comyn, E. Gayi, T. Piacenza, R. J. Handa, L. A. Décosterd and U. T.

- Ruegg (2013). "The anticancer drug tamoxifen counteracts the pathology in a mouse model of duchenne muscular dystrophy." Am J Pathol **182**(2): 485-504.
- Doyon, J., P. Bellec, R. Amsel, V. Penhune, O. Monchi, J. Carrier, S. Lehericy and H. Benali (2009). "Contributions of the basal ganglia and functionally related brain structures to motor learning." Behav Brain Res **199**(1): 61-75.
- Doyon, J. and H. Benali (2005). "Reorganization and plasticity in the adult brain during learning of motor skills." Curr Opin Neurobiol **15**(2): 161-167.
- Doyon, J., P. Orban, M. Barakat, K. Debas, O. Lungu, G. Albouy, S. Fogel, S. Proulx, S. Laventure, J. Deslauriers, C. Duchesne, J. Carrier and H. Benali (2011). "[Functional brain plasticity associated with motor learning]." Med Sci (Paris) **27**(4): 413-420.
- Easton, R. M., H. Cho, K. Roovers, D. W. Shineman, M. Mizrahi, M. S. Forman, V. M. Lee, M. Szabolcs, R. de Jong, T. Oltersdorf, T. Ludwig, A. Efstratiadis and M. J. Birnbaum (2005). "Role for AKT3/protein kinase Bgamma in attainment of normal brain size." Mol Cell Biol **25**(5): 1869-1878.
- Elghazi, L., N. Balcazar and E. Bernal-Mizrachi (2006). "Emerging role of protein kinase B/AKT signaling in pancreatic β -cell mass and function." The International Journal of Biochemistry & Cell Biology **38**(5): 689-695.
- Fabbrin, S. B., B. A. Girardi, A. de Lorena Wendel, C. Coelho Ilha Valin, M. M. Pillat, F. T. Viero, C. F. Mello and M. A. Rubin (2020). "Spermidine-induced improvement of memory consolidation involves PI3K/AKT signaling pathway." Brain Res Bull **164**: 208-213.
- Feld, G. B. and J. Born (2012). Chapter 9 - Sleep EEG Rhythms and System Consolidation of Memory. Sleep and Brain Activity. M. G. Frank. San Diego, Academic Press: 187-226.
- Ferrier, D. (1887). "The Functions of the Brain." Journal of the American Medical Association **VIII**(16): 447-447.

- Gagnon, D., S. Petryszyn, M. G. Sanchez, C. Bories, J. M. Beaulieu, Y. De Koninck, A. Parent and M. Parent (2017). "Striatal Neurons Expressing D1 and D2 Receptors are Morphologically Distinct and Differently Affected by Dopamine Denervation in Mice." Sci Rep **7**: 41432.
- Garofalo, R. S., S. J. Orena, K. Rafidi, A. J. Torchia, J. L. Stock, A. L. Hildebrandt, T. Coskran, S. C. Black, D. J. Brees, J. R. Wicks, J. D. McNeish and K. G. Coleman (2003). "Severe diabetes, age-dependent loss of adipose tissue, and mild growth deficiency in mice lacking AKT2/PKB beta." J Clin Invest **112**(2): 197-208.
- George, S., J. J. Rochford, C. Wolfrum, S. L. Gray, S. Schinner, J. C. Wilson, M. A. Soos, P. R. Murgatroyd, R. M. Williams, C. L. Acerini, D. B. Dunger, D. Barford, A. M. Umpleby, N. J. Wareham, H. A. Davies, A. J. Schafer, M. Stoffel, S. O'Rahilly and I. Barroso (2004). "A family with severe insulin resistance and diabetes due to a mutation in AKT2." Science **304**(5675): 1325-1328.
- Ghoneum, A. and N. Said (2019). "PI3K-AKT-mTOR and NFκB Pathways in Ovarian Cancer: Implications for Targeted Therapeutics." Cancers **11**(7): 949.
- Giacosa, C., F. J. Karpati, N. E. Foster, V. B. Penhune and K. L. Hyde (2016). "Dance and music training have different effects on white matter diffusivity in sensorimotor pathways." Neuroimage **135**: 273-286.
- Glaviano, A., A. S. C. Foo, H. Y. Lam, K. C. H. Yap, W. Jacot, R. H. Jones, H. Eng, M. G. Nair, P. Makvandi, B. Geoerger, M. H. Kulke, R. D. Baird, J. S. Prabhu, D. Carbone, C. Pecoraro, D. B. L. Teh, G. Sethi, V. Cavalieri, K. H. Lin, N. R. Javidi-Sharifi, E. Toska, M. S. Davids, J. R. Brown, P. Diana, J. Stebbing, D. A. Fruman and A. P. Kumar (2023). "PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer." Mol Cancer **22**(1): 138.

