

Aix-Marseille Université  
École doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé

---

## **Thèse de Doctorat**

présentée et soutenue publiquement par

**Lamine Bouamrane**

Le 15 Décembre 2015

en vue de l'obtention du grade de  
Docteur de l'Université d'Aix Marseille  
Spécialité Neurosciences

# **Dysfonctionnements préfrontaux et pharmacothérapies dans des modèles murins de maladies psychiatriques.**

### Membres du Jury

Pr. Claudio RIVERA	Université Aix-Marseille	Président du jury
Pr. René GARCIA	Université Nice Sophia Antipolis	Rapporteur
Dr. Manuel MAMELI	Université Pierre et Marie Curie de Paris	Rapporteur
Dr. Yves JOSSIN	Université Catholique de Louvain	Examineur
Dr. Pascale CHAVIS	Université Aix-Marseille	Directrice de thèse

---

INMED-INSERM UMR901  
Institut de Neurobiologie de la Méditerranée



## **Remerciements**

Je tiens d'abord à remercier le Dr. Pascale Chavis pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et initié aux techniques d'électrophysiologies et d'imageries utilisées durant ma thèse. Je la remercie également pour ses apports scientifiques et culturels, et pour son soutien tant scientifique, que psychologique et financier.

Je remercie le Pr. René Garcia et le Dr. Manuel Mameli d'avoir accepté la lourde tâche d'être les rapporteurs de cette thèse. Je remercie également le Dr. Yves Jossin d'être examinateur de mon travail de thèse et le Pr. Claudio Rivera d'avoir accepté d'être le président de mon jury. Je suis très honoré de leur présence dans mon jury de thèse.

Je remercie ensuite tous les membres du laboratoire avec qui j'ai partagé ces cinq dernières années. Merci aux deux piliers de l'équipe, Olivier et Olivier. Je remercie également Anissa, Antonia, les deux Marion, et Séverine.

Un grand merci à Robin et Emmanuelle, mes partenaires de rédaction, vous être une seconde famille pour moi. Un énorme merci à Fanny, pour avoir pris soin de moi et m'avoir supporté (dans les deux sens du terme), je n'oublierai jamais ça.

Je remercie le Dr. Alfonso REPRESA, le directeur de l'Institut de Neurobiologie de la Méditerranée (INMED) pour m'avoir fait confiance au début de mon master 2 et sans qui je n'aurais peut-être pas pu réaliser ce travail de thèse. Merci également à tous les membres de l'INMED que j'ai eu le plaisir de côtoyer pendant ces années. Je pense en particulier à Bahija, Morgane, Lauriane, Nazim, Axel, Philippes, Jillian, Daniella et Aurore.

Merci enfin à tous ceux qui ont permis que ce travail soit possible, à commencer par mes parents et ma sœur qui ont toujours cru en moi.

Finalement, je remercie toutes les nombreuses personnes avec qui j'ai pu avoir d'intéressantes discussions scientifiques ou philosophiques ayant d'une façon ou d'une autre changé ma vision des choses de manière durable et d'avoir fait de moi la personne que je suis maintenant.

## Résumé

La pathogénèse des maladies psychiatriques met en jeu des interactions entre différents facteurs génétiques et environnementaux. Par ailleurs, l'une des caractéristiques communes des maladies psychiatriques telles que la schizophrénie et les troubles de l'humeur est une dysfonction du cortex préfrontal (PFC). Le PFC est impliqué dans les fonctions cognitives et exécutives et présente la particularité remarquable d'être la dernière structure du cerveau à atteindre la maturité. Il a été proposé que des anomalies survenant durant la maturation postnatale du PFC augmentent la vulnérabilité aux maladies psychiatriques. Le but de mon travail de thèse a été d'étudier l'effet sur le développement postnatal du PFC de deux facteurs qui participeraient à l'étiologie de diverses maladies psychiatriques : un facteur génétique, le gène *reelin* qui code une protéine de la matrice extracellulaire, et un facteur environnemental, l'isolement social. Nous avons décrit le phénotype de trois modèles de maladies psychiatriques : l'haploinsuffisance en *reelin*, l'isolement social de souris sauvages et l'isolement social de souris haploinsuffisantes en *reelin*. Ce travail a permis d'identifier à l'âge adulte des défauts spécifiquement dus à l'haploinsuffisance en *reelin* ou à l'isolement social, et d'autres dus à l'interaction de ces deux atteintes. Mon travail de thèse montre que les souris haploinsuffisantes en *reelin* et les souris sauvages ayant subi le stress d'un isolement social présentent des défauts de maturation morpho-fonctionnelle des circuits glutamatergiques et GABAergiques du PFC. Ces dysfonctionnements synaptiques sont corrélés à des altérations de la mémoire de peur ou de la mémoire de récence. D'autre part, nous avons montré que des taux réduits de *reelin* aggravent les effets néfastes de l'isolement social. La caractérisation des défauts synaptiques et comportementaux dus à l'haploinsuffisance en *reelin* ou à l'isolement social nous a permis de proposer des pistes thérapeutiques. Nous avons montré qu'un traitement aigu à l'aide d'antagonistes des récepteurs de type NMDA au stade juvénile ou d'antagoniste des récepteurs glucocorticoïdes au stade adulte réparent les dysfonctionnements structuraux, fonctionnels et comportementaux. L'ensemble de mes travaux renforce le lien entre le gène *reelin*, l'environnement social et l'étiologie de certaines maladies psychiatriques, et ouvrent ainsi des perspectives sur la compréhension de la physiopathologie de ces maladies et leur traitement.

## **Abstract**

The pathogenesis of psychiatric diseases involves interactions between multiple genetic and environmental factors. Dysfunctions of the PFC are also a hallmark feature of numerous neuropsychiatric diseases including schizophrenia and mood disorders. The PFC is involved in cognitive and executive functions and has the remarkable characteristic of being the last structure of the brain to reach maturation. It has been proposed that insults occurring during the postnatal maturation increase vulnerability to psychiatric diseases. The aim of my thesis was to study the effect on the postnatal development of the PFC of two factors that may contribute to the etiology of various psychiatric diseases: a genetic factor, the reelin gene, that encodes a matrix extracellular protein, and an environmental factor, social isolation (SI). We described the phenotypes of three models of psychiatric diseases: reelin haploinsufficiency, social isolation of wild-type mice and social isolation of reelin haploinsufficient mice. We identified defects in adult mice specifically due to reelin haploinsufficiency or social isolation, and others due to the interaction of these two insults. My thesis shows that haploinsufficient reelin mice and social isolated wild-type mice exhibit altered morpho-functional maturation of glutamatergic and GABAergic prefrontal circuits. These synaptic defaults are correlated with behavioral dysfunctions. Furthermore, we showed that reduced levels of reelin enhance the negative effects of social isolation. The characterization of synaptic and behavioral defects due to reelin haploinsufficiency or social isolation has enabled us to offer therapeutic leads. We have shown that acute treatment with NMDA receptor antagonists in juvenile mice, and with glucocorticoid receptor antagonist in adult mice rescue structural, functional, and behavioral deficits. Taken together, the results of my thesis strengthen the link between the reelin gene, the social environment and the etiology of psychiatric diseases, hence opening perspectives on the understanding of the pathophysiology of these diseases and their treatment.

# **SOMMAIRE**

<b>ABREVIATIONS</b> .....	<b>1</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>3</b>
<b>AVANT-PROPOS</b> .....	<b>4</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>7</b>
<b>I. CORTEX PREFRONTAL</b> .....	<b>8</b>
1. Le PFC, une aire corticale présente chez tous les mammifères ? .....	8
2. Les différentes subdivisions et homologie primates/rongeurs .....	12
3. Le microcircuit du PLC.....	16
3.1. Neurones pyramidaux et organisation laminaire du PLC.....	16
3.2. Neurones GABAergiques du PLC .....	22
3.2.1. Localisation laminaire et outputs locaux des neurones GABAergiques du PLC .....	24
3.2.2. Interconnectivité et inputs locaux des neurones GABAergiques du PLC .....	25
3.2.3. Connectivité extrinsèque des neurones GABAergiques du PLC.....	26
4. Les fonctions du PLC.....	28
4.1. Fonctions mnésiques .....	30
4.1.1. Rôle des afférences hippocampiques du mPFC dans l'apprentissage et la mémoire .....	32
4.1.2. Rôle du mPFC dans l'apprentissage .....	33
4.1.3. Rôle du mPFC dans la mémoire à long terme .....	34
4.1.3.1. Rôle dans la consolidation mnésique .....	34
4.1.3.2. Rôle dans la récupération mnésique .....	35
4.1.3.3. mPFC et circuit de la mémoire de reconnaissance : Rôle spécifique du PLC dans la mémoire de récence.....	37
4.1.4. Rôle du mPFC dans la mémoire de travail à court terme .....	38
4.1.5. Un modèle pour les fonctions mnésiques du mPFC .....	39
4.2. Fonctions exécutives et adaptatives .....	40

4.2.1.	Les informations entrantes et sortantes du mPFC .....	40
4.2.2.	Connectivité extrinsèque du PLC et motivation .....	42
4.2.3.	Implication du PLC dans les processus attentionnels .....	43
4.2.4.	Les associations action-résultat et flexibilité comportementale .....	44
4.2.4.1.	Les actions orientées vers un but et les habitudes .....	44
4.2.4.2.	Prédiction des résultats des actions et erreurs .....	46
4.2.4.3.	Planification, comportements séquentiels et timing .....	47
4.2.4.4.	Contrôle inhibiteur .....	48
4.2.5.	Régulation des émotions .....	50
4.2.6.	Régulation des comportements sociaux .....	54
4.2.6.1.	Contrôle des comportements de jeu et d'exploration sociale .....	54
4.2.6.2.	Contrôle des comportements agressifs .....	55
4.2.6.3.	Contrôle des comportements sexuels et maternels .....	56
4.2.6.4.	Régulation de l'effet anxiolytique de la familiarité sociale .....	58
4.2.7.	Contrôle du stress et de l'anxiété .....	58
4.3.	Conclusion sur les fonctions du PLC .....	60
5.	Maturation du cortex préfrontal .....	60
5.1.	Développement des fonctions dépendantes du PFC .....	60
5.2.	Réarrangements synaptiques .....	61
<b>II.</b>	<b>ISOLEMENT SOCIAL .....</b>	<b>65</b>
1.	Le comportement social chez les rongeurs .....	66
2.	La période critique pour l'isolement social .....	67
3.	Les effets de l'isolement social sur le comportement .....	68
3.1.	Neurodéveloppement des troubles comportementaux .....	68
3.2.	Altérations des comportements dépendants du PFC .....	69
3.3.	Altérations des fonctions mnésiques dépendantes du PFC .....	69
3.4.	Effets sur les comportements liés à un état dépressif et anxieux .....	70

4.	Effets neurobiologiques de l'isolement social .....	72
4.1.	Effets sur les propriétés morpho-fonctionnelles et neurochimiques des synapses.....	73
4.2.	Effets de l'isolement social sur la neuromodulation .....	75
5.	Dérégulation de l'expression de gènes liés aux maladies psychiatriques.....	76
6.	Conclusion .....	78
<b>III.</b>	<b>REELIN .....</b>	<b>80</b>
1.	Le mutant reeler : l'histoire d'une découverte .....	80
2.	Le gène reelin et ses régulations .....	81
2.1.	Clonage et structure.....	81
2.2.	Régulation transcriptionnelle .....	82
2.2.1.	Régulation par des facteurs de transcription.....	82
2.2.2.	Régulation épigénétique .....	82
2.3.	Régulation post-transcriptionnelle: épissage alternatif .....	83
3.	Caractéristiques de la protéine .....	84
3.1.	Description structurale de la protéine.....	84
3.2.	Maturation post-traductionnelle .....	85
3.2.1.	Glycosylations .....	85
3.2.2.	Clivages protéolytiques .....	85
3.3.	Rôle des domaines de la protéine reelin.....	86
3.4.	Sécrétion dans le milieu extracellulaire.....	86
4.	Les récepteurs de la reelin et voies de signalisations intracellulaires .....	87
5.	Expression et distribution de la reelin.....	89
5.1.	Expression de la reelin dans les différentes structures cérébrales.....	89
5.2.	Localisation cellulaire et subcellulaire de la reelin .....	90
6.	Fonctions physiologiques de la reelin.....	91
6.1.	Modèles d'études des rôles de la reelin.....	92
6.2.	Rôle dans le cycle cellulaire.....	92

6.3.	Rôle dans la migration.....	93
6.3.1.	Défauts de la migration corticale chez les mutants reeler .....	93
6.3.2.	Modèle d'action de la reelin .....	95
6.3.3.	Migration postnatale .....	96
6.4.	Rôle dans le guidage des projections axonales.....	96
6.5.	Rôle dans la croissance dendritique .....	97
6.6.	Rôle dans la morphologie des épines dendritiques.....	98
6.7.	Rôle dans la physiologie synaptique .....	100
6.7.1.	Régulation de la transmission glutamatergique .....	101
6.7.2.	Régulation de la phosphorylation des iGluR .....	103
6.7.3.	Reelin et modifications pré-synaptiques.....	103
6.7.4.	Rôles de la reelin dans la plasticité synaptique.....	104
6.8.	Comportements liés à la reelin .....	105
6.8.1.	Evaluation des paramètres généraux et de l'anxiété.....	106
6.8.2.	Adaptations des réponses sensorimotrices.....	106
6.8.3.	Mémoire, apprentissage et cognition .....	107
<b>IV.</b>	<b>MALADIES PSYCHIATRIQUES .....</b>	<b>109</b>
1.	L'autisme .....	109
2.	La dépression .....	110
3.	La schizophrénie .....	111
	<b>Problématique et Objectifs.....</b>	<b>117</b>
	<b>Résultats .....</b>	<b>121</b>
<b>I.</b>	<b>Article n°1: Reelin, an extracellular matrix protein linked to early onset psychiatric diseases, drives postnatal development of the prefrontal cortex via GluN2B-NMDARs and the mTOR pathway. ....</b>	<b>122</b>
<b>II.</b>	<b>Article n°2 : Prefrontal endophenotypes linked to the psychiatric disorders susceptibility gene RELN are amenable to mechanism-based therapy. ....</b>	<b>145</b>

<b>III. Article n°3 : Pathophysiological maturation of prefrontal GABAergic synapses in mice haploinsufficient for the extracellular matrix protein reelin.....</b>	<b>182</b>
<b>IV. Article n°4 : Pathological prefrontal plasticity and cognition in prepubertal mice subjected to social isolation.....</b>	<b>191</b>
<b>DISCUSSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>212</b>
<b>I. Diminution des taux endogènes de reelin.....</b>	<b>215</b>
1. Reelin et réarrangements synaptiques :.....	215
2. Abolition de la LTP.....	216
3. Reelin et la sous-unité GluN2B .....	219
4. Reelin et transmission GABAergique.....	220
5. Réactivation des réponses de peur .....	221
<b>II. Isolement social post-sevrage .....</b>	<b>224</b>
1. Altérations de la transmission synaptique glutamatergique.....	224
2. Altérations de la transmission et de la plasticité synaptiques GABAergiques .....	226
3. Altérations de la plasticité des synapses GABAergiques .....	227
4. Altération de la mémoire de récence.....	229
5. Augmentation des niveaux d'anxiété.....	230
<b>III. Interaction isolement social et haploinsuffisance en reelin .....</b>	<b>234</b>
<b>IV. Pharmacothérapies .....</b>	<b>238</b>
1. Kétamine, Reelin et mTOR :.....	238
2. RU486, Reelin et isolement social.....	242
<b>Conclusion.....</b>	<b>244</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>245</b>



# ABBREVIATIONS

**5-CSRTT** : 5-choice serial reaction time task  
**5HT** : 5-hydroxytryptamine (Sérotonine)  
**ACC** : Cortex cingulaire antérieur  
**ACD** : Cortex cingulaire antérieur dorsal  
**ACg** : Cortex cingulaire antérieur  
**ACTH** : Hormone corticotrope de l'hypophyse  
**ADR** :  $\alpha 2$  adréno-récepteur  
**AID** : Cortex agrulaire insulaire dorsal  
**AIV** : Cortex agrulaire insulaire ventral  
**AMPA** : 2-amino-3-(3-hydroxy-5-methyl-isoxazol-4-yl) propanoic acid  
**AOM** : Noyau olfactif médian antérieur  
**AOV** : Noyau olfactif ventral antérieur  
**ApoER2** : Apolipoprotein E receptor 2  
**ApoER2-ICD** : Domaine intracellulaire d'ApoER2  
**ARNm** : ARN messenger  
**BDNF** : Brain derived neurotrophic factor  
**BLA** : Amygdale basolatérale  
**BNST** : Noyau du lit de la strie terminale  
**BSNP** : Burst-spiking nonpyramidal  
**CC** : Corps calleux  
**CE** : Noyau central de l'amygdale  
**Cg2** : Cortex cingulaire 2  
**CGE** : Eminence ganglionnaire caudale  
**CP** : Plaque corticale  
**CR** : Calretinine  
**CREB** : cAMP reponse element-binding protein  
**CRF** : Corticotropin releasing factor  
**CS** : Stimulus conditionné  
**D1-R** : Récepteur à la dopamine de type 1  
**D2-R** : Récepteur à la dopamine de type 2  
**Dab1** : Protéine adaptatrice Disabled 1  
**DBS** : Stimulation cérébrale profonde  
**DLPFC** : Cortex préfrontal dorsolatéral  
**DP** : Cortex pédonculaire dorsal  
**DR** : Noyau du raphé dorsal  
**DSM** : Manuel de diagnostic et de statistiques des troubles mentaux  
**EDST** : Extra-dimensional shift task  
**EPM** : Elevated plus maze  
**fAD** : Fast-adapting  
**FRA** : Cortex frontal d'association  
**FS** : Fast-spiking  
**GABA** :  $\gamma$ -Aminobutyric acid  
**Glu** : Glutamate  
**GSK3 $\beta$**  : Glycogen synthase kinase 3 $\beta$   
**HDB** : Branche horizontale de la bande diagonale de Broca  
**HFS** : Stimulation à haute fréquence  
**HPA** : Hypothalamo-pituitary-adrenal axis  
**HRM** : Hétérozygotes pour la Reelin ou Haploinsuffisante en reelin  
**IEG** : Immediate early genes  
**IL** : Cortex infralimbique  
**ILC** : Cortex infralimbique  
**IPSP** : Potentiels postsynaptiques inhibiteurs  
**IS** : Irregular spiking