- Gong, W. K., J. Ni, L. F. Yu, L. Wang and Z. L. Huang (2020). "Temporal dynamics of Arc/Arg3.1 expression in the dorsal striatum during acquisition and consolidation of a motor skill in mice." Neurobiol Learn Mem **168**: 107156.
- Govindarajan, A., R. J. Kelleher and S. Tonegawa (2006). "A clustered plasticity model of long-term memory engrams." Nat Rev Neurosci **7**(7): 575-583.
- Groenewegen, H. J. (2003). "The basal ganglia and motor control." Neural Plast **10**(1-2): 107-120.
- Hall, B., A. Limaye and A. B. Kulkarni (2009). "Overview: generation of gene knockout mice." Curr Protoc Cell Biol **Chapter 19**: Unit 19.12 19.12.11-17.
- Hintiryan, H., N. N. Foster, I. Bowman, M. Bay, M. Y. Song, L. Gou, S. Yamashita, M. S. Bienkowski, B. Zingg, M. Zhu, X. W. Yang, J. C. Shih, A. W. Toga and H. W. Dong (2016). "The mouse cortico-striatal projectome." Nat Neurosci **19**(8): 1100-1114.
- Hoffman, E. and S. J. Winder (2016). "A Modified Wire Hanging Apparatus for Small Animal Muscle Function Testing." PLoS Curr **8**.
- Hörnschemeyer, J., T. Kirschstein, G. Reichart, C. Sasse, J. Venus, A. Einsle, K. Porath, M. Linnebacher, R. Köhling and F. Lange (2022). "Studies on Biological and Molecular Effects of Small-Molecule Kinase Inhibitors on Human Glioblastoma Cells and Organotypic Brain Slices." Life (Basel) **12**(8).
- Horwood, J. M., F. Dufour, S. Laroche and S. Davis (2006). "Signalling mechanisms mediated by the phosphoinositide 3-kinase/AKT cascade in synaptic plasticity and memory in the rat." Eur J Neurosci **23**(12): 3375-3384.
- Huang, J., L. Chen, J. Wu, D. Ai, J.-Q. Zhang, T.-G. Chen and L. Wang (2022). "Targeting the PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway in the Treatment of Human Diseases: Current Status, Trends, and Solutions." Journal of Medicinal Chemistry **65**(24): 16033-16061.

- Hull, C. (2020). "Prediction signals in the cerebellum: Beyond supervised motor learning." eLife **9**: e54073.
- Ippen, F. M., J. K. Grosch, M. Subramanian, B. M. Kuter, B. M. Liederer, E. G. Plise, J. L. Mora, N. Nayyar, S. P. Schmidt, A. Giobbie-Hurder, M. Martinez-Lage, S. L. Carter, D. P. Cahill, H. Wakimoto and P. K. Brastianos (2019). "Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway with the pan-AKT inhibitor GDC-0068 in PIK3CA-mutant breast cancer brain metastases." Neuro Oncol **21**(11): 1401-1411.
- Jaffard, R. (2011). "La mémoire déclarative et le modèle de Squire." Revue de neuropsychologie **3**(2): 83-93.
- Kelleher, R. J., 3rd, A. Govindarajan and S. Tonegawa (2004). "Translational regulatory mechanisms in persistent forms of synaptic plasticity." Neuron **44**(1): 59-73.
- Kim, P. (s.d.). "Basal ganglia". Kenhub. <https://www.kenhub.com/en/study/anatomy-basal-ganglia>
- Koch, E. T. and L. A. Raymond (2019). "Dysfunctional striatal dopamine signaling in Huntington's disease." J Neurosci Res **97**(12): 1636-1654.
- Kolb, B., I. Q. Whishaw, G. C. Teskey, M. H. Canu, E. Dupont, M. Noulhiane and N. N. Linares (2019). Cerveau et comportement, De Boeck supérieur.
- Kommaddi, R. P., R. Gowaikar, A. H. P, L. Diwakar, K. Singh and A. Mondal (2024). "AKT activation ameliorates deficits in hippocampal-dependent memory and activity-dependent synaptic protein synthesis in an Alzheimer's disease mouse model." J Biol Chem **300**(2): 105619.
- Kropotov, J. D. (2009). Chapter 14 - Memory Systems. Quantitative EEG, Event-Related Potentials and Neurotherapy. J. D. Kropotov. San Diego, Academic Press: 310-324.

- Lanciego, J. L., N. Luquin and J. A. Obeso (2012). "Functional neuroanatomy of the basal ganglia." *Cold Spring Harb Perspect Med* **2**(12): a009621.
- Lazaro, G., E. Kostaras and I. Vivanco (2020). "Inhibitors in AKTion: ATP-competitive vs allosteric." *Biochem. Soc. Trans.* **48**: 933.
- Lee, C., Y. Kim and B.-K. Kaang (2022). "The Primary Motor Cortex: The Hub of Motor Learning in Rodents." *Neuroscience* **485**: 163-170.
- Lee, J. and M. R. Muzio (2023). *Neuroanatomy, Extrapyramidal System. StatPearls. Treasure Island (FL), StatPearls Publishing*
- Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.
- Levenga, J., H. Wong, R. A. Milstead, B. N. Keller, L. E. LaPlante and C. A. Hoeffler (2017). "AKT isoforms have distinct hippocampal expression and roles in synaptic plasticity." *Elife* **6**.
- Lin, J., D. Sampath, M. A. Nannini, B. B. Lee, M. Degtyarev, J. Oeh, H. Savage, Z. Guan, R. Hong, R. Kassees, L. B. Lee, T. Risom, S. Gross, B. M. Liederer, H. Koeppen, N. J. Skelton, J. J. Wallin, M. Belvin, E. Punnoose, L. S. Friedman and K. Lin (2013). "Targeting activated AKT with GDC-0068, a novel selective AKT inhibitor that is efficacious in multiple tumor models." *Clin Cancer Res* **19**(7): 1760-1772.
- Lin, K., J. Lin, W. I. Wu, J. Ballard, B. B. Lee, S. L. Gloor, G. P. A. Vigers, T. H. Morales, L. S. Friedman, N. J. Skelton and B. J. Brandhuber (2012). "An ATP-site on-off switch that restricts phosphatase accessibility of AKT." *Sci. Signaling* **5**: ra37.
- Linnerth-Petrik, N. M., L. A. Santry, R. Moorehead, M. Jücker, S. K. Wootton and J. Petrik (2016). "AKT isoform specific effects in ovarian cancer progression." *Oncotarget* **7**(46): 74820-74833.

- Lipton, D. M., B. J. Gonzales and A. Citri (2019). "Dorsal Striatal Circuits for Habits, Compulsions and Addictions." *Front Syst Neurosci* **13**: 28.
- Llinás, R. R. (2001). *I of the Vortex: From Neurons to Self*, The MIT Press.
- Long, H. Z., Y. Cheng, Z. W. Zhou, H. Y. Luo, D. D. Wen and L. C. Gao (2021). "PI3K/AKT Signal Pathway: A Target of Natural Products in the Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease." *Front Pharmacol* **12**: 648636.
- Luft, A. R. and M. M. Buitrago (2005). "Stages of motor skill learning." *Mol Neurobiol* **32**(3): 205-216.
- Manning, B. D. and L. C. Cantley (2007). "AKT/PKB signaling: navigating downstream." *Cell* **129**(7): 1261-1274.
- Manning, B. D. and A. Toker (2017). "AKT/PKB signaling: navigating the network." *Cell* **169**: 381.
- Matsuura, K., H. Kabuto, H. Makino and N. Ogawa (1997). "Pole test is a useful method for evaluating the mouse movement disorder caused by striatal dopamine depletion." *J Neurosci Methods* **73**(1): 45-48.
- McCabe, M. P., E. R. Cullen, C. M. Barrows, A. N. Shore, K. I. Tooke, K. A. Laprade, J. M. Stafford and M. C. Weston (2020). "Genetic inactivation of mTORC1 or mTORC2 in neurons reveals distinct functions in glutamatergic synaptic transmission." *eLife* **9**: e51440.
- Mergenthaler, P., U. Lindauer, G. A. Dienel and A. Meisel (2013). "Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function." *Trends Neurosci* **36**(10): 587-597.
- Morton, S. M. and A. J. Bastian (2006). "Cerebellar contributions to locomotor adaptations during splitbelt treadmill walking." *J Neurosci* **26**(36): 9107-9116.