**ISI-9** : 9<sup>ème</sup> intervalle interspike  
**IZ** : Zone intermédiaire  
**LC** : Locus coeruleus  
**LO** : Cortex corbital latéral  
**LS** : Late-spiking  
**LTP** : Potentialisation à long terme  
**LTD** : Depression à long terme  
**LTS** : Low-threshold spike  
**M1** : Aire motrice primaire  
**MB** : multipolar bursting  
**MD** : noyau médiodorsal du thalamus  
**MDPFC** : Cortex préfrontal dorsomédian  
**mPFC** : Cortex préfrontal médian  
**MGE** : Eminence ganglionnaire médiale  
**MO** : Cortex orbital médian  
**mPFC** : Cortex Préfrontal médian  
**mTOR** : Mammalian target of rapamycin  
**MZ** : Zone marginale  
**NAcc** : Noyau accumbens  
**NMDA** : N-Methyl-D-aspartic acid  
**OB** : Bulbe olfactif  
**OFC** : Cortex orbitofrontal  
**PAG** : Substance grise périaqueducule  
**PFC** : Cortex préfrontal  
**PLC** : Cortex prélimbique  
**PP** : Pré-plaque  
**PPI** : Prepulse inhibition  
**PrC** : Cortex précentral  
**PrL** : Cortex prélimbique  
**PSD-95** : Postsynaptic density protein 95  
**PV** : Parvalbumine  
**PVH** : Noyau hypothalamique paraventriculaire  
**RR** : Reelin repeat  
**RSNP** : Regular spiking nonpyramidal  
**S-R** : stimulus-réponse  
**SN** : Substance noire *pars reticulata*  
**Snc** : Substance noire *pars compacta*  
**SNC** : Système nerveux central  
**SP** : Sous-plaque  
**SST** : somatostatine  
**STN** : Noyau sous-thalamique  
**TBS** : Stimulation thêta burst  
**US** : Stimulus non-conditionné  
**VIP** : Peptide vasointestinal  
**VLDLR** : Very low-density lipoprotein receptor  
**VLO** : Cortex orbital ventro-latéral  
**VLPFC** : Cortex préfrontal ventrolatéral  
**VO** : Cortex orbital ventral  
**VTA** : Aire tegmentale ventrale  
**VZ** : Zone ventriculaire

# LISTE DES FIGURES

- Figure 1** : Organisation verticale et horizontale du cortex.
- Figure 2** : Diagramme des principales connexions excitatrices du microcircuit cortical canonique.
- Figure 3** : Subdivisions du PFC chez les rongeurs
- Figure 4** : Subdivisions du PFC chez l'Homme et le macaque.
- Figure 5** : Organisation en colonne dans le DLPFC des primates.
- Figure 6** : Arborisation dendritique typique d'un neurone pyramidale du PLC.
- Figure 7** : Les différents sous-types de neurones pyramidaux dans le PLC de rat.
- Figure 8** : Image en contraste de phase d'une coupe coronale du PLC chez une souris sauvage.
- Figure 9** : Classification des interneurons GABAergiques du néocortex.
- Figure 10** : Expression de la reelin dans le PLC.
- Figure 11** : Les principales connexions du PLC.
- Figure 12** : Les différents types de mémoires à long terme et les principales structures cérébrales qu'elles mettent en jeu.
- Figure 13** : Vue schématique des entrées et sorties des différentes sous-régions du mPFC.
- Figure 14** : Neuroanatomie du circuit de peur conditionnée.
- Figure 15** : Le mPFC contrôle les réponses de peur conditionnées en fonction du contexte.
- Figure 16** : Neuro-développement du PFC chez l'humain.
- Figure 17** : Résumé des changements à long terme du phénotype comportemental associés à l'isolement social post-sevrage chez les rongeurs.
- Figure 18** : Effet de l'isolement sociale post-sevrage sur la densité des épines dendritiques chez le rat.
- Figure 19** : Cinétique des taux de reelin durant la période d'isolement social post-sevrage dans le PFC et l'hippocampe (HPC).
- Figure 20** : Représentation schématiques des altérations comportementales et neurochimiques les plus observées chez les rats après une durée d'isolement social post-sevrage d'au moins six semaines.
- Figure 21** : Défaut locomoteur chez les souris reeler.
- Figure 22** : Les différents allèles reeler mutés chez la souris.
- Figure 23** : Illustration schématique de la régulation épigénétique au niveau neuronal.
- Figure 24** : Structure de la protéine reelin.
- Figure 25** : Détection des isoformes reelin par western blot.
- Figure 26** : Schéma représentant les deux populations positives pour le marquage reelin.
- Figure 27** : Modèle simplifié de la voie de signalisation reelin.
- Figure 28** : Expression de la reelin durant le développement cortical.
- Figure 29** : Expression de la reelin au stade adulte.
- Figure 30** : Localisation subcellulaire de la protéine reelin.
- Figure 31** : Migration des neurones pyramidaux durant la corticogenèse.
- Figure 32** : L'architecture laminaire du cortex somatosensoriel chez les animaux contrôles et les mutants homozygotes reeler.
- Figure 33** : Modèle hypothétique du rôle de la reelin dans la migration des neurones pyramidaux corticaux.
- Figure 34** : La reelin recombinante favorise la croissance axonale.
- Figure 35** : L'insuffisance en reelin retarde la croissance neuritique in vitro.
- Figure 36** : Rôle de la reelin et de la protéine Dab1 sur la densité et la morphologie des épines dendritiques des neurones pyramidaux de l'hippocampe.
- Figure 37** : Rôle de la reelin sur la morphologie des épines dendritiques.
- Figure 38** : La surexpression de reelin dans l'hippocampe induit un élargissement des épines dendritiques.
- Figure 39** : Impact de la reelin sur l'expression des protéines synaptiques.
- Figure 40** : Le modèle neurodéveloppemental de la schizophrénie.
- Figure 41** : Comparaison des altérations anatomiques des patients schizophrènes et des souris HRM.
- Figure 42** : Représentation schématique du nombre d'épines dendritiques supposé au cours de la vie corrélé à l'émergence de symptômes neurologiques
- Figure 43** : Diversité morphologique des épines dendritiques du cortex.
- Figure 44** : Cinétique des taux de corticostérone dans le sérum.
- Figure 45** : Contribution des sous-unités NMDAR et traitement thérapeutique dans certaines pathologies.
- Figure 46** : Représentation schématique simplifiée de la voie mTOR.

# AVANT-PROPOS

Malgré l'essor considérable que connaît la recherche transrationnelle en psychiatrie, notamment grâce aux grandes avancées dans les domaines de l'épidémiologie, de la génétique humaine, de la neuroimagerie et de la neurobiologie cellulaire et moléculaire, les maladies psychiatriques sont loin d'avoir dévoilé tous leurs secrets. En effet, ces maladies sont, pour la plupart d'entre elles, d'origine multifactorielle, et leur étiologie complexe met en jeu des interactions entre plusieurs facteurs génétiques et environnementaux. À l'heure actuelle, il est difficile de comprendre le poids et l'implication de chaque facteur dans le développement de ces maladies, d'autant plus que l'étiologie et les symptômes de ces troubles mentaux semblent différents d'un individu à l'autre. L'interaction entre les facteurs génétiques et environnementaux complique également beaucoup les choses, du fait que ces facteurs peuvent agir de manière synergique ou antagoniste. De plus, un grand nombre d'études oublient de prendre en compte un aspect important dans l'étiologie des maladies psychiatriques : la présence, durant le développement embryonnaire et la maturation postnatale du cerveau, de périodes critiques durant lesquelles les réseaux neuronaux sont particulièrement sensibles aux atteints génétiques et environnementales. Une approche scientifique multidisciplinaire dans laquelle «gène» et «environnement» sont considérés dans un contexte développemental représente la voie la plus propice à une meilleure compréhension de la physiopathologie des maladies psychiatriques. Mon travail de thèse s'inscrit dans le contexte du débat fondamental sur la place de la génétique et de l'environnement («Nature versus Nurture») dans la physiopathologie des troubles psychiatriques.

Une multitude d'études démontre que les facteurs génétiques ou environnementaux pris séparément n'expliquent pas à eux seuls le développement des maladies psychiatriques indiquant ainsi que ces troubles résulteraient d'une interaction complexe de l'environnement avec certains gènes. Différents modèles hypothétiques d'interaction gène-environnement existent dans la littérature. Le modèle additif classique suppose qu'un individu hérite de ses parents le ou les gène(s) de susceptibilité pour la maladie et que ses expériences environnementales agissent en tant qu'effet additif afin d'exprimer la maladie. Selon ce modèle, la probabilité d'être exposé à un facteur de risque environnemental n'est en aucun cas influencée par les gènes. Dans d'autres modèles, la relation entre facteurs génétiques et environnementaux est plus interactive, c'est le cas de l'hypothèse du « contrôle génétique de l'environnement ». L'un des postulats de ce modèle est que les gènes confèrent une vulnérabilité envers les effets de l'environnement. Par exemple, les facteurs génétiques influenceraient le risque de survenue d'une dépression en partie en modifiant la sensibilité de chaque individu à l'effet dépressogène du milieu. « Le contrôle génétique de l'environnement » assume également que les facteurs génétiques influencent l'exposition à un milieu donné et pas un autre, en déterminant par exemple la prédisposition à la consommation de drogue ou à avoir un certain type d'interactions sociales et leur fréquence. En effet, plusieurs psychiatres généticiens émettent des critiques

contre la caractérisation de l'environnement comme un phénomène extérieur à l'individu, et contre la séparation entre événements de vie et déterminisme génétique de la personnalité. Ces critiques sont basées sur des études indiquant qu'en fonction de notre tempérament, nous irions préférentiellement à la rencontre de certains événements de. Il semblerait que les gènes influencent la tendance à se mettre dans des situations stressantes ou dangereuses. La confrontation entre l'individu et le stress de son environnement n'est donc uniquement le fruit du hasard. Il faut savoir également que les facteurs environnementaux, notamment les facteurs sociaux ont aussi le pouvoir de modifier l'expression des gènes, et donc le fonctionnement et la connectivité des cellules du cerveau. En effet, le fonctionnement du cerveau est contrôlé par diverses protéines interagissant entre elles, chacune étant codée par un gène. Il suffit qu'un de ces gènes soit défectueux pour que la protéine correspondante ne puisse plus remplir sa fonction dans le grand orchestre cérébral.

Les maladies psychiatriques sont considérées comme des troubles neuro-développementaux, c'est-à-dire que des atteintes survenant durant le développement du cerveau au stade embryonnaire ou durant sa maturation postnatale augmenteraient le risque d'apparition de ces maladies. Les diverses régions cérébrales atteignent leur maturité à des périodes et vitesses différentes. Plus la période de maturation d'une région cérébrale est longue, plus le risque de survenue d'une atteinte développementale dans cette région est grand. L'une des structures cérébrales qui mature le plus tardivement est le cortex préfrontal (PFC). Le PFC est une aire corticale impliquée dans les fonctions cognitives supérieures et dont la dysfonction est une constante dans des maladies psychiatriques, tels que la schizophrénie, la dépression et le trouble bipolaire.

Les fonctions physiologiques du cerveau, comme la mémoire, l'apprentissage et la cognition, sont soutenues par des réseaux neuronaux. Au sein de ces réseaux, la communication neuronale s'effectue par des points de contact spécialisés appelés synapses. Les synapses subissent des changements morphologiques et fonctionnels continus tout au long de la vie embryonnaire et postnatale. Ces modifications synaptiques sont des adaptations en réponse aux expériences individuelles. Ce phénomène, appelé plasticité synaptique, regroupe un ensemble de mécanismes visant à réguler de façon directionnelle et temporaire la transmission de l'information neuronale. Un contrôle précis de la plasticité synaptique est critique pour les fonctions physiologiques du cerveau et une altération des synapses a été proposée comme étant une cause de nombreuses maladies psychiatriques.

Durant ma thèse, j'ai étudié les propriétés synaptiques et comportementales du PFC durant son développement postnatal dans trois modèles murins de maladies psychiatriques, un modèle génétique, l'haploinsuffisance en *reelin*, un modèle environnemental, l'isolement social, et un modèle d'interaction gène-environnement : l'isolement social de souris haploinsuffisante en *reelin*.

Une partie de mon travail de thèse s'intéresse donc au gène reelin qui code une protéine de la matrice extracellulaire. La matrice extracellulaire est l'un des composants majoritaires du cerveau en plus des neurones et des cellules gliales ; elle représente environ 20% du volume cérébral. Cette matrice est présente au niveau interstitiel mais aussi au niveau de la fente synaptique. De nombreuses protéines de la matrice extracellulaire interviennent dans l'échafaudage, le support et l'adhérence cellulaires. Cependant, certaines protéines de la matrice extracellulaire telle que la reelin cruciale dans le développement de la cytoarchitecture du SNC, participent également à la signalisation synaptique au stade postnataux. Notre groupe a précédemment étudié les mécanismes d'expression et de sécrétion de la reelin et son rôle dans la physiologie et la maturation synaptiques de l'hippocampe. Une insuffisance des taux en protéine reelin a été révélée dans certaines pathologies psychiatriques et spécifiquement dans des structures impliquées dans les processus cognitifs tel que le PFC. Cependant, l'effet d'une insuffisance en protéine reelin endogène n'a jamais été étudié dans le contexte de la maturation morpho-fonctionnelle et comportementale du PFC. Cette partie de mon travail de thèse été dédiée à cette question.

L'autre partie de mon travail ma thèse s'intéresse à l'impact de l'isolement social sur la physiologie du PFC. Les interactions sociales sont indispensables au développement cognitif chez l'humain et d'autres mammifères tels que les rongeurs. Chez l'humain, l'isolement social est associé à l'étiologie de maladies psychiatriques, telles que la dépression et la schizophrénie. Chez les rongeurs, un isolement social produit des défauts cognitifs, comportementaux et neurochimiques durables qui rappellent les symptômes de la schizophrénie. Toutefois, aucun travail scientifique n'a étudié l'effet de cette atteinte environnementale sur la transmission et la plasticité synaptique dans le PFC ; nous avons donc examiné cette question.

En parallèle, l'ensemble des données obtenues nous a permis d'examiner si les effets d'un stress environnemental tel que l'isolement social interagissent avec ceux de l'haploinsuffisance en reelin d'origine génétique, et de déterminer l'impact de l'interaction de ces deux atteintes sur les propriétés fonctionnelles du PFC au niveau synaptique et comportemental.

Avant de répondre à ces questions, je passerai en revue dans l'introduction, la littérature scientifique nécessaire à la compréhension de ce travail de thèse. Le premier chapitre se concentrera sur la description de l'organisation et la fonction du PFC. Le deuxième chapitre donne un aperçu des données bibliographiques décrivant l'impact de l'isolement social sur le cerveau. Le troisième chapitre résume une partie de l'état actuel des connaissances sur les fonctions physiologiques et des implications pathologiques de la reelin. Dans le quatrième chapitre, je mettrai en avant le lien entre le PFC, l'isolement social, la reelin et les maladies psychiatriques. Je poursuivrai en présentant les objectifs de cette thèse, puis les résultats obtenus au cours de ces quatre années et enfin, une discussion critique de ces résultats.

# **INTRODUCTION**

## I. CORTEX PREFRONTAL

Le cortex préfrontal (PFC) est une aire associative caractérisée par une cytoarchitecture et une connectivité spécifique permettant de soutenir les fonctions cognitives supérieures, telles que la prise de décision, le raisonnement, la planification et la flexibilité comportementale. Le PFC possède également la particularité d'être la structure cérébrale qui mature le plus tardivement. Chez l'humain, la maturation du PFC ne se termine que vers l'âge de 20 ans. Cette longue période de réarrangements permettrait de sculpter les circuits neuronaux du PFC en fonction de l'expérience et d'améliorer l'adaptabilité à l'environnement. La contrepartie de cet avantage évolutif est qu'une durée de développement très longue rallongerait la période critique durant laquelle le système est vulnérable aux influences environnementales. En effet, plusieurs études suggèrent que des anomalies survenant durant la période de maturation postnatale du PFC contribueraient au développement de certains troubles psychiatriques comme le trouble bipolaire, la dépression et la schizophrénie. Il est donc important d'étudier les circuits préfrontaux dans les conditions physiologiques et pathologiques. Une grande partie de nos connaissances sur le sujet ont été acquises grâce à l'étude de modèles animaux (primates, rongeurs...), qui nous permettent de poser des questions qui n'auraient pu être expérimentées sur l'homme pour des raisons éthiques et/ou pratiques.

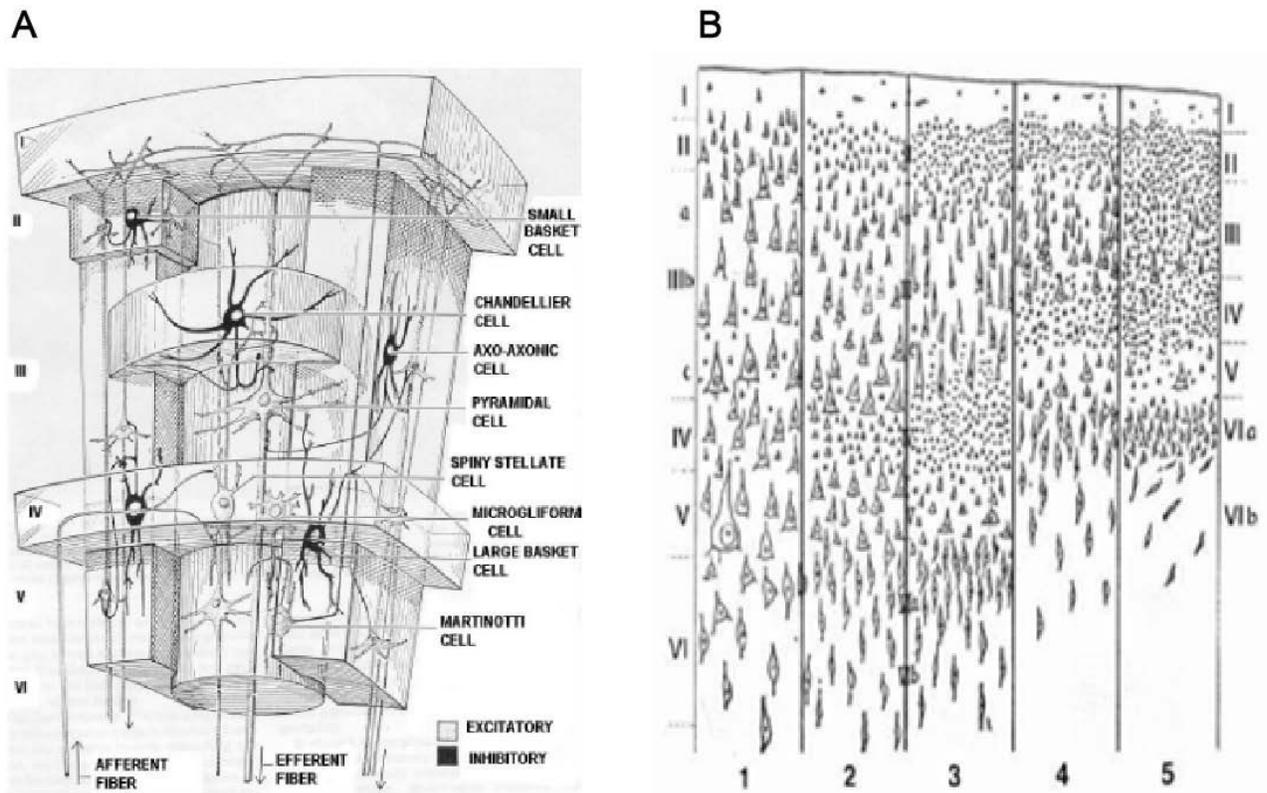
Dans la première partie du chapitre je vais détailler les arguments qui permettent d'affirmer que les primates non-humains et les rongeurs possèdent des aires corticales correspondant aux PFC humain. Je décrirai par la suite la neuroanatomie, les fonctions et la maturation du PFC, en me focalisant sur les travaux effectués chez les rongeurs, le modèle d'étude utilisé durant ma thèse.

### 1. Le PFC, une aire corticale présente chez tous les mammifères ?

Le néocortex est la partie du cortex cérébral la plus récente d'un point de vue évolutif. Il est présent chez tous les mammifères et sa complexité est très développée chez les primates et inédite chez l'Homme. Le néocortex est organisé horizontalement en six couches (Brodmann 1909) et verticalement en colonnes (Mountcastle 1997) (Figure 1). Cette organisation a été établie à partir de découvertes dans les cortex somatosensoriel et visuel primaires puis généralisée pour donner naissance au schéma des microcircuits corticaux canoniques (Figure 2) (Douglas & Martin 2004). Une multitude de preuves empiriques, suggèrent que l'idée d'un cortex uniforme à six couches est une simplification excessive.

En effet, le profil laminaire (horizontal) n'est pas constant d'une aire corticale à l'autre. Les variations régionales de cette stratification (Figure 1B) constituent la base de la classification de Brodmann (Brodmann., 1909). Korbinian Brodmann pensait que ces variations structurales reflètent de fonctions différentes. Même si sa classification a été affinée depuis son énonciation en 1909, le principe de

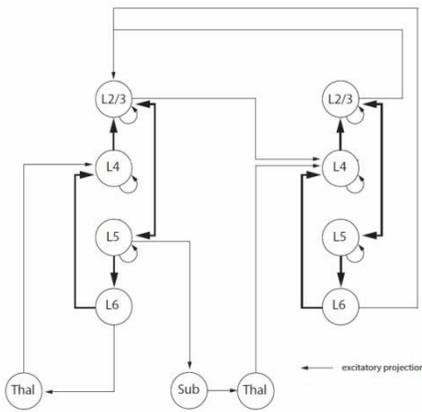
cartographie fonctionnelle dans le cortex reste largement accepté et a pu être validé tout au long du siècle dernier par un grand nombre d'études utilisant des techniques de traçage, d'électrophysiologie, d'ontogénétique, d'imagerie fonctionnelle et de modélisation. Ce principe établi que les différentes aires du néocortex seraient des unités fonctionnelles distinctes (sans pour autant être indépendantes), définies par une cytoarchitecture caractéristique les associant à des fonctions spécifiques. Cependant, les limites de ce postulat apparaissent lorsqu'on commence à comparer les différentes aires corticales chez des espèces phylogénétiquement éloignées, uniquement sur la base de critères cytoarchitectoniques.



**Figure 1 : Organisation verticale et horizontale du cortex.**

(A) Représentation schématique d'une colonne corticale. Parmi les neurones excitateurs, Les cellules épineuse étoilées (spiny stellate cells) de la couche IV qui reçoivent les afférences du thalamus et les cellules pyramidales présentes dans la couche III et V. Parmi les cellules inhibitrices : les cellules en panier (Small et Large basket cells), des neurones inhibiteurs qui concentrent le signal a l'intérieur d'une colonne et réduisent le bruit originaire des colonnes voisines (Jones 1981), les cellules chandelier et les cellules de Martinotti (qui envoient leurs projections dans la couche I). Une cellule de la microglie est aussi représentée (microgliform cell). (D'après Neuroscience médicales Pritchard et Alloway).

(B) Représentation schématique mettant en évidence les différences dans la disposition des couches dans différentes régions corticales. D'après (Ranson et al., 1966).



**Figure 2 : Diagramme des principales connexions excitatrices du microcircuit cortical canonique.**

On peut noter une intense connexion des neurones II/III en direction de la couche V. Cette représentation indique aussi des afférences thalamiques (Thal) ainsi que les projections en direction du thalamus et des régions sous-corticales (Sub). D'après da Costa et Martin., 2010.

D'un point de vue évolutif, aucune région du cortex cérébral n'a été plus controversée que le cortex préfrontal (PFC). Durant ses études sur le primate, Brodmann s'est basé sur le critère cytoarchitectonique d'existence ou non une couche IV granulaire pour diviser le lobe frontal en aire frontale granulaire (appelé par la suite cortex préfrontal) et en aire précentrale agranulaire (regroupant des aires motrices et prémotrices). Brodmann a ensuite identifié chez une grande variété de mammifères non primates un cortex similaire au cortex précentral agranulaire du primate. Toutefois, il n'a observé chez ces dernières aucune structure corticale frontale granulaire, ce qui l'a amené à proposer que ce cortex frontal granulaire était par essence unique aux primates. Cette idée a persisté pendant plusieurs décennies (Benton 1991). Les raisons sont aisément compréhensibles. On considérait que le PFC était responsable de certains des aspects les plus supérieurs de la pensée et de l'action humaine (Damasio., 1985 ; Goldman-Rakic, Selemon, & Schwartz, 1984). De plus, le PFC occupe une fraction substantielle du cortex cérébral chez les primates, particulièrement chez les humains (Brodmann., 1909). Mais c'est l'absence d'une définition purement cytoarchitectonique, anatomique ou fonctionnelle du PFC, valide chez les espèces les plus éloignées de l'Homme qui a consolidé l'idée de l'inexistence d'un PFC chez les mammifères non primates, en particulier chez les rongeurs.

Cependant, dans les années 1940, il était devenu évident pour beaucoup de neurobiologistes que la méthode cytoarchitectonique n'était pas un moyen très fiable pour délimiter les zones corticales (Lashley & Clark 1946). En même moment, des études suggéraient que les projections de chaque noyau thalamique atteignaient des régions corticales distinctes. Ceci impliquait que les projections thalamocorticales pourraient être utilisées pour délimiter les territoires corticaux et identifier les aires corticales homologues dans les différents groupes de mammifères (Rose & Woolsey 1948). Rose et Woolsey ont donc défini le PFC comme l'ensemble des régions corticales qui reçoivent des projections du noyau thalamique médiodorsal (MD). Ceci a eu pour conséquence d'étendre la définition du PFC chez les primates en incluant le cortex orbital agranulaire mais aussi de l'étendre à tous les mammifères non-primates.

Cependant, comme la définition cytoarchitectonique de Brodmann, la définition de Rose et Woolsey était basée sur un seul critère, et une fois de plus un critère unique s'est avéré insuffisant pour définir le PFC. En effet, avec l'avènement des nouvelles techniques de traçage antérograde et rétrograde, il a été montré que le MD n'est pas le seul noyau thalamique ayant des connexions avec le PFC. Les aires préfrontales reçoivent aussi des projections d'autres noyaux thalamiques ; et les projections du MD atteignent également d'autres structures corticales chez des mammifères primates et non primates (H. B. M. Uylings et al. 2003). Tout cela a amené des chercheurs comme Preuss à remettre en question l'existence chez les espèces non primates d'un cortex équivalent au PFC du primate (Preuss 1995).

En 2003, Uylings, Groenewegen et Kolb répondent à Preuss en publiant une revue dans laquelle ils établissent les critères pour une définition du PFC valable chez tous les mammifères. Les auteurs expliquent que pour distinguer une région corticale d'une autre chez la même espèce (par exemple le PFC et le cortex moteur chez le macaque) ou pour déterminer si une région corticale chez une espèce est homologue à une autre région chez une autre espèce (par exemple le PFC chez le macaque et chez la souris), les critères suivants doivent être pris en compte :

- le profil de connectivité spécifique et la densité relative des connexions;
- les propriétés fonctionnelles (c. électrophysiologiques et comportementales);
- la présence et la répartition spécifique des différentes substances neuroactives et des récepteurs de neurotransmetteurs;
- le développement embryologique;
- et uniquement pour les espèces phylogéniquement proches, les caractéristiques cytoarchitectoniques.

Plus ces caractéristiques sont similaires entre deux régions cérébrales, plus il est probable que ces deux régions soient homologues. En d'autres termes, les études chez les rongeurs, source majeure de nos connaissances sur le sujet, peuvent apporter des informations précieuses à la compréhension du cerveau humain.

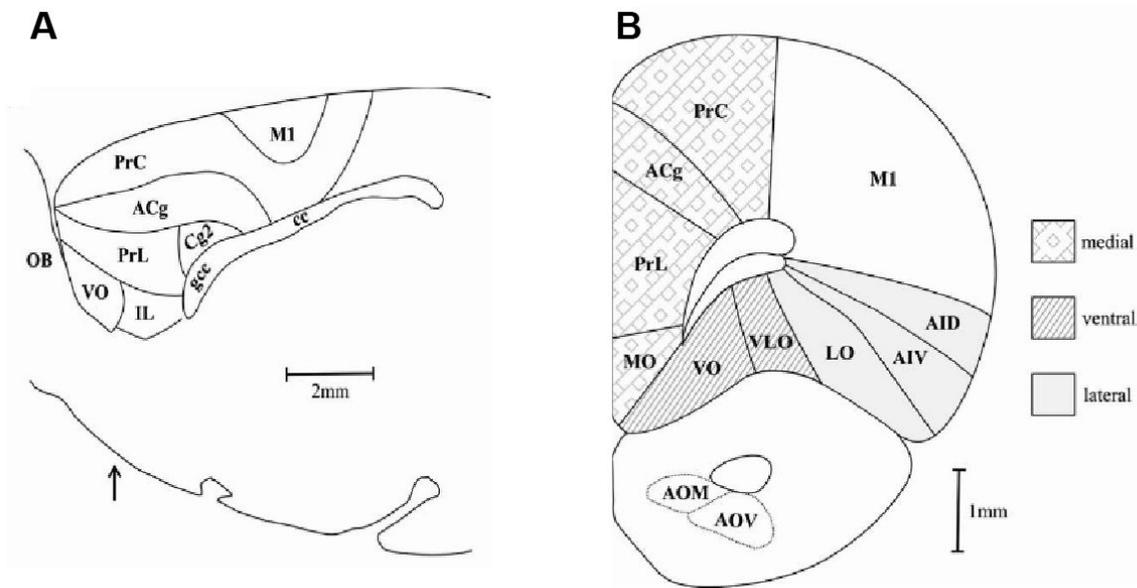
La controverse sur l'existence d'un PFC chez les rongeurs est aujourd'hui terminée. De ce fait, nous pouvons maintenant distinguer cette structure de l'ensemble du néocortex et déterminer une homologie des subdivisions du PFC entre les espèces même si une homologie directe est probablement impossible.

## 2. Les différentes subdivisions et homologie primates/rongeurs

Chez la souris, comme chez le rat, le PFC est défini comme la partie agranulaire du lobe frontal et est communément subdivisé en trois régions (Figure 3) (Van De Werd et al. 2010 ; Dalley et al. 2004) :

- le PFC ventral composé des cortex orbitaux ventral et ventrolatéral.
- le PFC latéral composé des cortex insulaires dorsal et ventral et du cortex orbital latéral
- le PFC médian (mPFC) situé au niveau de l'interhémisphère est subdivisé en :
  - zone dorsale comprenant :
    - le cortex précentral
    - le cortex cingulaire antérieur
  - zone ventrale comprenant :
    - le cortex orbital médian
    - le cortex infralimbique
    - le cortex prélimbique

Au cours de ma thèse, je me suis spécifiquement intéressé au cortex prélimbique.



**Figure 3 : Subdivisions du PFC chez les rongeurs**

(A) coupe sagittale 0.9mm depuis la ligne médiane (B) coupe coronale, 3.5mm du bregma (au niveau de la flèche de la figure 3A). Les différents ombrages représentent les trois grandes sous divisions (médian, ventral et latéral) (Abréviations: ACg, le cortex cingulaire antérieur ; AID, le cortex agranulaire insulaire dorsal ; AIV, le cortex agranulaire insulaire ventral ; AOM, noyau olfactif médian antérieur; AOV, noyau olfactif ventral antérieur ; cc, corps calleux ; Cg2, cortex cingulaire 2 ; IL, cortex infralimbique ; LO, cortex orbital latéral ; M1, aire motrice primaire ; MO, cortex orbital médian ; OB, bulbe olfactif ; PrL, cortex prélimbique ; PrC, cortex précentral ; VLO, cortex orbital ventro-latéral ; VO, cortex orbital ventral).

D'après (Dalley et al., 2004).

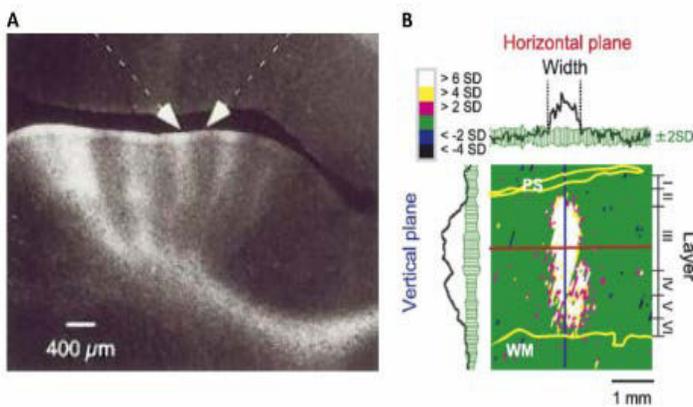


Le PFC est une structure extrêmement connectée avec les autres aires cérébrales (prémotor, somatosensorielle, auditive, visuelle, olfactive, gustatoire et limbique). En effet, chez les primates comme chez les rongeurs, la majorité des terminaisons axonales dans le PFC sont des afférences corticales et ces connexions cortico-corticales sont majoritairement ipsilatérales. Le PFC de rongeur (et plus particulièrement le PLC et le cortex infralimbique) et son homologue primate ont aussi des connexions bilatérales avec les cortex entorhinal et perirhinal et avec l'hippocampe, notamment avec la CA1 et le subiculum. Les deux partagent également des connexions réciproques avec le MD et même si ces connexions thalamo-corticales sont non exclusives elles sont plus fortes que dans les autres régions corticales. De plus, le PFC est connecté aux ganglions de la base et à l'amygdale de manière similaire chez les primates et les rongeurs. Chez ces espèces, le PFC est la seule région corticale qui reçoit des projections cholinergiques directes (H. B. M. Uylings et al. 2003). Le profil de connectivité du PFC en général et du PLC en particulier, semblent donc présenter une grande homologie entre rongeurs et primates. De par ses connexions, cette région cérébrale représente une station nodale intégrée dans plusieurs réseaux cérébraux parallèles, ce qui fait du PFC l'un des plus vastes systèmes de communication dans le cerveau (Barbas 2014). Il est assez admis que les patterns de connectivité jouent également un rôle primordial dans la détermination des propriétés fonctionnelles des régions cérébrales (Sporns 2007).

Les fonctions des régions cérébrales, notamment les fonctions comportementales, sont aussi un élément clé dans l'identification des similarités entre des régions corticales chez des espèces différentes. Il est important de noter que même si chaque espèce est caractérisée par un répertoire comportemental qui lui permet de survivre dans une niche environnementale particulière, tous les mammifères partagent plusieurs traits et capacités qu'on nomme « comportements de classe-commune » par opposition aux comportements « espèce-spécifiques » (Warren and Kolb. 1978). Par exemple, toutes les espèces mammifères doivent détecter et interpréter des stimuli sensoriels, relier ces informations aux expériences passées et agir par la suite de manière appropriée. Le PFC s'est probablement développé chez les mammifères parce que tous les mammifères sont confrontés à des problèmes fonctionnels communs liés à l'organisation des comportements. La fonction de classe-commune du PFC serait donc de sélectionner et de générer des patterns de comportements. Ce sont les études exploitant les lésions cérébrales (Uylings et al. 2003) et l'optogénétique *in vivo* (Riga et al. 2014) qui ont permis de confirmer l'existence de fonctions de classe-commune dépendantes du PFC et du PLC, en particulier chez les primates et les rongeurs. Le PLC et ses homologues primates semblent être impliqués dans des fonctions telles que l'attention, la mémoire de travail et le contrôle des actions et des émotions. Je dédierai une partie de ma thèse à détailler les fonctions du PLC chez la souris.

Comme mentionné ci-dessus, il existe en plus des fonctions de classe-commune des fonctions propres à chaque espèce. Considérons, par exemple, l'importance relative de la vision pour le contrôle du mouvement des membres antérieurs chez les primates par rapport à un contrôle olfactif du mouvement des membres antérieurs chez le rat (Whishaw et al. 1992). Ces différences sont probablement sous-tendues par des différences dans l'organisation subtile des sous-régions préfrontales, notamment au niveau cytoarchitectural.

Les différences cytoarchitectoniques entre le PLC et les structures homologues chez les primates concernent non seulement l'organisation horizontale (agranulaire chez les rongeurs et granulaire chez les primates) mais aussi l'organisation verticale. En effet, alors que l'ACC et le DLPFC du primate semblent présenter une organisation en colonnes fonctionnelles (Figure 5) (Arikuni et al. 1983; Opris & Casanova 2014), aucune étude n'a clairement démontré la présence d'organisation verticale au sein du PLC des rongeurs.



**Figure 5 : Organisation en colonne dans le DLPFC des primates.**

(A) Chez le singe, les afférences en provenance du cortex controlatéral ont été tracées par un marqueur et observées dans le sillon principal. Ces afférences forment des macro-colonnes.

(B) Les données fonctionnelles confirment la présence d'une activité s'étendant verticalement à travers les différentes couches corticales lors d'une stimulation. Adapté de Rao et al. 1999 et Hirata & Sawaguchi 2008

De plus, rats et souris diffèrent des primates en ce qui concerne la composition cellulaire. Les rongeurs ont moins de neurones inhibiteurs sécrétant le neurotransmetteur GABA : qui représentent 15-20% des neurones corticaux chez la souris contre 25-30% chez le primate (Jones 2009). Les neurones inhibiteurs chez les rongeurs montrent moins de spécificité neurochimique que ceux des primates (Barbas 2014). La composition en récepteurs au glutamate (de type AMPA et NMDA) et au GABA diffère aussi entre ces espèces. Bien que les rapports AMPA/GABA<sub>A</sub> et NMDA/GABA<sub>A</sub> soient comparables chez les humains et les singes, ils sont significativement plus bas chez les rongeurs (Vogt & Paxinos 2014). Cette liste de différences cytoarchitectoniques entre le PLC et ses équivalents chez les primates n'est pas exhaustive, mais la liste des similitudes qui a permis cette homologie est largement plus grande (Uylings et al. 2003).

Mon travail de thèse a été effectué exclusivement sur des modèles murins. Dans les prochaines pages, je vais ainsi détailler les caractéristiques cytoarchitectoniques du PLC chez le rongeur et expliquer comment ces dernières sont à la base de sa connectivité et de ses fonctions.