- Muellbacher, W., U. Ziemann, J. Wissel, N. Dang, M. Kofler, S. Facchini, B. Boroojerdi, W. Poewe and M. Hallett (2002). "Early consolidation in human primary motor cortex." *Nature* **415**(6872): 640-644.
- Nitulescu, G. M., D. Margina, P. Juzenas, Q. Peng, O. T. Olaru, E. Saloustros, C. Fenga, D. Spandidos, M. Libra and A. M. Tsatsakis (2016). "AKT inhibitors in cancer treatment: The long journey from drug discovery to clinical use (Review)." *Int J Oncol* **48**(3): 869-885.
- Ogawa, N., Y. Hirose, S. Ohara, T. Ono and Y. Watanabe (1985). "A simple quantitative bradykinesia test in MPTP-treated mice." *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* **50**(3): 435-441.
- Ouimet, B., E. Pepin, Y. Bergeron, L. Chagniel, J. M. Beaulieu, G. Massicotte and M. Cyr (2019). "Motor learning deficits and striatal GSK-3 hyperactivity in AKT3 knockout mice." *Behav Neurosci* **133**(1): 135-143.
- Pagani, M., N. Barsotti, A. Bertero, S. Trakoshis, L. Ulysse, A. Locarno, I. Miseviciute, A. De Felice, C. Canella, K. Supekar, A. Galbusera, V. Menon, R. Tonini, G. Deco, M. V. Lombardo, M. Pasqualetti and A. Gozzi (2021). "mTOR-related synaptic pathology causes autism spectrum disorder-associated functional hyperconnectivity." *Nature Communications* **12**(1): 6084.
- Pardridge, W. M. (2012). "Drug transport across the blood-brain barrier." *J Cereb Blood Flow Metab* **32**(11): 1959-1972.
- Peak, J., G. Hart and B. W. Balleine (2019). "From learning to action: the integration of dorsal striatal input and output pathways in instrumental conditioning." *Eur J Neurosci* **49**(5): 658-671.
- Peters, S. and E. A. Crone (2017). "Increased striatal activity in adolescence benefits learning." *Nat Commun* **8**(1): 1983.

Pirbhoy, P. S., S. Farris and O. Steward (2017). "Synaptically driven phosphorylation of ribosomal protein S6 is differentially regulated at active synapses versus dendrites and cell bodies by MAPK and PI3K/mTOR signaling pathways." *Learn Mem* **24**(8): 341-357.

PubChem. (2023). "Compound Summary for CID 24788740, Ipatasertib." Retrieved July 24, 2023, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ipatasertib>.

Quam, C., A. Wang, W. T. Maddox, K. Golisch and A. Lotto (2018). "Procedural-Memory, Working-Memory, and Declarative-Memory Skills Are Each Associated With Dimensional Integration in Sound-Category Learning." *Frontiers in Psychology* **9**.

Querfurth, H. and H. K. Lee (2021). "Mammalian/mechanistic target of rapamycin (mTOR) complexes in neurodegeneration." *Mol. Neurodegener.* **16**: 44.

Rabe, K., O. Livne, E. R. Gizewski, V. Aurich, A. Beck, D. Timmann and O. Donchin (2009). "Adaptation to visuomotor rotation and force field perturbation is correlated to different brain areas in patients with cerebellar degeneration." *J Neurophysiol* **101**(4): 1961-1971.

Reiter, E. (2021). "[β -arrestins, their mechanisms of action and multiple roles in the biology of G protein-coupled receptors]." *Biol Aujourd'hui* **215**(3-4): 107-118.

Ring, H. A. and J. Serra-Mestres (2002). "Neuropsychiatry of the basal ganglia." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **72**(1): 12-21.

Ruiz-Saenz, A., C. Dreyer, M. R. Campbell, V. Steri, N. Gulizia and M. M. Moasser (2018). "HER2 Amplification in Tumors Activates PI3K/AKT Signaling Independent of HER3." *Cancer Res* **78**(13): 3645-3658.

Sanes, J. N. (2000). "Motor cortex rules for learning and memory." *Curr Biol* **10**(13): R495-497.

Santini, E., T. N. Huynh and E. Klann (2014). "Mechanisms of translation control underlying long-lasting synaptic plasticity and the consolidation of long-term memory." *Prog Mol Biol Transl Sci* **122**: 131-167.