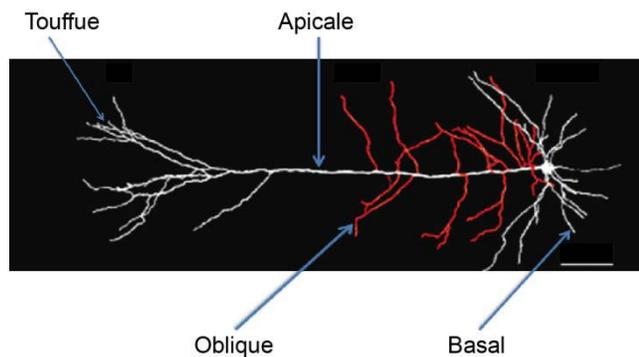
### 3. Le microcircuit du PLC

Le PFC possède l'un des plus vastes systèmes de communication dans le cerveau. Son microcircuit cortical doit donc intégrer, traiter, filtrer et transmettre une énorme quantité d'informations. Ces processus de traitement d'informations dépendent de la composition cellulaire du microcircuit et des interactions entre les différents types de cellules neuronales présents dans les différentes couches corticales (Barbas., 2014).

Le microcircuit du PLC se compose principalement de neurones pyramidaux glutamatergiques excitateurs (80-85 % de la population totale) et d'interneurones GABAergiques inhibiteurs (15-20 % de la population totale) (Buzsáki et al. 2007). Les deux peuvent être subdivisés en différents types de cellules sur la base de leurs propriétés morphologiques, physiologiques et moléculaires.

#### 3.1. Neurones pyramidaux et organisation laminaire du PLC

La répartition de des différents types de neurones pyramidaux et de leurs prolongements est à la base de l'organisation laminaire du PLC (et du néocortex en général). Toutefois, la majorité des neurones pyramidaux partagent un schéma général d'arborisation dendritique relativement similaire (Feldman 1984; DeFelipe & Fariñas 1992). Deux types de dendrites sont émis directement du corps cellulaire : les dendrites basales et la dendrite apicale. La dendrite apicale qui s'étend en direction de la couche I comprend deux types d'embranchements : les dendrites obliques qui sont des embranchements latéraux et les dendrites touffues qui peuvent s'étendre horizontalement dans la couche I (Figure 6).

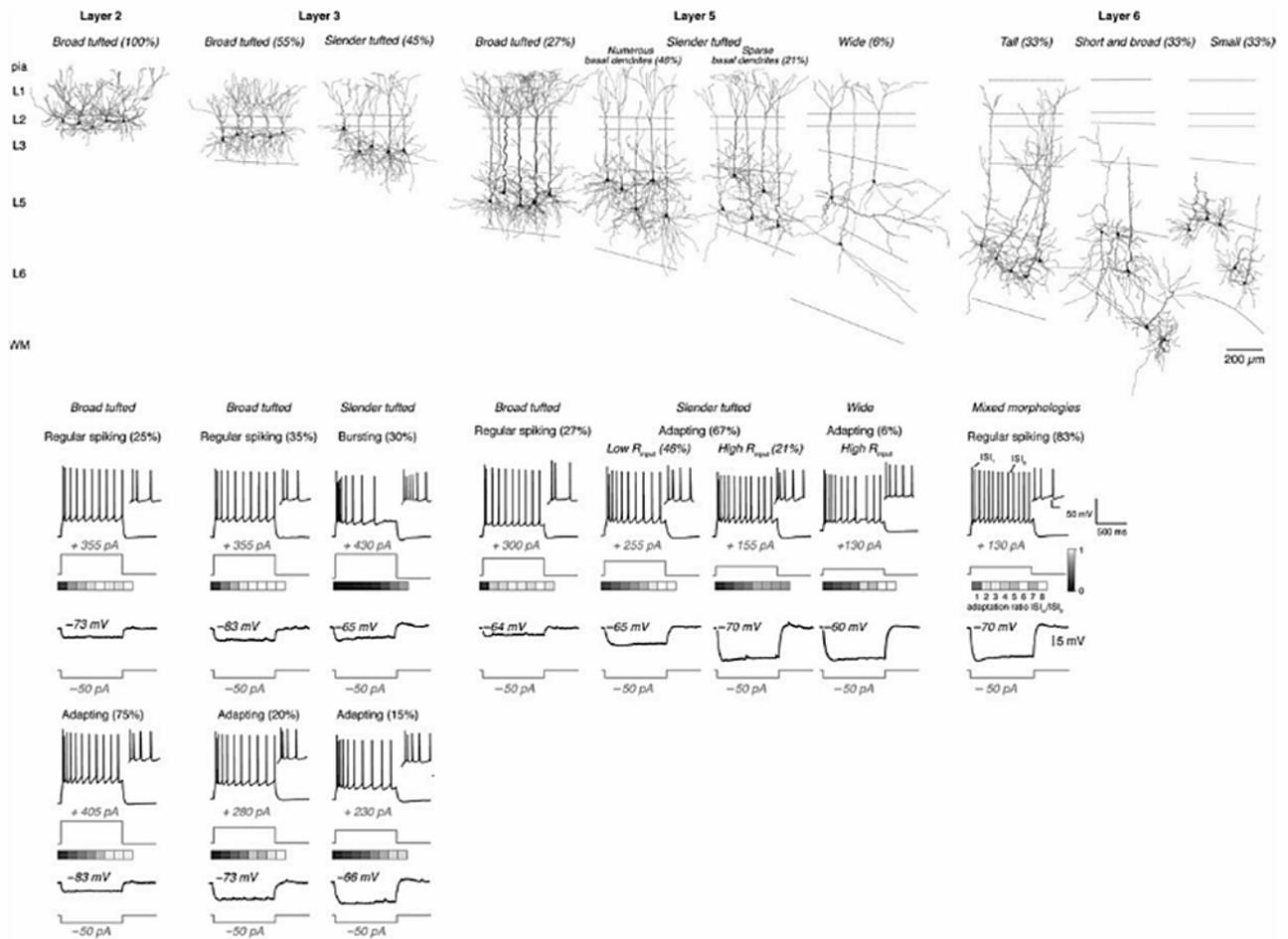


**Figure 6 : Arborisation dendritique typique d'un neurone pyramidale du PLC.** Les flèches indiquent les différents types de dendrites. (Iafrati, Bouamrane et Chavis, non publié)

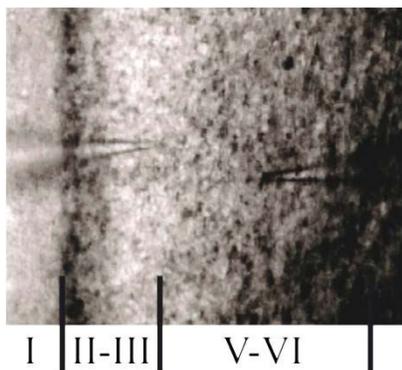
#### Figure 7 : Les différents sous-types de neurones pyramidaux dans le PLC de rat.

(Haut), Reconstruction morphologique du soma et des dendrites de 5 exemple de cellules pour chaque sous-type morphologique. Les couches corticales sont indiqués par des lignes en pointillés.

(Bas), profile électrophysiologique des différents sous-types : La partie supérieure montre la réponse quand un minimum de 10 potentiels d'action ont été déclenchés par une injection de courant en gris. L'encart montre les premiers 3-4 potentiels d'action (barre d'échelle: 25 mV, 50 ms). Dessous, les ratios d'adaptation des intervalles interspikes 1 à 8 sur le 9e intervalle interspike (ISI-9) sont présentés dans l'échelle en gris. La partie inférieure montre la réponse (noir) à un courant hyperpolarisant de -50 pA (gris). Le potentiel de membrane au repos est indiqué. D'après van Aerde et Feldmeyer., 2015.



Cependant la longueur et la complexité de l'arbre dendritique ainsi que la taille du soma de ces neurones varient selon leur localisation laminaire et leur sous-type. En effet, une étude récente (van Aerde & Feldmeyer 2015) utilisant une analyse en clusters des propriétés morphologiques et électrophysiologiques de ces neurones a pu identifier plus de dix sous-types neuronaux répartis dans les différentes couches du PLC (Figure 7 et 8).



**Figure 8 : Image en contraste de phase d'une coupe coronale du PLC chez une souris sauvage.**

Les différences d'anisotropie correspondent aux différentes couches du PLC. Pour effectuer des enregistrements électrophysiologiques, nous plaçons des électrodes de stimulation dans la couche II/III et d'enregistrement dans la couche V/VI.

### *La couche I*

Le PLC a une couche I particulièrement large par rapport aux autres aires corticales. Elle est principalement constituée de fibres nerveuses, notamment des dendrites touffues des neurones pyramidaux des couches sous-jacentes et des projections axonales en provenance d'autres régions corticales et sous-corticales. Cette couche est presque dépourvue de neurones. Cependant, on peut souligner la présence de quelques types d'interneurones dispersés entre les fibres nerveuses. Ses interneurones fournissent, entre autre, une inhibition feed-forward sur les neurones pyramidaux des couches II/III (Cruikshank et al. 2012).

Certaines structures qui projettent vers le PLC telles que le mPFC controlatéral, l'hippocampe ventral et certains noyaux thalamiques établissent leur connexions principalement au niveau de cette couche (Little & Carter 2012 ; Cruikshank et al. 2012).

Quand on visualise des tranches aiguës de PLC au microscope, on peut clairement distinguer la couche I, optiquement vide de la couche II qui apparaît comme une fine bande sombre de corps cellulaires (van Aerde et Feldmeyer., 2015).

### *La couche II*

Dans le PLC, la couche II est fine, environ un quart de la taille de la couche III, et est composée de deux rangées compactes de neurones pyramidaux. Ces neurones se distinguent des neurones pyramidaux localisés dans les autres couches par leurs propriétés morphologiques homogènes et uniques. En effet, ce sont les seuls chez qui l'arborisation des dendrites touffues s'étale sur un champ plus large, plus dense et plus long que celui des dendrites basales. Une autre caractéristique importante est le très court tronc de leur dendrite apicale (van Aerde & Feldmeyer 2015).

Les neurones pyramidaux de cette couche reçoivent des inputs fonctionnels de structures telles que le mPFC controlatéral, du cortex insulaire dorsal, du cortex périrhinal, du MD, de l'hypothalamus latéral, du striatum, de l'amygdale basolatérale (BLA) et de l'hippocampe ventral. Ils projettent en retour vers la BLA, le mPFC controlatéral et le cortex périrhinal ipsilatéral (Gabbott et al. 2005, Little & Carter 2012 et 2013 ; Hirai et al. 2012). Ceci n'est bien sûr pas une liste exhaustive.

Sur des tranches coronales aiguës de PLC visualisées au microscope, la transition de la couche II à la couche III est marquée par une nette réduction dans la densité de cellules, ce qui la rend facilement identifiable (van Aerde & Feldmeyer 2015). Cependant, dans beaucoup d'études réalisées sur le PLC, les couches II et III sont considérées comme étant une seule et même couche II/III.

### *La couche III*

La couche III est environ 2 à 3 fois plus large que la II et a environ la même largeur que la couche I (Van Eden & Uylings 1985 ; Gabbott et al. 2005). Elle contient majoritairement des corps cellulaires de petits neurones pyramidaux. Ces neurones ont des propriétés morphologiques et physiologiques hétérogènes mais ont tous en commun une dendrite apicale proéminente qui bifurque dans la couche I.

Très peu d'études se sont intéressées à la couche III du PLC à part entière et la majorité de nos connaissances sur la connectivité des neurones qui la composent vient d'études qui ne la distinguent pas de la couche II. Cependant, même si ces deux couches semblent partager les mêmes afférences, la densité de ces projections et leur force synaptique sont différentes dans les deux couches (Little & Carter 2012). Les afférences de la couche III quant à elles, semblent complètement différentes de celles de la couche II. En effet, la majorité des neurones pyramidaux de la couche III émettent des afférences interlaminaires vers les couches profondes du PLC (Ueta et al. 2013 et 2014). Toutefois, on peut noter la présence d'une très faible minorité de neurones de projections à longue portée qui contactent des cibles télencéphaliques, principalement le cortex controlatéral, le striatum ipsi/controlatéral et la BLA ipsilatérale (Dembrow & Johnston 2014; Gabbott et al. 2005).

Du fait de l'absence d'une couche IV de cellules granulaires (Uylings et al., 2003), c'est une bande de fibres thalamocorticales qui est utilisée comme repère anatomique pour délimiter la frontière entre la couche III et la couches V (Cruikshank et al. 2012; Hirai et al. 2012). Cette frontière est clairement identifiable sur des tranches coronales aiguës de PLC grâce à la différence de la taille des somas entre les neurones des deux couches (van Aerde & Feldmeyer 2015).

### *La couche V*

La couche V occupe à peu près un tiers du PLC (van Aerde & Feldmeyer 2015). Elle est subdivisée en deux sous-couches : Va et Vb ; cette dernière possède une innervation thalamique plus dense (Morishima et al. 2011).

La couche V contient des corps cellulaires de neurones pyramidaux de taille moyenne à grande. Les neurones pyramidaux de cette couche constituent les principales voies de sortie du PLC et sont sans doute le type cellulaire le mieux étudié dans cette aire corticale. La majorité de ces neurones possèdent une dendrite apicale proéminente qui bifurque dans la couche I pour donner une arborisation dendritique touffue qui peut être catégorisée comme étant effilée ou large.

Sur la base de ce critère morphologique, les neurones de la couche V peuvent être classés en deux sous-types (Wang et al. 2006): les neurones de types A, qui ont une arborisation touffue effilée, constituent une

population qui envoient des projections vers le striatum ipsilatéral, le tronc cérébral, la moelle épinière et le thalamus sans traverser le corps calleux ; les neurones de types B, qui ont une arborisation touffue large, constituent une population projetant dans le cortex controlatéral, le striatum contro- et ipsilatérale et la BLA ipsilatérale en passant par le corps calleux (Lee et al. 2014). La morphologie dendritique et les afférences des neurones pyramidaux de cette couche ne sont pas influencées uniquement par le sous-type neuronal (A ou B), mais aussi par la profondeur corticale à laquelle se trouve le soma de ces neurones (Morishima & Kawaguchi 2006). Les neurones de type A par exemple, projettent vers le thalamus ou la moelle épinières selon qu'ils se trouvent dans la sous-couche Va ou Vb, respectivement (Hirai et al. 2012 ; Ueta et al., 2013). Cela suggère que la densité de l'innervation thalamique (plus dense dans la Vb) joue un rôle déterminant dans la spécialisation des neurones pyramidaux de la couche V. Une étude récente montre que ces neurones reçoivent effectivement des inputs en provenance du thalamus. Ces derniers les contactent au niveau de leurs dendrites basales qui se situent principalement dans la couche V (Shigematsu et al. 2015).

A l'instar de ses connexions avec le thalamus, la majorité des connexions du PLC sont réciproques (Euston et al. 2012). En effet, les neurones de cette couche reçoivent donc des afférences longue-distance en provenance de nombreuses régions corticales et sous-corticales vers lesquelles le PLC projette. Cependant, il est important de signaler que ces afférences peuvent contacter les neurones pyramidaux de la couche V soit directement, en établissant des synapses sur leurs dendrites et leur soma (Zhang et al. 2010; Dombrow et al. 2015), soit indirectement, en connectant d'abord les neurones pyramidaux des couches superficielles II et III qui traitent l'information en amont avant de fournir une excitation feedforward vers les neurones pyramidaux de la couche V (Little & Carter., 2012; Otsuka & Kawaguchi 2008).

Les connexions locales de ces neurones ne se résument pas à leurs connexions avec les neurones pyramidaux des couches II et III, mais il semble que les neurones pyramidaux de la couche V soient aussi interconnectés entre eux de façon très spécifique. En effet, les neurones de type A sont fortement interconnectés entre eux ; ils reçoivent des faibles connexions des neurones B et ne projettent pas en retour vers eux ou très rarement. Ces derniers sont par contre faiblement interconnectés entre eux (Brown & Hestrin 2009; Morishima & Kawaguchi 2006; M Morishima et al. 2011; M Morishima et al. 2011).

La frontière entre la couche V et la couche VI est à équidistance de la frontière couche III/couche V et de la frontière couche VI/matière blanche. Dans les tranches aiguës, la différence de taille de soma permet la distinction des neurones pyramidaux des deux couches. De plus, contrairement aux neurones pyramidaux de la couche V qui ont tous une dendrite apicale ascendante pointant vers les couches I, ceux de la couche VI montrent souvent une dendrite principale inversée ou orientée obliquement ou horizontalement. Bien que la dendrite principale ne puisse être suivie sur une longue distance dans la tranche aiguë, le départ et donc

l'orientation de la dendrite principale par rapport à la surface piaie, est souvent clairement visible (van Aerde & Feldmeyer 2015).

### *La couche VI*

La couche VI comprend le dernier tiers du PLC et peut être subdivisée en deux sous-couches : les sous-couches VIa et VIb. Cette dernière est une fine couche de neurones pyramidaux serrés et allongés horizontalement (Van Eden & Uylings 1985; Gabbott et al. 1997 ; Gabbott et al. 2005).

Les neurones pyramidaux de couche VI sont plus diversifiés dans leur aspect morphologique que ceux de toutes les autres couches du PLC. En effet, la couche VI contient une grande variété de neurones pyramidaux, allant de petits neurones avec une arborisation dendritique complètement contenue dans la couche VI à des neurones dont la dendrite apicale traverse toutes les couches du PLC pour bifurquer dans la couche I. On peut même y observer des neurones pyramidaux dont la dendrite apicale pointe vers la direction inverse c'est-à-dire vers la matière blanche (van Aerde & Feldmeyer., 2015). Une caractéristique de la couche VI du PLC semble être le haut taux de neurones pyramidaux possédant une dendrite apicale s'étendant jusqu'à la couche I (39% dans le PLC contre moins de 5% dans d'autres aires corticales) (Katz 1987; Van Brederode et Snyder 1992; Bailey et al. 2012). Un autre fait intéressant est que malgré la grande diversité morphologique des neurones pyramidaux de cette couche, les propriétés électrophysiologiques passives et actives de ces derniers semblent être homogènes ; elles sont toutefois spécifiques à ces neurones. En effet, il semble que ces neurones soient hautement excitables par rapport aux neurones pyramidaux des autres couches du PLC (van Aerde KI. & Feldmeyer D., 2015).

Les efférences qui partent de cette couche contactent des structures sous-corticales telles que l'hypothalamus latéral, le striatum et la BLA ; mais le thalamus constitue de loin la principale cible de ces projections. Effectivement, dans le PLC, plus de 41% des neurones pyramidaux de la couche VI projettent vers le thalamus MD (Gabbott et al., 2005).

Les neurones pyramidaux de la couche VI reçoivent en retour des inputs thalamiques (Heidbreder & Groenewegen 2003). Toutefois, les afférences de la couche VI du PLC ne sont pas bien étudiées ce qui fait que peu d'informations sur le sujet sont disponibles. Certaines études suggèrent que les neurones pyramidaux de cette couche sont peut être contactés par des inputs venant des noyaux du tronc cérébral et du prosencéphale basal. En effet, on peut détecter dans cette couche des fibres dopaminergiques (Van De Werd et al. 2010) et une forte expression de certains récepteurs à la dopamine par les neurones pyramidaux de cette couche en comparaison à ceux des autres couches. 38% des neurones pyramidaux de la couche VI expriment le récepteur D1 contre 20% dans les couches II, III et V (Santana et al. 2009). Ces neurones

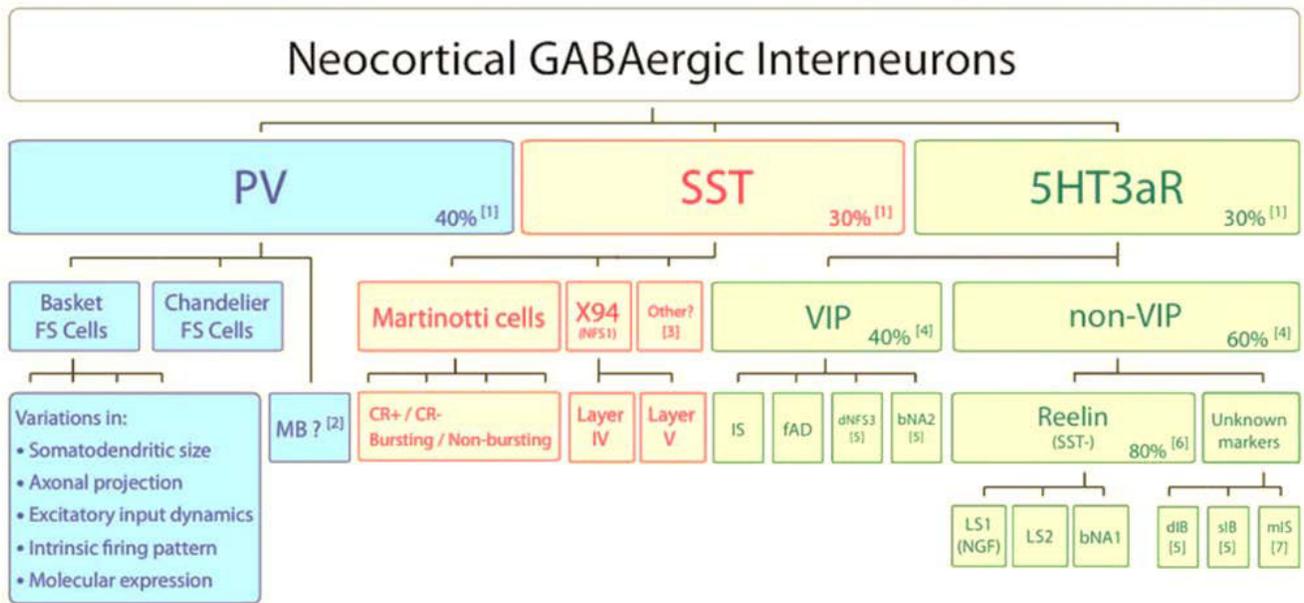
expriment aussi d'autres types de récepteurs à la dopamine ainsi que des récepteurs à d'autres neuromodulateurs tels que la sérotonine et l'acétylcholine (Santana et al., 2009 ; Poorthuis et al. 2013). A ma connaissance, très peu d'informations sont disponibles sur la connectivité de ces neurones avec les neurones pyramidaux des autres couches hormis l'input glutamatergique qu'elles reçoivent des neurones pyramidaux de la couche V (van Aerde & Feldmeyer., 2015).

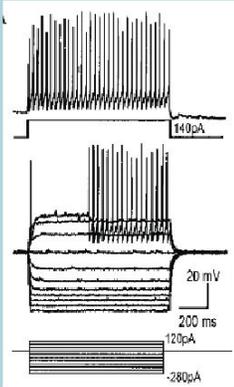
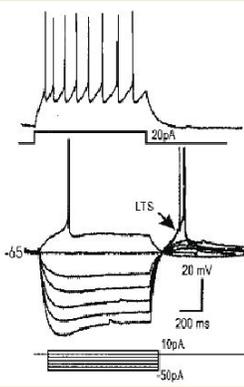
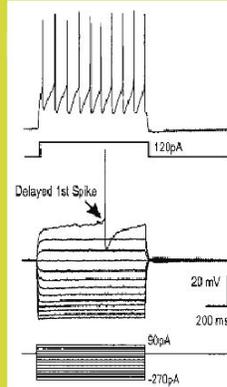
Enfin, la baisse notable de la densité des corps cellulaires après la couche VI rend la limite entre cette couche et la matière blanche très facilement discernable sur des tranches coronales aigues du PLC visualisées au microscope (Gabbott et al., 1997).

### **3.2. Neurones GABAergiques du PLC**

Même si les neurones pyramidaux glutamatergiques constituent la majorité des neurones du microcircuit du PLC (et de tout néocortex en général), le traitement complexe de l'information nécessite une autre pièce maîtresse : les neurones GABAergiques. Ces neurones sont présents dans toutes les couches corticales. Ils sont l'unique source du neurotransmetteur GABA et la principale source d'inhibition dans tout le système nerveux central des mammifères (Le Magueresse & Monyer 2013). Ils jouent un rôle crucial dans le contrôle et l'orchestration de l'activité des assemblées de neurones pyramidaux ainsi que dans la genèse des différents patterns d'oscillations dans le cerveau (Buzsáki 2001; Riga et al. 2014).

Les neurones GABAergiques sont extrêmement divers au niveau de leurs propriétés morphologiques, fonctionnelles et immunochimiques (Fishell & Rudy 2011; Xu & Callaway 2009; Kawaguchi & Kondo 2002). L'immuno-marquage des marqueurs chimiques est l'un des outils les plus importants pour la classification et l'identification des différentes classes de neurones inhibiteurs car ces marqueurs sont souvent corrélés avec la morphologie et/ou la physiologie des neurones inhibiteurs qui les expriment (Xu & Callaway 2009). Les marqueurs les plus informatifs sont ceux qui présentent un chevauchement d'expression minimal avec les autres marqueurs et qui corréleront le plus avec les autres caractéristiques neuronales. Ces marqueurs incluent notamment la parvalbumine (PV), la somatostatine (SST), le peptide vasointestinal (VIP), la calretinine (CR), la reelin et le récepteur à la sérotonine de type 3a (5HT3aR). Dans le néocortex de la souris, y compris dans le PLC, ceux qui répondent le mieux aux critères d'informativité sont sans doute : la PV, la SST et la 5HT3aR (Figure 9). En effet, l'expression de ces marqueurs ne se chevauchent quasiment jamais et les trois classes de neurones qui les expriment constituent presque 100% des neurones GABAergiques néocorticaux (Rudy et al. 2011).



Class	PV		SST	5HT3aR
Subclass	Basket	Chandelier	Martinotti	Neurogliaform (reelin+)
Local outputs	ECs soma, other PV	axon initial segment of ECs	ECs dendrites including tufts	Non-synaptic GABA release
Local inputs	Excited by ECs Inhibited by PV, SST, VIP		Excited by ECs, Inhibited by VIP	Excited by ECs
Intrinsic physiology	<p><b>Fast spiking</b></p> 		<p><b>Low threshold spiking</b></p> 	<p><b>Late spiking</b></p> 
Embryonic origin	MGE		MGE	CGE
Morphology	Mostly Multipolar		Multipolar, bitufted or bipolar	Mutlipolar, short highly branched dendritic arbors

**Figure 9 : Classification des interneurons GABAergiques du néocortex.** Près de 100% de tous les neurones GABAergiques néocortex appartiennent à l'un des trois groupes définis par l'expression de la parvalbumine (PV), la somatostatine (SST), et le récepteur ionotropiques 5HT3a de la sérotonine (5HT3aR). Chaque groupe se compose de plusieurs sous-groupes. À son tour, chaque sous-groupe est constitué de plusieurs types ou catégories d'interneurones fonctionnellement distinctes. Le tableau montre les principales propriétés de quelques sous-classes d'interneurones GABAergiques. Abréviations : CGE, caudal ganglionic eminence ; CR, calretinin ; fAD, fast-adapting ; FS, fast-spiking ; IS, irregular spiking ; LS, late-spiking ; LTS, low-threshold spike ; MB, multipolar bursting ; MGE, medial ganglionic eminence. (Modifiée d'après : Rudy et al 2010 ; Gorelova et al 2002 ; Harris et Shepherd 2015).

Les neurones GABAergiques peuvent aussi être classés uniquement selon leurs propriétés électrophysiologiques. Sur la base de la forme de leur potentiel d'action (ou *spike* en anglais) et de leur pattern de décharge, on peut notamment distinguer dans le néocortex des neurones GABAergiques : fast-spiking (FS), late-spiking (LS), low-threshold spike (LTS), irregular spiking, (IS), regular spiking nonpyramidal (RSNP), burst-spiking nonpyramidal (BSNP), fast-adapting (Fishell & Rudy 2011 ; Markram et al. 2004). Dans le PLC et le mPFC en général, au moins quatre de ces types ont pu être identifiés : les FS, les LS, les LTS et les RSNP (Gorelova et al. 2002; Kawaguchi et al. 1993 et 1995; Otsuka & Kawaguchi 2013 ; Cruikshank et al. 2012).

Cependant, comme pour toute classification biologique, une catégorisation à un seul critère suffit rarement. En combinant, les propriétés immunochimiques (PV, SST...) et électrophysiologiques (FS, LS...) aux propriétés morphologiques (multipolaires, bipolaires, ciblant le perisoma ou des compartiments précis de l'axone ou des dendrites...) et à l'origine embryonnaire (éminences ganglionnaires médiale « MGE » ou caudale « CGE »...), on arrive à des sous types de neurones GABAergiques corticaux de mieux en mieux définis (Fishell & Rudy 2011 ; Markram et al. 2004, Harris & Shepherd 2015).

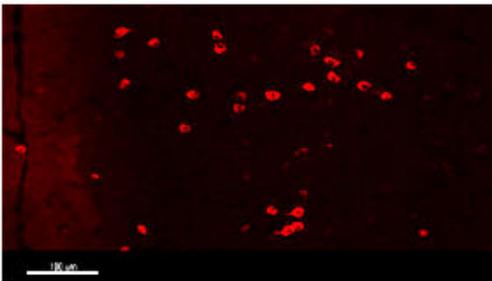
### **3.2.1. Localisation laminaire et outputs locaux des neurones GABAergiques du PLC**

Les deux sous types d'interneurones inhibiteurs les mieux étudiées dans le PLC sont probablement : les cellules basket fast-spiking PV+ et les cellules de Martinotti SST+ (Riga et al. 2014). Ces interneurons sont capables d'exercer un puissant contrôle sur le circuit local du PLC en établissant des synapses inhibitrices au niveau de différents compartiments des neurones pyramidaux de toutes les couches. En effet, il a été montré que les neurones fast-spiking PV+ (qui ciblent le peri-soma) contrôlent les outputs des neurones pyramidaux, tandis que les neurones SST+ (qui ciblent les dendrites distales) modulent les entrées que ces neurones reçoivent (Kvitsiani et al. 2013; Sparta et al. 2014).

Les interneurons des trois classes semblent contacter les neurones pyramidaux de type A et B (Otsuka & Kawaguchi 2013 ; Shepherd 2013). Toutefois certaines connexions semblent plus fortes que d'autres : le

type A par exemple, reçoit une inhibition plus forte des interneurons FS PV+ (Lee et al. 2014). Ces derniers sont présents dans les couches II, III et V mais sont particulièrement abondants dans la couche V (Puig et al. 2010; Kawaguchi & Kubota 1997). Les neurones pyramidaux des couches II et III sont aussi contactés par des interneurons, notamment ceux de la couche I qui semblent tous être de type LS PV négatifs (Cruikshank et al 2012 ; Chu et al. 2003). Même si ces deux études n'ont pas précisé pour quel type de marqueurs ces neurones sont immuno-positifs, il y a de fortes chances qu'ils soient 5HT3aR+. En effet, la majorité des neurones de type LS sont 5HT3aR+ et la plupart des neurones de la couche I sont des interneurons exprimant le 5HT3aR (Puig & Gulledge 2011; Rudy et al. 2011 ; Harris & Shepherd 2015).

La reelin, principale protéine d'intérêt dans ma thèse, est aussi un marqueur immunochimique utilisé pour catégoriser les neurones GABAergiques. Elle est exprimée et sécrétée préférentiellement par la sous-classe 5HT3aR+ non-VIP. En effet, dans le néocortex en général, plus de 80% de ces neurones expriment la reelin (Lee et al. 2010). De plus, la reelin est exprimée par environ 73% des neurones 5HT3aR+ non-VIP de la couche I (Lee. et al. 2010), ces derniers représentant plus de 90% des neurones de cette couche (Rudy et al. 2011). L'expression de la reelin est également retrouvée dans une fraction de neurones SST+ (Miyoshi et al. 2010). Cependant, aucune de ses études n'a été réalisée dans le PLC. Bien qu'une analyse des sous-types neuronaux exprimant la reelin spécifiquement dans le PLC reste à ce jour à déterminer, nous avons pu détecter au laboratoire du marquage reelin dans le PLC (Figure 10).



**Figure 10 : Expression de la reelin dans le PLC.** Détection de la protéine reelin par immunohistochimie sur tranche contenant le PLC issue d'une souris sauvage à P26. On peut remarquer que le signal fluorescent est intense au niveau des corps cellulaires des couches I, II, III et V. (Bouamrane et al., non publié).

Enfin, il semblerait que dans le PLC, les interneurons SST+ soient distribués de manière plutôt uniforme dans toutes les couches (Gaykema et al. 2014)

### **3.2.2. Interconnectivité et inputs locaux des neurones GABAergiques du PLC**

A ma connaissance, aucune étude ne s'est intéressée aux inputs locaux des neurones GABAergiques dans les PLC, ni même dans le PFC. Cependant, plusieurs études réalisées dans les aires néocorticales granulaires et agranulaires démontrent que tous les neurones GABAergiques reçoivent de forts inputs excitateurs et inhibiteurs en provenance des couches II et III. Les inputs des autres couches semblent différentes d'un sous type d'interneurones à un autre (Shepherd 2013 ; Rudy et al. 2011 ; Xu & Callaway, 2009).

Les interneurons FS par exemple sont préférentiellement excités par les neurones pyramidaux de la couche V, alors que les LTS sont plus excités par ceux des couches II et III, et que les LS semblent recevoir une forte excitation en provenance de toutes les couches (Shepherd 2013 ; Xu et Callaway 2009). Les interneurons corticaux sont aussi connectés entre eux, et là aussi les inputs varient selon le sous-type. En effet, les FS et les LS sont principalement inhibés par les interneurons des couches II et III, alors que les LTS reçoivent des inputs GABAergiques en provenance de toutes les couches (Shepherd 2013 ; Xu X. & Callaway 2009).

Les interneurons établissent des contacts entre eux par des synapses GABAergiques mais aussi grâce à des couplages électriques. Ces synapses électriques se produisent plus fréquemment entre des neurones GABAergiques de la même classe : entre les neurones FS PV+, ou les neurones SST+ par exemple, mais jamais entre les PV+ et les SST+ (Kawaguchi & Kondo 2002). Un sous-type d'interneurons LS appelé cellules neurogliaformes (5HT3aR+, reelin+) semble toutefois échapper à cette règle. Ces neurones peuvent établir des synapses électriques non seulement entre eux mais aussi avec d'autres types interneurons (Rudy et al. 2011). Les cellules neurogliaformes reelin+ sont également uniques dans le sens où contrairement aux autres types d'interneurons, les potentiels postsynaptiques inhibiteurs (ou IPSP) qu'elles déclenchent sont lents, durent plus longtemps et se font à travers une activation combinée des récepteurs GABA<sub>A</sub> et GABA<sub>B</sub> (Tamás et al. 2003; Oláh et al. 2007). Ces IPSP induisent une longue hyperpolarisation des membranes d'interneurons et de cellules pyramidales. Grâce à toutes ces caractéristiques uniques qui leur permettent de relier plusieurs réseaux d'interneurons et de neurones pyramidaux, les cellules neurogliaformes reelin+ pourraient jouer un rôle central dans la genèse et le modelage de l'activité synchronisée des circuits neuronaux (Price et al. 2005; Simon et al. 2005; Zsiros & Maccaferri 2005).

### **3.2.3. Connectivité extrinsèque des neurones GABAergiques du PLC**

Les neurones GABAergiques ne sont pas tous des interneurons ; en d'autres termes ils ne participent pas uniquement à la connectivité du microcircuit local mais peuvent aussi projeter vers d'autres régions cérébrales. Les études anatomiques utilisant des techniques de traçage rétrograde et d'immunohistochimie ont estimé que, chez les souris, les chats et les singes, 1 à 10% de toutes les cellules GABAergiques néocorticales donnent lieu à des projections longue-portées (Peters et al. 1990; Tomioka & Rockland 2007; Higo et al. 2009; Tamamaki & Tomioka 2010). Une étude récente a démontré la présence dans le PLC de neurones GABAergiques qui possèdent des projections longue-portée fonctionnelles vers le noyau accumbens (NAcc) dans le striatum (Lee et al. 2014). Ces neurones sont présents dans les couches II, III et V et ne semblent pas faire partie d'une population homogène ; en effet, certains étaient FS PV+ alors que d'autres étaient VIP+.

En parallèle, les neurones GABAergiques peuvent aussi participer à la connectivité extrinsèque du PLC en traitant et filtrant des inputs provenant d'autres régions cérébrales. En effet, les interneurons LS de la couche I, notamment les cellules neurogliaformes 5HT3aR+/reelin+ reçoivent une excitation synaptique forte et rapide des afférences thalamiques qui projettent dans cette couche (Cruikshank et al. 2012). Ces interneurons étaient par la suite en mesure d'induire une inhibition feed-forward sur des neurones pyramidaux des couches II/III. Dans le néocortex en général, les neurones SST+, de par leurs propriétés morpho-fonctionnelles et leur connectivité, semblent aussi filtrer les inputs longue-portée que les neurones pyramidaux reçoivent (Kvitsiani et al. 2013). Par ailleurs, plusieurs éléments laissent penser que les interneurons du PLC reçoivent également des afférences des noyaux du tronc cérébral et du prosencéphale basal qui sont la principale source de neuromodulateurs du PLC. En effet, outre la présence d'afférences de ces centres neuromodulateurs dans le PLC (Dembrow & Johnston 2014a), il a été montré que les interneurons de toutes les couches du PLC expriment des récepteurs à l'acétylcholine, à la sérotonine, à la dopamine et à la noradrénaline. Ces neuromodulateurs induisent divers effets sur les interneurons du PLC (Bloem et al. 2014; Puig & Gullledge, 2011 ; Gorelova et al. 2002; Liu et al. 2014; Dembrow & Johnston, 2014). Les inputs des autres aires corticales semblent aussi cibler les interneurons du PLC. Une étude récente a montré que l'activation spécifique de neurones pyramidaux dans le cortex infralimbique, ou ILC (une autre région du mPFC) induisait une inhibition des neurones pyramidaux du PLC ; cette inhibition ne dépendait pas de l'activation des neurones GABAergiques de l'ILC (Ji & Neugebauer 2012). Les auteurs suggèrent que les neurones pyramidaux de l'ILC activent les interneurons du PLC qui envoient à leur tour une inhibition feed-forward vers les neurones pyramidaux du PLC. Bien que cette étude ne le démontre pas de manière catégorique, elle suggère très fortement que les interneurons du PLC reçoivent des inputs glutamatergiques d'autres aires corticales. Cependant, une caractérisation plus précise des inputs corticaux et sous-corticaux des différentes classes de neurones GABAergiques du PLC est encore nécessaire.