- Schaar, K. L., M. M. Brenneman and S. I. Savitz (2010). "Functional assessments in the rodent stroke model." *Exp Transl Stroke Med* **2**(1): 13.
- Seger, C. A. and C. M. Cincotta (2002). "Striatal activity in concept learning." *Cogn Affect Behav Neurosci* **2**(2): 149-161.
- Shiflett, M. W. and B. W. Balleine (2011). "Contributions of ERK signaling in the striatum to instrumental learning and performance." *Behav Brain Res* **218**(1): 240-247.
- Shiflett, M. W. and B. W. Balleine (2011). "Molecular substrates of action control in cortico-striatal circuits." *Prog Neurobiol* **95**(1): 1-13.
- Shiotsuki, H., K. Yoshimi, Y. Shimo, M. Funayama, Y. Takamatsu, K. Ikeda, R. Takahashi, S. Kitazawa and N. Hattori (2010). "A rotarod test for evaluation of motor skill learning." *J Neurosci Methods* **189**(2): 180-185.
- Szpunar, K. K. and J. C. K. Chan (2018). "Beyond communication: Episodic memory is key to the self in time." *Behavioral and Brain Sciences* **41**: e33.
- Szwed, A., E. Kim and E. Jacinto (2021). "Regulation and metabolic functions of mTORC1 and mTORC2." *Physiol Rev* **101**(3): 1371-1426.
- Thibault, D., C. Kortleven, C. Fasano, G. Dal Bo and L. E. Trudeau (2010). "[Recent discoveries on the function and plasticity of central dopamine pathways]." *Med Sci (Paris)* **26**(2): 165-170.
- Tiu, C., L. Welsh, T. Jones, A. Zachariou, T. Prout, A. Turner, R. Daly, N. Tunariu, R. Riisnaes, B. Gurel, M. Crespo, S. Carreira, I. Vivanco, B. Jenkins, C. Yap, A. Minchom, U. Banerji, J. deBono and J. Lopez (2021). "Preliminary evidence of antitumour activity of Ipatasertib (Ipat) and Atezolizumab (ATZ) in glioblastoma patients (pts) with PTEN loss from the Phase 1 Ice-CAP trial (NCT03673787)." *Neuro-Oncology* **23**(Supplement_4): iv10-iv10.

- Turner, R. S. and M. Desmurget (2010). "Basal ganglia contributions to motor control: a vigorous tutor." *Curr Opin Neurobiol* **20**(6): 704-716.
- Ullman, M. T. (2016). Chapter 76 - The Declarative/Procedural Model: A Neurobiological Model of Language Learning, Knowledge, and Use. *Neurobiology of Language*. G. Hickok and S. L. Small. San Diego, Academic Press: 953-968.
- Ungerleider, L. G., J. Doyon and A. Karni (2002). "Imaging brain plasticity during motor skill learning." *Neurobiol Learn Mem* **78**(3): 553-564.
- van Gaalen, J. and B. P. van de Warrenburg (2012). "A practical approach to late-onset cerebellar ataxia: putting the disorder with lack of order into order." *Pract Neurol* **12**(1): 14-24.
- Wachter, T., S. Rohrich, A. Frank, K. Molina-Luna, A. Pekanovic, B. Hertler, M. Schubring-Giese and A. R. Luft (2010). "Motor skill learning depends on protein synthesis in the dorsal striatum after training." *Exp Brain Res* **200**(3-4): 319-323.
- Wang, Y., G. Zhu, V. Briz, Y. T. Hsu, X. Bi and M. Baudry (2014). "A molecular brake controls the magnitude of long-term potentiation." *Nat Commun* **5**: 3051.
- Wong, H., J. Levenga, L. LaPlante, B. Keller, A. Cooper-Sansone, C. Borski, R. Milstead, M. Ehringer and C. Hoeffler (2020). "Isoform-specific roles for AKT in affective behavior, spatial memory, and extinction related to psychiatric disorders." *eLife* **9**: e56630.
- Yanagisawa, N. (2018). "Functions and dysfunctions of the basal ganglia in humans." *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* **94**(7): 275-304.
- Yin, H. H., S. P. Mulcare, M. R. Hilario, E. Clouse, T. Holloway, M. I. Davis, A. C. Hansson, D. M. Lovinger and R. M. Costa (2009). "Dynamic reorganization of striatal circuits during the acquisition and consolidation of a skill." *Nat Neurosci* **12**(3): 333-341.

Yu, J. S. and W. Cui (2016). "Proliferation, survival and metabolism: the role of PI3K/AKT/mTOR signalling in pluripotency and cell fate determination." *Development* **143**: 3050.