Finalement, je vais clôturer cette partie sur les neurones GABAergiques dans le PLC en signalant un fait intéressant : dans cette aire corticale, les neurones du circuit local sont la principale mais pas l'unique source du GABA (Steketee 2003). En effet, plusieurs études montrent que des neurones GABAergiques dans la VTA et le prosencéphale basal projettent vers le PLC et le mPFC en général (Pirot et al. 1992; Carr & Sesack 2000; Gritti et al. 1997).

L'ensemble des données bibliographiques présentées dans cette partie montre la complexité de l'organisation du microcircuit neuronal du PLC. Ce microcircuit qui permet d'intégrer, de traiter et de filtrer les informations, sous-tend le large panel de fonctions exécutives et mnésiques dans lesquelles le PLC est impliqué.

#### 4. Les fonctions du PLC

Comme nous l'avons vu dans la partie précédente, le PLC effectue un grand nombre de connexions réciproques avec plusieurs structures cérébrales (résumées dans la figure 11). Cette connectivité extrinsèque implique le PLC dans plusieurs circuits cérébraux responsables de différentes fonctions. Ceci lui donne donc accès à des informations sensorielles, émotionnelles, mnésiques et somatiques et lui permet ainsi d'exercer une influence dite « Top-down » sur de nombreuses fonctions cognitives (Barbas 2014; Euston et al. 2012).

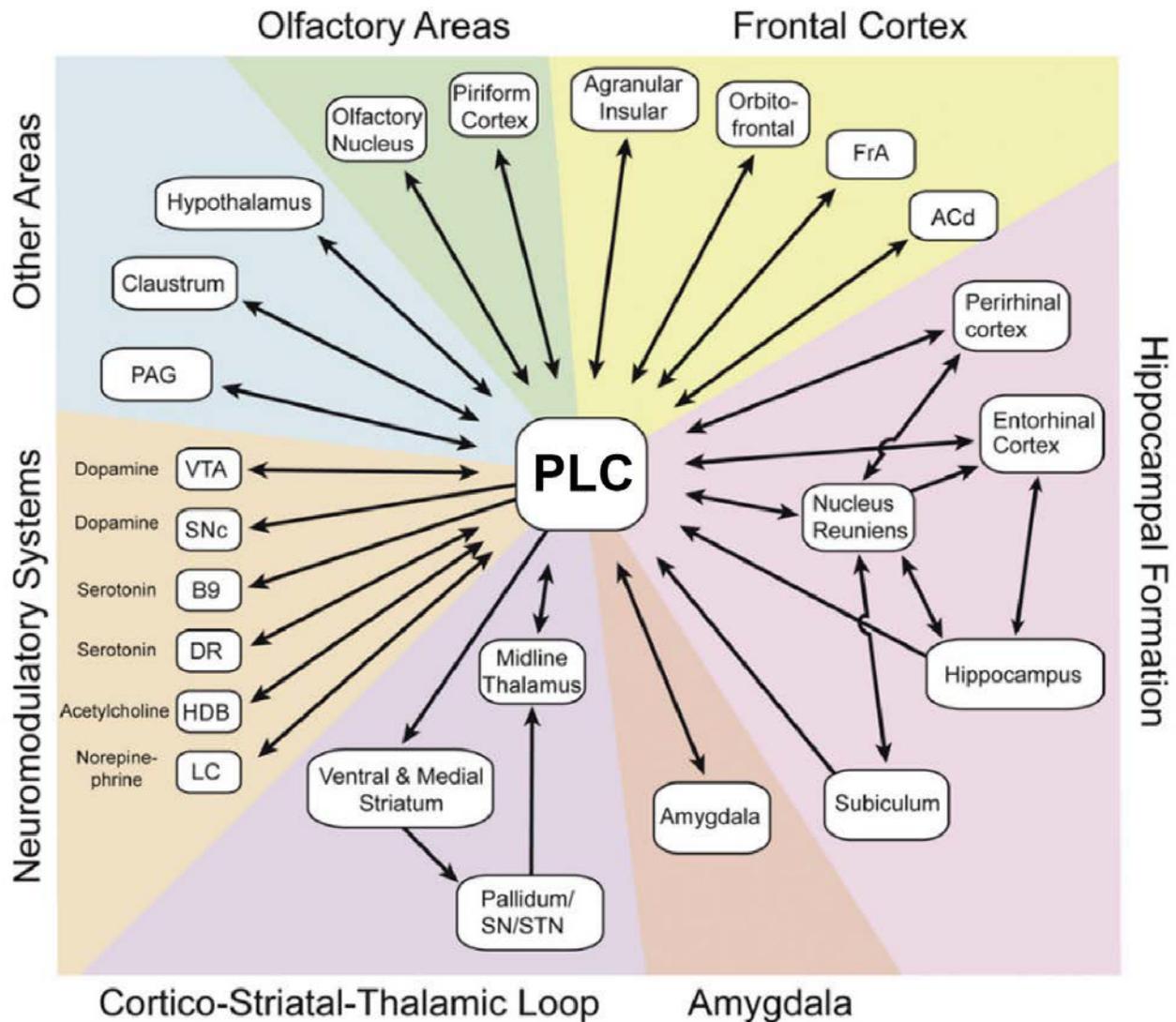


Figure 11 : Les principales connexions du PLC.

Les flèches indiquent la direction des connexions. Seules les projections les plus denses anatomiquement sont représentées. Par conséquent, certaines connexions potentiellement importantes, telles que celle reliant le PLC à l'habenula latérale, ne sont pas représentés. Abréviations : ACD, cortex cingulaire antérieur dorsal ; B9, cellules B9 ; DR, noyau du raphé dorsal ; Fra, cortex frontal d'association; HDB, branche horizontale de la bande diagonale de Broca ; LC, locus coeruleus ; PAG, substance grise périaqueducule ; SNc, substance noire *pars compacta* ; SN, substance noire *pars reticulata* ; STN, noyau sous-thalamique ; VTA, aire tegmentale ventrale. D'après Euston et al., 2012.

Bien que le PLC soit une région préfrontale à part entière qui possède une cytoarchitecture, une connectivité et des fonctions spécifiques, le considérer comme une région isolée et indépendante des autres aires du PFC conduit selon moi à une vision trop étroite de son rôle. En effet, les aires du PFC sont connectées aux autres régions cérébrales de manière similaire ; plus important encore, toutes les régions préfrontales sont très interconnectées et forment un grand réseau dans lequel elles interagissent pour participer à un éventail plus large de processus cognitifs (Euston et al. 2012 ; Barbas 2014). Cependant, une vision globale du rôle des aires préfrontales a aussi ses limites. En effet elle peut conduire à des observations contradictoires ; par exemple, des lésions génériques du mPFC ont conduit à l'expression de comportement de dépression (Klein et al. 2010) alors que l'inactivation pharmacologique transitoire localisée dans une seule sous-région du mPFC a induit une réponse antidépressive (Slattery et al. 2011). Cet exemple parmi tant d'autres, reflète le fait qu'une approche réductionniste traitant du rôle spécifique de chaque sous-région du PFC est également nécessaire à la compréhension du rôle globale du PFC. Toutefois, l'approche réductionniste a aussi ses limites. La principale limite découle de l'interconnectivité des sous-régions du PFC car elle implique deux faits importants : d'une part, une région peut compenser la perte d'une autre et d'autre part, une région peut déjouer les fonctions d'une autre. En effet, une étude récente a montré que le mPFC et le cortex orbitofrontal ventrolatéral sont capables de compenser la perte de fonction de l'un et de l'autre dans un paradigme qui teste l'habilité à utiliser des représentations multisensorielles d'un objet (Reid et al. 2014). La perte d'une sous-région peut donc déplacer une partie de ses fonctions vers une autre sous-région qui normalement ne serait pas impliquée. Parallèlement, l'un des exemples qui montre qu'une sous-région du PFC peut déjouer la fonction d'une autre est celui de l'inhibition des outputs du PLC par l'ILC et de leurs rôles antagonistes dans l'expression de la peur et la recherche de drogue (Ji & Neugebauer 2012; Peters et al. 2009).

L'approche visant à considérer le PLC comme une aire distincte responsable de fonctions spécifiques et celle consistant à avoir une vision globale des fonctions du PLC en tenant compte de ses fortes interactions avec les autres aires du mPFC et du PFC en général ne sont pas des approches contradictoires, au contraire, elles peuvent apporter des informations complémentaires. Néanmoins, la compréhension des fonctions du PLC demeure une tâche compliquée ; il est difficile de bien distinguer les fonctions dans lesquelles le PLC est impliqué de celles où il apporte une contribution unique qui ne peut pas être gérée par une autre région. Il est également difficile de déterminer le rôle du mPFC en général. De nombreuses études démontrent une implication du mPFC dans différents types de mémoires, dans le contrôle émotionnel et autonome et dans le contrôle des actions. Cependant il semblerait que ce qui différencie le mPFC et ses sous-régions des autres aires corticales n'est pas ses capacités mnésiques, qui semblent être partagées avec les autres cortex, mais plutôt son implication spécifique dans le guidage des comportements adaptatifs (Euston et al. 2012).

Les théories sur le mPFC stipulent le schéma de fonctionnement suivant : les inputs apportent au mPFC des informations sensorielles et émotionnelles sur le contexte et les événements en cours ; ce dernier traite ces inputs en y intégrant les informations mnésiques sur les expériences passées, et prédit la réponse comportementale ou émotionnelle la plus adaptée en anticipant le résultat émotionnel du comportement en question (Miller & Cohen 2001; Bechara & Damasio 2005; Fellows 2007). Le PLC en tant que partie intégrante du mPFC est impliqué dans des fonctions mnésiques, exécutives et adaptatives (Gabbott et al. 2005; Heidbreder & Groenewegen 2003).

Dans les prochaines pages, je vais décrire les fonctions du PLC en tant qu'aire corticale distincte et en tant que partie intégrante du mPFC en apportant au mieux les informations sur comment ses connexions avec des circuits cérébraux spécifiques lui permettent d'effectuer telle ou telle fonction.

#### 4.1. Fonctions mnésiques

Comme toutes les autres aires corticales, les sous-régions du mPFC sont impliquées dans les fonctions mnésiques (Euston 2012). Ces fonctions sont basées sur deux types de traitements d'information. Tout d'abord, il y a la phase d'apprentissage, durant laquelle le cerveau doit rapidement former une représentation neurale initiale de la nouvelle expérience. Ensuite, le cerveau doit consolider cette nouvelle représentation et la stocker dans une organisation optimisée pour les processus ultérieurs de récupération de souvenirs qui sont déclenchés par les indices ou les stimuli qui ont été au préalable associés à l'expérience initiale. Plusieurs éléments suggèrent que le mPFC est impliqué dans de multiples processus d'apprentissage, de consolidation et de récupération mnésiques.

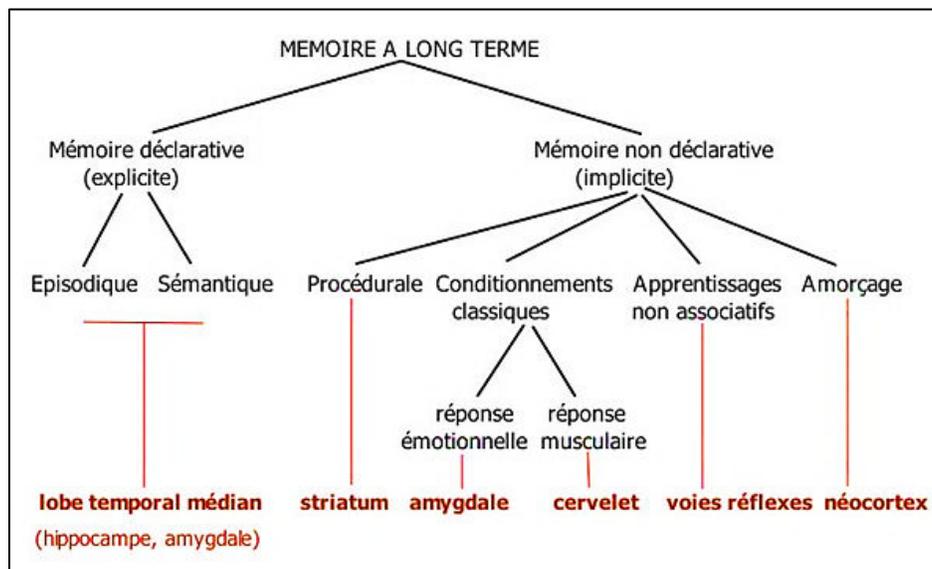


Figure 12 : Les différents types de mémoires à long terme et les principales structures cérébrales qu'elles mettent en jeu.

Il existe plusieurs types de mémoire (Figure 12) ; chez l'humain, on parle de mémoire à court terme (ou mémoire de travail) et de mémoire à long terme. Cette dernière comporte la mémoire implicite et la mémoire explicite. La mémoire implicite regroupe la mémoire procédurale (ou habitudes), les mémoires non associatives (ou réflexes), l'amorçage et les conditionnements émotionnelles et musculaires. La mémoire explicite (ou déclarative) est généralement divisée en deux types sémantique et épisodique. La mémoire sémantique contient les connaissances générales (faits, idées, définitions, concepts) mais pas les informations sur où et quand un fait a été appris. La mémoire épisodique est quant à elle le souvenir de l'apprentissage en soi ; elle contient des informations sur ce que nous avons appris et sur le contexte temporel, spatial et émotionnel de l'expérience durant laquelle a eu lieu l'apprentissage. Ce type de mémoire permet aussi de lier les événements passés entre eux et de les classer dans une séquence temporelle selon leur ordre d'occurrence. Toutefois, cette classification des types de mémoire est difficile à appliquer chez les espèces non-humaines. En effet, même s'il est clair que les rongeurs possèdent une mémoire de travail, certaines formes de mémoires à long termes ne semblent pas présentes ou sont difficiles voire impossibles à étudier chez ces animaux ; c'est notamment le cas pour la mémoire sémantique. Néanmoins, grâce à d'ingénieux tests comportementaux, nous pouvons actuellement étudier plusieurs types de mémoires implicites et certains aspects de la mémoire épisodique (Tulving 1972 et 2002; Hampton & Schwartz 2004).

L'étude des fonctions mnésiques chez les rongeurs, chez l'Homme et chez d'autres espèces mammifères a montré que certaines formes de mémoire et d'apprentissages sont dépendants du mPFC et ne peuvent pas avoir lieu si le fonctionnement de cette région corticale n'est pas optimal, alors que dans d'autres formes l'implication du mPFC n'est pas irremplaçable. En effet, un animal peut très bien se passer du mPFC pour certaines étapes de plusieurs formes de mémoire à long terme par exemple, alors que pour la mémoire de travail à court terme le mPFC est indispensable.

Dans les prochaines pages, je vais parler du rôle du mPFC dans les processus mnésiques en partant des fonctions les plus générales, auxquelles cette aire corticale contribue sans pour autant être indispensable, vers les fonctions les plus spécifiques qui ne peuvent pas avoir lieu sans le mPFC. Par soucis de clarté, j'ai également choisi de ne détailler le rôle du mPFC que pour la mémoire des séquences temporelles, une forme de mémoire épisodique à long terme qui présente un grand intérêt pour mon travail de thèse ; j'intégrerai les autres formes de mémoires dans la partie « fonctions exécutives et adaptatives ». Comme nous allons le voir, le mPFC joue des rôles similaires dans la majorité des types de mémoire dans lesquelles il est impliqué. Ceci est une autre raison qui me laisse penser qu'il est plus intéressant de comprendre comment l'implication du mPFC dans certains types de mémoires (telles que la mémoire émotionnelle de peur ou la mémoire des habitudes) est nécessaire à ses fonctions exécutives et adaptatives qui lui sont

spécifiques, au lieu de définir son rôle dans chaque type de mémoire. Ainsi, dans la partie « fonctions mnésiques », je vais me focaliser sur la façon dont le mPFC est impliqué dans chaque étape du processus mnésique plutôt que d'établir une liste des mémoires dans lesquelles cette région est impliquée. Toutefois, je citerai tout au long de cette partie de façon très brève, quelques exemples de types de mémoire impliquant le mPFC.

Pour l'instant, je vais commencer par discuter des interactions entre le mPFC et l'hippocampe, car il est difficile de parler d'apprentissage et de mémoire sans citer l'hippocampe qui y joue un rôle majeur. En effet, l'implication du mPFC dans les fonctions mnésiques est étroitement liée à ses fortes connexions avec l'hippocampe.

#### **4.1.1. Rôle des afférences hippocampiques du mPFC dans l'apprentissage et la mémoire**

En comparaison à d'autres aires corticales, les projections que reçoit le mPFC en provenance du complexe hippocampique sont particulièrement fortes ; en effet l'hippocampe ventral et le subiculum projettent intensément vers le mPFC (Jay & Witter 1991; Cenquizca & Swanson 2007). Cette voie est unidirectionnelle mais peut être réciproque grâce aux efférences du mPFC vers le cortex entorhinal latéral et le noyau reuniens (Burwell & Amaral 1998; Vertes et al. 2007).

Plusieurs études suggèrent deux rôles des entrées hippocampiques du mPFC : fournir les informations sur le contexte en cours et permettre un apprentissage associatif rapide. Je reviendrai plus tard, dans la partie traitant des fonctions exécutives et adaptatives du mPFC, sur le rôle de l'hippocampe en tant que source d'informations contextuelles ; pour l'instant, je vais me focaliser sur l'autre rôle des projections de l'hippocampe vers le mPFC, à savoir, soutenir l'apprentissage associatif et permettre par la suite la mémorisation.

Une étude a fourni la preuve que des associations d'informations motrices et visuelles formées dans le cortex prémoteur dépendent au début des mécanismes hippocampiques d'association rapides, mais ensuite, à travers la consolidation, elles deviennent indépendantes de l'hippocampe (Murray et al. 2000). Un principe similaire peut s'appliquer au mPFC. En d'autres termes, la formation et la consolidation rapide des associations entre les contextes, les événements et les réponses comportementales au sein de mPFC dépendraient de l'hippocampe, tandis que le stockage à long terme serait médié principalement par le mPFC. Plusieurs résultats soutiennent ce concept.

L'une des preuves de l'implication des interactions entre l'hippocampe et le mPFC dans l'apprentissage et la mémoire, est le couplage des rythmes électrophysiologiques entre ces deux structures, particulièrement dans la gamme des ondes thêta. En effet, environ la moitié des cellules du mPFC présente un verrouillage

de phase aux ondes thêta hippocampiques quand l'animal s'engage dans une tâche spatiale (Hyman et al. 2005 ; Siapas et al. 2005). En fait, cette synchronisation de l'activité neuronale en onde thêta est associée à l'apprentissage et la récupération des souvenirs. Par ailleurs, la concordance des ondes thêta entre ces deux régions cérébrales augmente de plus en plus à mesure que l'animal s'approche du moment où il doit effectuer un choix guidé par la mémoire (Benchenane et al. 2010; Fujisawa & Buzsáki 2011; Jones & Wilson 2005). En outre, cette activité liée au choix augmente après l'apprentissage d'une nouvelle règle (Benchenane et al. 2010).

Le rôle de la communication entre l'hippocampe et le mPFC dans la mémoire a également été étudié via des déconnexions fonctionnelles, dans lesquelles le mPFC est inactivé dans un hémisphère et l'hippocampe est inactivé dans l'autre. Vu que les projections de l'hippocampe vers le mPFC sont ipsilatérales, l'animal se trouve avec un hippocampe et un mPFC intacts mais sans aucune connexion entre eux (Floresco et al. 1997). Ces études ont montré que la communication hippocampe-mPFC est nécessaire à la mémoire dans plusieurs paradigmes comportementaux incluant le labyrinthe submergé de Morris ou piscine de Morris (Wang & Cai 2008), le labyrinthe en T (Wang & Cai 2006), le labyrinthe radial (Goto & Grace 2008) et le labyrinthe de Hebb-Williams, un test de mémoire spatiale dans lequel l'animal doit se rappeler du parcours qu'il a effectué pour obtenir une récompense (Churchwell et al. 2010). De plus, les défauts mnésiques générés suite à des déconnexions hippocampe-mPFC sont presque les mêmes que ceux observés après une inactivation bilatérale du mPFC (Euston et al. 2012).

Ainsi, grâce au soutien de l'hippocampe, le mPFC peut non seulement acquérir et consolider des souvenirs, mais aussi les récupérer une fois qu'ils sont stockés dans la mémoire.

#### **4.1.2. Rôle du mPFC dans l'apprentissage**

L'apprentissage peut être défini comme le mécanisme grâce auquel l'expérience conduit à la formation de nouvelles représentations mnésiques ou souvenirs (Morici et al. 2015).

Le mPFC est impliqué dans certains types d'apprentissages, en particulier, les apprentissages des contingences entre les actions et les résultats et les apprentissages qui associent les contextes et les événements aux réponses comportementales les plus appropriées (Dalley et al. 2004; Euston 2012). Le mPFC joue, par exemple, un rôle important dans l'acquisition et l'extinction de la peur conditionnée (Peters et al. 2009), et l'apprentissage guidé par la récompense (Rushworth et al. 2011).

Lors de l'apprentissage, d'autres régions cérébrales peuvent compenser l'absence d'une ou plusieurs sous-régions du mPFC. En effet, le mPFC est l'un des nombreux systèmes cérébraux d'apprentissage qui opèrent en parallèle. Ces autres systèmes comprennent probablement l'amygdale ainsi que d'autres aires corticales

et striatales. De plus, il semblerait que durant les 30 premières minutes de l'apprentissage, l'hippocampe apprend plus vite que le mPFC. Cependant, une fois qu'une tâche est apprise avec un mPFC intact, le souvenir de cette tâche se retrouve dépendant de cette structure qui devient nécessaire aux phases de consolidation et de récupération du souvenir (Euston et al 2012). Par exemple, même si des études électrophysiologiques ont montré qu'une population de neurones du PLC s'active durant l'apprentissage des associations odeur-récompense, des rats avec un PLC lésé peuvent facilement acquérir et se rappeler de ces associations, alors que le blocage des mécanismes de consolidation dans le PLC altère ces associations lorsqu'elles sont testées deux jours après l'apprentissage (Birrell & Brown 2000; Tronel & Sara 2003). Des résultats similaires ont été observés dans les associations action-récompense et la reconnaissance d'objet (Ennaceur et al. 1997; Izaki et al. 2000; Akirav et al. 2004 ; Ostlund & Balleine 2005).

Ainsi le mPFC est impliqué dans les processus d'apprentissage associatif, mais semble plutôt nécessaire à la consolidation et la récupération mnésiques.

#### **4.1.3. Rôle du mPFC dans la mémoire à long terme**

De multiples études ont impliqué le mPFC dans ce qu'on appelle la mémoire à long terme (quelques heures ou plus). En effet, le mPFC participe à la récupération des souvenirs récents appris 1 ou 2 jours plus tôt (Corcoran & Quirk 2007), et est indispensable à la récupération des souvenirs lointains, acquis plusieurs semaines auparavant (Bontempi et al. 1999; Frankland 2004; Takashima et al. 2006). De plus, un nombre considérable de faits soulignent le rôle du mPFC dans les phases précoces de la consolidation des souvenirs (Tronel et Sara 2003).

##### **4.1.3.1. Rôle dans la consolidation mnésique**

A ce jour, il est largement admis que, pour durer plus de quelques heures, les mémoires nécessitent des changements durables dans l'efficacité de la transmission synaptique ou « plasticité synaptique à long terme ». Cette plasticité synaptique activée durant l'apprentissage, induit un remodelage morpho-fonctionnel de la connectivité des réseaux neuronaux, qui est en partie dépendant des mécanismes moléculaires de synthèse protéique (Davis et al. 2010; Gonzalez et al. 2013). C'est cette phase dépendante de la synthèse protéique qu'on appelle « consolidation mnésique ». On pourrait également définir la consolidation comme le processus de stabilisation des traces mnésiques et des souvenirs (Morici et al. 2015).

Un large éventail d'expériences prouve que le mPFC est nécessaire à la stabilisation des souvenirs acquis récemment dans les tâches appétitives, les associations odeur-récompense et action-récompense (Izaki et al 2000), la préférence alimentaire socialement transmise (Carballo-Márquez et al. 2009), la reconnaissance

d'objets (Akirav & Maroun 2006), le labyrinthe submergé de Morris (Leon et al. 2010), la mémoire de peur conditionnée (Zhao et al. 2005) ainsi que l'extinction des mémoires de peur et de la mémoire reliée à la drogue (Peters et al. 2009). A noter que l'extinction est un processus d'apprentissage inhibiteur actif impliquant des associations entre un stimulus aversif et un stimulus neutre, mais j'y reviendrai plus tard.

Des études ont montré que perturber l'activité du mPFC immédiatement après l'apprentissage altère le rappel ultérieur des souvenirs (Tronel et Sara 2003; Tronel et al. 2004; Carballo-Márquez et al. 2007). Il semble par ailleurs que le processus de consolidation rapide se produise dans une fenêtre temporelle restreinte. En effet, les perturbations de l'activité du mPFC qui ont lieu 1 à 2 heures après l'apprentissage entraînent des altérations de la mémoire à long terme tandis que les perturbations en dehors de cette fenêtre de temps ne le font pas (Izaki et al. 2000; Tronel et Sara 2003; Carballo-Marquez et al. 2007; Takehara-Nishiuchi et al. 2008; LaLumiere et al. 2010; Martínez et al. 2014). Toutefois, le processus de stabilisation des souvenirs ne s'arrête pas après cette phase de consolidation rapide ; chez les rats par exemple, il se poursuit durant environ deux semaines (Takehara-Nishiuchi et al. 2006).

L'ensemble, de ces études montrent que l'activité du mPFC immédiatement après l'apprentissage est importante pour la consolidation mnésique. Une fois consolidé, le souvenir de cet apprentissage devient dépendant du bon fonctionnement du mPFC. En effet, des lésions ou inactivations du mPFC affectent la récupération des souvenirs récents et lointains (Blum et al. 2006; Quinn et al. 2008).

#### **4.1.3.2. Rôle dans la récupération mnésique**

La récupération est le processus grâce auquel les informations stockées dans la mémoire à long terme peuvent être rappelées ou réactivées (Morici et al. 2015). Il semblerait que les souvenirs puissent être réactivés par deux mécanismes : soit par un sentiment de familiarité à un stimulus précédemment expérimenté, soit par la récolte active des souvenirs suite à une exigence cognitive (Fortin et al. 2004).

En utilisant des techniques d'immunohistochimie, quelques études ont analysé la corrélation entre les exigences cognitives et l'activation du mPFC durant la récupération mnésique (Romero-Granados et al. 2010 ; Barbosa et al. 2013). Pour ce faire, les auteurs de ces études ont comparé le profil d'expression de deux gènes précoces connus pour être exprimés immédiatement après une activité neuronale : c-Fos et Zif-268, après la phase de test dans deux tâches de reconnaissances d'objets : une basée sur la mémoire de familiarité (novel object recognition) et une autre cognitivement plus exigeante (Episodic-like-memory task). Ils ont constaté que dans les deux tâches, le nombre de cellules c-fos+ ou Zif-268+ dans le mPFC a été considérablement augmenté 1h et 2h après la récupération mnésique. Ces résultats suggèrent que l'activité des neurones du mPFC est associée à la récupération mnésique, indépendamment de la demande cognitive

requis. Nous savons aussi que le mPFC est impliqué dans la mémoire récente et lointaine ; toutefois, il semble qu'il soit plutôt indispensable à la récupération des souvenirs lointains (Euston et al. 2012).

Certaines études montrent une activation sélective du mPFC durant la récupération de souvenirs lointains, notamment en utilisant des techniques d'imagerie de l'activité métabolique durant des tâches impliquant la mémoire spatiale et la mémoire de peur (Frankland 2004; Maviel et al. 2004; Teixeira et al. 2006). De plus, l'inactivation du mPFC conduit à des déficits dans la récupération des souvenirs lointains tout en gardant intacte la mémoire récente. Cet effet a été démontré dans une variété de tâches incluant la piscine de Morris (Teixeira et al. 2006), le labyrinthe radial (Maviel et al. 2004), le conditionnement de peur contextuelle (Frankland et al. 2004; Holahan & Routtenberg 2007) et le test de l'aversion gustative conditionnée (Ding et al. 2008). D'autres faits soutiennent une implication du mPFC dans la mémoire récente.

Au moins deux études ont trouvé que les lésions ou inactivations du mPFC affectent la mémoire de peur récente (Blum et al. 2006 ; Quinn et al. 2008). D'autres études ont clairement démontré la nécessité du mPFC dans la récupération de souvenirs récents acquis 1 ou 2 jours auparavant dans des tests de mémoire de navigation (Churchwell et al. 2010), de localisation d'objets (Lee & Solivan 2008) et de peur (Corcoran & Quirk 2007). Malgré ces preuves solides qui indiquent que le mPFC est nécessaire à la fois à la mémoire récente et à la mémoire lointaine, les nombreuses études montrant une plus grande implication dans la récupération des souvenirs lointains ne peuvent pas être ignorées.

La plus simple explication à ces données contradictoires est que le mPFC participe à la mémoire récente et lointaine mais joue un plus grand rôle dans la récupération des souvenirs lointains. En effet, dans l'étude de Quinn et collaborateurs de 2008 citée précédemment, les défauts de mémoire de peur observés suite à des lésions du mPFC sont plus forts dans la mémoire lointaine, alors que la mémoire récente était faiblement déficiente. De plus, une autre étude a montré que l'augmentation du nombre d'épines dendritiques induite par le conditionnement de peur est plus grande lorsqu'elle est mesurée 36 jours après la fin de la tâche que lorsqu'elle est mesurée durant la fenêtre temporelle correspondant à la mémoire récente (24 heures après la tâche) (Restivo et al. 2009). Toutefois, comme mentionné précédemment, le mPFC a besoin du soutien de l'hippocampe durant ses fonctions mnésiques.

Etant donné le rôle des projections hippocampiques dans les fonctions mnésiques du mPFC, les études sur le rôle de l'hippocampe dans la mémoire peuvent aider à encore mieux expliquer ces contradictions. Il semblerait que l'hippocampe soit nécessaire pour se rappeler des souvenirs récents mais pas pour récupérer les souvenirs lointains (Takehara et al. 2003 ; Maviel et al 2004). De plus, l'activité dans l'hippocampe est plus forte durant la mémoire récente que durant la mémoire lointaine (Frankland et al. 2004; Takashima et

al. 2006). En fait, on pense que le pattern d'activité de l'hippocampe en soi ne contient pas des souvenirs, mais qu'il est plutôt capable de réactiver les patterns d'activités néocorticales qui constituent le contenu de la mémoire (McClelland et al. 1995). Tout ceci indique que durant la récupération des souvenirs, l'hippocampe joue un rôle complémentaire à celui du mPFC.

L'ensemble de ces études a donné naissance à une théorie concernant le rôle du mPFC dans la récupération mnésique, qui stipule que : pour la mémoire récente, l'activité de l'hippocampe est suffisante pour récupérer les souvenirs distribués dans tout le néocortex, y compris le mPFC ; cependant, pour la mémoire lointaine, le mPFC prend le relai et reprend le rôle de l'hippocampe dans l'orchestration de la récupération des souvenirs (Euston et al. 2012). Le mPFC ne sert pas uniquement à se rappeler des souvenirs mais peut aussi aider à se souvenir de l'ordre dans lequel les événements appris en eu lieu.

#### **4.1.3.3. mPFC et circuit de la mémoire de reconnaissance : Rôle spécifique du PLC dans la mémoire de récence**

L'avènement du test de reconnaissance d'objets et de ces variantes, a révolutionné l'étude de la mémoire épisodique et a permis l'identification de la nécessité du mPFC à plusieurs sous-types de cette mémoire, notamment la mémoire de l'ordre temporel (ou mémoire de récence) (Morici et al. 2015).

L'un des paradigmes utilisés pour étudier la mémoire de récence est appelé « la tâche de l'ordre temporel ». Ce paradigme teste la capacité de l'animal à discriminer entre des objets familiers présentés à différents moments mais dans le même contexte. Dans la première phase de ce test, l'animal doit explorer deux objets identiques (A). Dans la deuxième phase, qui se déroule généralement une heure après, deux nouveaux objets identiques (B) placés aux mêmes endroits que les deux premiers sont présentés à l'animal. Ensuite, après un délai de quelques heures (généralement 3h), l'animal est exposé à une copie de chacun des deux objets (un A et un B) placés exactement aux mêmes endroits de l'arène. Dans ce paradigme, les rongeurs tendent à plus explorer l'ancien objet (présenté en premier : A) et la différence dans le temps d'exploration des deux objets dans la dernière phase est une mesure de la mémoire de récence. Plusieurs études indiquent que des altérations du mPFC affecte la mémoire de récence testée grâce à ce paradigme ou à l'une de ces variantes. En effet, des rongeurs qui ont subi des lésions ou des manipulations pharmacologiques du mPFC ne passent pas plus de temps à explorer l'ancien objet, indiquant ainsi une altération de la mémoire de récence (Morici et al. 2015).

Les manipulations pharmacologiques et les études électrophysiologiques ont démontré que, contrairement à la majorité des types de mémoire, la mémoire de l'ordre temporel nécessite le mPFC dans toutes les étapes

du processus mnésique, à savoir l'apprentissage, la consolidation et la récupération (Akirav & Maroun 2006; Barker & Warburton 2011a et 2011b ; Nelson et al. 2011 ; Martinez, et al. 2014).

Ces travaux combinés aux études de lésions impliquant les sous-régions du mPFC et les régions avec lesquelles il est connecté, ont aussi contribué à déterminer la fonction spécifique de chacune de ces structures dans le circuit de la mémoire de reconnaissance d'objet. L'hippocampe est responsable du traitement des informations spatiales (Object location task), alors que le cortex perirhinal traite plutôt les informations concernant l'identité des objets et est nécessaire à la reconnaissance des nouveaux objets (novel object preference task). Le mPFC quant à lui, associe les informations sur les objets et les informations spatiales fournies par le cortex perirhinal et l'hippocampe respectivement. Au sein du mPFC, l'ACC est nécessaire à la mémoire à long terme qui contient les informations sur la disposition spatiale de plusieurs objets les uns par rapport aux autres (object in place task), alors que les sous-régions infralimbique et prélimbique semblent plutôt indispensables à la mémoire de récence impliquant une capacité à discriminer entre les objets récents et anciens (temporal order task) (Ennaceur et al. 1996, 1997; Aggleton et al. 1997 ; Mitchell & Laiacina 1998 ; Bussey et al. 1999 ; Winters et al. 2004 ; Hannesson et al. 2004a et 2004b ; Forwood et al. 2005 ; Mumby et al. 2007; Barker et al. 2007; Farovik et al. 2008; Weible et al. 2009 ; Devito & Eichenbaum 2011; Nelson et al. 2011; Barker & Warburton 2011; Spanswick & Dyck 2012; Morici et al. 2015; Warburton & Brown 2014).

Nous pouvons donc conclure que le mPFC est nécessaire à certains aspects de la mémoire de reconnaissance à long terme. Les sous-régions dorsales (ACC) du mPFC semblent plus impliquées dans la mémoire à long terme des agencements spatiaux, alors que les sous-régions ventrales (ILC et PLC) sont nécessaires à la mémoire à long terme des séquences temporelles. Ces fonctions mnésiques du mPFC mettent principalement en jeu ses connexions avec le complexe hippocampique.

Le mPFC n'est pas uniquement impliqué dans la mémoire à long terme, mais joue un rôle crucial dans la mémoire à court terme ou mémoire de travail.

#### **4.1.4. Rôle du mPFC dans la mémoire de travail à court terme**

La mémoire de travail est un processus cérébral complexe qui désigne le stockage temporaire de l'information sur un intervalle de temps de quelques secondes à quelques minutes (Baddeley., 1992). Historiquement, l'accent a très souvent été mis sur le rôle du mPFC dans ce type de mémoire à court terme nécessaire aux performances cognitives (Uylings et al. 2003). Pour tester la mémoire de travail, les chercheurs utilisent généralement des paradigmes nécessitant un délai avant la réponse comportementale ; un grand nombre de ces paradigmes impliquent le mPFC dans la mémoire de travail (Dudchenko 2004).

L'un de ces paradigmes est la tâche de « l'intervalle de conditionnement de peur », durant laquelle un stimulus neutre est suivi par un stimulus aversif après un délai de plusieurs secondes. Les neurones du mPFC déchargent de manière persistante durant ce délai, suggérant un rôle du mPFC dans le maintien temporaire d'informations (Gilmartin & McEchron 2005). Des chercheurs de la même équipe ont ensuite démontré que l'inactivation pharmacologique du PLC altère la mémoire de travail (Gilmartin & Helmstetter 2010). Dans l'une de leurs études ultérieures utilisant des méthodes de photo-inhibition optogénétiques, ils ont pu établir un lien de cause-à-effet entre les décharges des neurones du PLC et la mémoire de travail dans ce paradigme (Gilmartin et al. 2013). Des résultats très similaires ont également été trouvés dans le test d'alternance retardée (operant delayed alternation task), un paradigme dans lequel l'animal doit, avec un délai prédéterminé, alterner les actionnements de deux leviers afin d'obtenir une récompense (Dunnett et al. 1999; Rossi et al. 2012).

Pour assurer son rôle dans la mémoire à court terme, le PLC (et le mPFC en général) a besoin du support du thalamus, avec lequel il est fortement interconnecté (Gabbott et al. 2005; Little & Carter 2012). En fait, les neurones de projections thalamo-corticaux sont capables de maintenir une activité de décharge soutenue durant une période relativement longue (minutes) ; ce type d'activité est requise pour la mémoire de travail (Cruikshank et al. 2012). Comme pour la mémoire à long terme, le mPFC a également besoin du soutien de l'hippocampe (Baddeley et al. 2000).

#### **4.1.5. Un modèle pour les fonctions mnésiques du mPFC**

Hormis quelques exceptions telles que la mémoire de récence, le mPFC joue un rôle similaire dans la majorité des types de mémoires et d'apprentissage dans lesquels il est impliqué :

- Durant l'apprentissage, le mPFC code les associations entre les contextes, les événements et les réponses adaptatives, en s'appuyant sur le soutien de l'hippocampe. Toutefois, le rôle du mPFC dans plusieurs types d'apprentissage peut être géré par une autre région si jamais il est absent ou inactif.
- Pour des mémoires s'étalant sur plus de quelques secondes, le mPFC requiert également le support de l'hippocampe.
- En ce qui concerne la consolidation, le rôle du mPFC dans cette fonction mnésique n'est pas différent de celui des autres aires corticales. Durant les premières heures de la consolidation rapide, l'hippocampe et le mPFC rejouent les souvenirs acquis durant l'apprentissage. Ce mécanisme de relecture de souvenirs conduit au renforcement des synapses qui soutiennent un souvenir donné au sein du mPFC, et à la détérioration de celles qui le soutiennent dans l'hippocampe. Chez les rats, le processus de consolidation se poursuit pendant environ deux semaines (Takehara-Nishiuchi et al. 2006).

- Durant le rappel de souvenirs récents, le rôle du mPFC est de représenter les associations acquises pendant que la mise en correspondance entre les différents éléments de ces associations est stockée dans l'hippocampe.
- Durant la récupération des souvenirs lointains, le mPFC à la fois représente et stocke les associations acquises pendant que l'hippocampe se désengage. Le rappel de ces souvenirs lointains devient donc complètement dépendant du mPFC, ce qui rend le cerveau moins en mesure de compenser l'effet d'une perte du mPFC sur cette fonction mnésique.

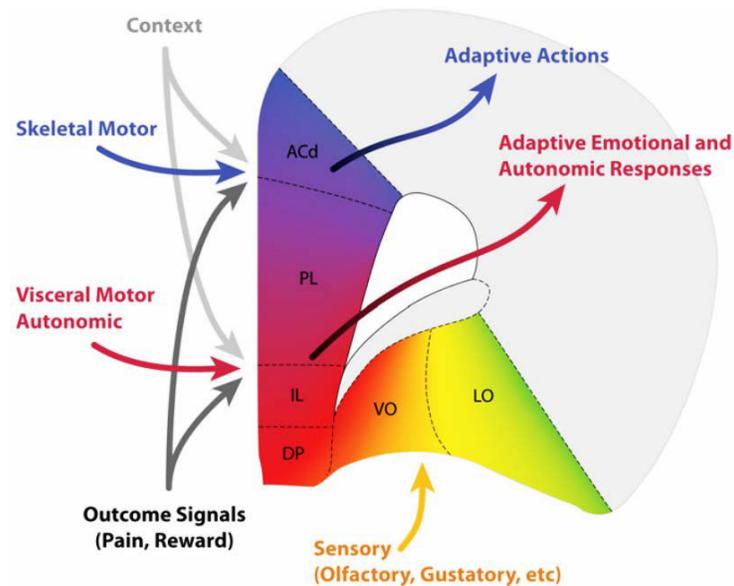
L'une des théories qui peut expliquer pourquoi le mPFC est plus impliqué dans la récupération des souvenirs lointains, stipule que ces souvenirs sont plus difficiles à récupérer car ils nécessitent un contrôle cognitif plus fort qui ne peut être fourni que par le mPFC (Rudy et al.). En effet, c'est ce contrôle cognitif qui différencie le mPFC de toutes les autres aires cérébrales.

## **4.2. Fonctions exécutives et adaptatives**

Les fonctions exécutives et adaptatives sont difficiles à définir car elles regroupent un ensemble de processus cognitifs divers et complexes. Cependant, ces processus ont un rôle commun qui permet l'exécution optimale et adaptée des actions. On peut citer certaines de ces fonctions telles que : l'organisation et la planification des réponses motrices, la direction de l'attention, la régulation émotionnelle, l'adaptation du comportement en adéquation avec la situation, l'inhibition de comportements socialement inappropriés et la prise de décision (Dalley et al. 2004). L'un des paramètres les plus importants sous-tendant ces fonctions qui caractérisent le PLC, et le mPFC en général, est sans doute ses uniques inputs et outputs.

### **4.2.1. Les informations entrantes et sortantes du mPFC**

Plusieurs éléments soutiennent l'idée que les inputs du mPFC sont les événements et les contextes et que ses outputs sont les réponses que les expériences passées prédisent comme menant à une issue favorable dans une situation donnée (Figure 13). Un moyen de comprendre ce concept est peut-être la comparaison suivante : tout comme le cortex visuel peut assigner des patterns d'inputs visuels au percept d'un objet particulier, le mPFC peut assigner des événements aux réponses émotionnelles ou motrices les mieux adaptées dans un contexte donné (Miller & Cohen 2001; Bechara & Damasio 2005; Fellows 2007; Alexander & Brown 2011).



**Figure 13 : Vue schématique des entrées et sorties des différentes sous-régions du mPFC.**

Le mPFC est considéré comme un réseau qui associe des événements dans un contexte spatial et émotionnel donnée avec la réponse la plus adaptative, qui peut être soit une action soit une réaction émotionnelle, selon sur la zone. Un ensemble séparé d'entrées apporte des informations sur les résultats des actions, qui modulent la plasticité. Toutes les aires préfrontales sont fortement interconnectées, ce qui signifie que des informations sur les actions, les émotions, et les stimuli est disponible dans toutes les sous-régions du mPFC. Abréviations : ACD, cortex cingulaire antérieur dorsal ; PL, cortex prélimbique ; IL, cortex infralimbique ; DP, cortex pédonculaire dorsale; VO, cortex orbito-ventral ; LO, cortex orbito-latéral.

Avant de citer les faits qui ont mené à ce concept, il est important de comprendre ce qu'on entend par événement et par contexte. Le terme « événement » désigne les indices sensoriels et les actions. Le terme « contexte » se réfère à l'ensemble des indices qui situent l'animal dans l'espace et le temps ; ce type d'informations semble être codé par l'hippocampe (Nadel., 2008). La définition du terme « contexte » peut être élargie pour englober en outre l'état émotionnel de l'animal ; ces d'informations sur le contexte affectif sont, quant à elles, indépendantes de l'hippocampe (Euston et al. 2012).

L'inclusion du contexte et des événements comme entrées du mPFC est étayée par une multitude de preuves électrophysiologiques. Les cellules du mPFC sont fortement modulées par la pièce dans laquelle l'animal se trouve (Hyman et al. 2012). De plus, le lieu peut moduler les réponses à d'autres événements tels que la réception d'une récompense ou appuyer sur un levier (Miyazaki et al. 2004; Hyman et al. 2005; Hyman et al. 2012). Le contexte temporel d'une tâche peut aussi moduler le pattern de décharge des cellules du mPFC ; certaines cellules réagissent sélectivement à des phases précises d'une tâche, tels que l'intervalle entre les essais (Jung et al. 1998; Lapish et al. 2008). Un autre aspect du contexte est les règles de la tâche. Deux études ont imposé une situation dans laquelle un rat fait le même comportement (par exemple, appuyer sur le levier de droite) mais pour des raisons différentes (parce que la récompense est indiquée par un indice

visuel ou parce qu'elle est tout le temps à droite) et ont montré que le pattern de décharge de certaines cellules du mPFC varie en fonction de la raison pour laquelle l'animal exécute l'action (Erin L Rich & Shapiro 2009; Durstewitz et al. 2010). Les cellules du mPFC répondent également aux événements moteurs et sensoriels. En effet, l'activité de ces cellules est souvent liée à un comportement spécifique comme tourner, accélérer ou appuyer sur un levier (Jung et al. 1998; Narayanan & Laubach 2006; Cowen & McNaughton 2007; Hyman et al. 2012). Dans une tâche où un apprentissage est nécessaire, les cellules du mPFC peuvent répondre spécifiquement à un indice ou une action qui mène à une récompense (Mulder et al., 2000 ; Peters et al., 2005) ou à une punition (Gilmartin et McEchron., 2005 ; Laviolette et al., 2005 ; Takehara-Nishiuchi et McNaughton., 2008). Le mPFC peut aussi répondre à des indices saillants (comme un son) qui ne sont pas associés à une récompense ou à une punition (Takehara-Nishiuchi et McNaughton., 2008).

Le mPFC est donc impliqué dès que des contextes et des événements guident le comportement. Dans ce guidage comportemental, les contextes et événements sont d'autant plus importants quand ils mettent en jeu des processus de motivation.

#### **4.2.2. Connectivité extrinsèque du PLC et motivation**

L'implication du mPFC (et du PLC) dans des événements saillants d'un point de vue motivationnel est également soutenu par sa connectivité avec les autres régions cérébrales. En effet, les connexions du mPFC lui donnent accès à des informations sur des stimuli motivationnels tels que la douleur et la récompense.

Parmi les connexions les plus impliquées dans l'aspect motivationnel de la fonction du mPFC, on peut retrouver ses connexions réciproques avec l'amygdale et ses projections unilatérales vers le striatum, notamment le NAcc. Ces connexions apportent, entre autre, des informations émotionnelles au mPFC et lui permettent en retour de contrôler les réponses affectives (Cardinal et al. 2002). Il est important de comprendre que les émotions et la motivation sont intrinsèquement liées. En effet, quand il y a une discordance entre le résultat prévu et le résultat réel, des changements dans l'état émotionnel se produisent et modifient les motivations futures, ce qui entrave ou favorise l'atteinte des objectifs. D'un autre côté, les changements dans la motivation peuvent modifier les attentes concernant des événements futurs, ce qui peut alors entraîner des changements dans les émotions (Crocker et al. 2013). Les connexions du mPFC avec l'amygdale et le striatum l'impliquent aussi dans les comportements conditionnés (apprentissage Pavloviens qui permettent d'associer un stimulus à une récompense ou à une punition) et inconditionnés (tels que se nourrir et se déplacer) qui jouent un rôle important dans la motivation (Cardinal et al. 2002).

Les émotions ne sont pas l'unique source de motivation ; la faim, la soif, la douleur, la température corporelle et les interactions sociales sont également de puissants moteurs de motivation. Le mPFC est par exemple fortement interconnecté avec l'aire insulaire antérieure, une région impliquée dans la perception de

la douleur (Jasmin et al. 2004) et de toutes les autres fonctions d'intéroception (faim, douleur, émotions, etc.) (Allen et al. 1991). Le mPFC communique également avec l'hypothalamus qui coordonne les systèmes autonome et endocrine et qui contrôle les régulateurs de l'homéostasie intrinsèque tels que la faim et la soif (Saper 2003). Le mPFC projette aussi vers l'habenula latérale, une région impliquée dans les réponses acquises suite à la douleur, au stress, à l'anxiété ou à une récompense (Hikosaka & Isoda 2010; Li et al. 2011). Une autre connexion importante est celle que le mPFC entretient avec la substance grise périaqueducale, une région impliquée dans la modulation de la douleur ainsi que dans le comportement agressif et défensif (Sewards & Sewards 2002; Nelson & Trainor 2007).

De par sa connectivité le mPFC reçoit donc des informations sur tout ce qui peut motiver un animal à agir pour avoir une récompense, éviter une punition ou assouvir un besoin physiologique. Le type de motivation que l'animal expérimente peut par la suite avoir un impact majeur sur ce à quoi il prête attention (Calcott & Berkman 2014).

#### **4.2.3. Implication du PLC dans les processus attentionnels**

L'un des paradigmes qui a été largement utilisé pour évaluer les fonctions attentionnelles et exécutives chez les rongeurs est le 5-CSRTT (pour 5-choice serial reaction time task). Dans cette tâche l'animal est placé dans une chambre avec cinq ouvertures qui peuvent être refermées et une plateforme qui peut délivrer de la nourriture en récompense. Afin de recevoir la récompense, l'animal doit montrer qu'il a pu identifier correctement laquelle des cinq ouvertures est éclairée en donnant un petit coup avec son nez sur cette ouverture. La difficulté de la tâche est contrôlée par la durée d'illumination de l'ouverture : un temps d'éclairage plus court nécessite que l'animal y accorde une plus grande attention, et est donc plus difficile (en effet, la précision des réponses diminue). Des lésions du mPFC englobant le PLC et l'ACC aboutissent à des déficits durables dans la précision des réponses et à une augmentation du temps de latence pour répondre correctement (Muir et al. 1996). Cependant la précision attentionnelle semble être particulièrement liée aux dommages de l'ACC (Passetti et al. 2002) alors que des lésions du PLC semblent plus liées à la persévération (Chudasama et al. 2012). L'ILC quant à lui semble plus impliqué dans le contrôle des réponses prématurées impulsives (Chudasama & Robbins 2004). En fait, les réponses prématurées sont liées à une perturbation des mécanismes d'intervention préparatoires, alors que la persévération reflète un échec à se désengager des réponses une fois lancées (Dalley et al. 2004).

La sélectivité attentionnelle permet de se concentrer sur un stimulus pertinent prédéterminé en ignorant simultanément les stimuli distracteurs non pertinents pour la tâche à accomplir (Tumer et al. 2012). Il est prouvé que le mPFC n'est pas uniquement nécessaire pour choisir les informations pertinentes mais aussi pour supprimer activement les stimuli non pertinents (Tumer et al. 2012; Wright et al. 2015).

Un autre aspect des fonctions attentionnelles qui est fréquemment étudié est la redirection de l'attention. Le EDST (pour extra-dimensional shift task) teste cette aptitude cognitive. Dans ce paradigme, l'animal est tout d'abord formé pour répondre à une dimension (l'odeur par exemple) d'un stimulus multidimensionnel et doit ensuite se désengager de cette dimension et répondre à une autre dimension du stimulus qui était précédemment non pertinentes (la texture par exemple). Des lésions du mPFC incluant le PLC produisent des défauts dans la redirection de l'attention chez des rats entraînés à discriminer des boules contenant de la nourriture sur la base de leur odeur ou de leur texture (Birrell & Brown 2000). Les mPFC (particulièrement le PLC et l'ILC) est aussi nécessaire quand il s'agit de rediriger l'attention des indices spatiaux vers des indices visuels dans le labyrinthe submergé de Morris (de Bruin et al. 1994) et dans le labyrinthe du plateau de fromages (Ragozzino et al. 1999).

Le mPFC est également connecté à des régions importantes pour les fonctions attentionnelles telles que le cortex pariétal postérieur, le noyau thalamique antérieur et le noyau magnocellulaire basal (ou noyau de Meynert) qui envoie des projections cholinergiques (Tumer et al. 2012; Wright et al. 2015).

Ainsi, le mPFC semble agir pour préserver la sélectivité attentionnelle aux caractéristiques pertinentes lors de l'apprentissage (Dalley et al. 2004). Le PLC, quant à lui, ne serait pas impliqué dans la précision attentionnelle mais semble plutôt nécessaire à la flexibilité cognitive permettant de rediriger l'attention quand les règles de la tâche changent. Cela a un intérêt évident pour la notion largement répandue que le PLC (et le mPFC en général) contrôle le changement de stratégies et de règles durant les tâches afin de permettre une plus grande adaptabilité et flexibilité comportementale (Dias & Aggleton 2000; Killcross & Coutureau 2003; Armbruster et al. 2012; Barbas & Zikopoulos 2007).

#### **4.2.4. Les associations action-résultat et flexibilité comportementale**

##### **4.2.4.1. Les actions orientées vers un but et les habitudes**

Lorsque les animaux apprennent à effectuer des actions pour obtenir des récompenses ou éviter des résultats aversifs, ils le font par l'intermédiaire de plusieurs mécanismes psychologiques (Cardinal et al. 2002; Dickinson 1980, 1985, 1994a et 1994b). L'un de ces mécanismes est « l'action orientée vers un but », correspondant directement au concept humain des actes intentionnels. Ainsi, quand un rat appuie sur un levier pour obtenir de la nourriture, il peut le faire pour plusieurs raisons, mais l'une d'elles est qu'il a appris la contingence entre son action et les résultats ; en désirant le résultat, il exécute par conséquent l'action pour atteindre son objectif. Cela peut être contrasté aux « réponses habituelles » (stimulus-réponse, S-R), dans lequel des stimuli deviennent directement associés à des réponses motrices ; un rongeur peut appuyer sur un levier « sans réfléchir » parce que les stimuli de l'environnement évoquent directement la réponse du

fait des expériences passées du rongeur durant lesquelles il recevait une récompense à chaque fois qu'il pressait le levier. C'est ce renforcement répétitif de ce comportement qui finit par générer une habitude.

Les actions orientées vers un but sont plus flexibles que les habitudes. Dans les actions dirigées vers un but si l'objectif est dévalué (nourrir le rongeur jusqu'à satiété par exemple) l'animale va immédiatement adapter son comportement, alors que dans les habitudes il ne peut le modifier sans une autre expérience. Les habitudes sont donc des patterns de comportement insensibles aux changements de valeurs des résultats. Malgré leur relative rigidité, les habitudes peuvent conférer un avantage à l'animal qui les possède. En effet, l'exécution d'une habitude nécessite moins de ressources cognitives qu'une action orientée vers un but ; de plus, la formation d'une habitude peut « libérer » des ressources cognitives pour d'autres tâches. Après un certain nombre de répétitions, une action qui étaient au début orientée vers un but peut devenir « automatisée » et habituelle (Dalley et al. 2004).

Les habitudes S-R et les actions orientées vers un but sont différemment régulées par les sous-régions du mPFC ; l'activation de l'ILC inhibe la flexibilité et favorise la rigidité comportementale, alors que le PLC favorise la flexibilité (Killcross & Coutureau 2003). Effectivement, les lésions de l'ILC semblent avoir pour conséquence de retarder ou d'empêcher l'acquisition des habitudes S-R, de sorte que les rongeurs avec un ILC lésé continuent à présenter des comportements orientés vers un but (donc sensibles à la dévaluation du résultat) même après un entraînement prolongé. Les lésions du PLC semblent quant à elles avoir l'effet inverse. En effet, ces lésions éliminent la capacité des rongeurs à exécuter des actions orientées vers un but, les laissant ainsi uniquement avec des actions dictées par des habitudes S-R (Killcross & Coutureau 2003). De plus, des études précédentes ont observé des changements neurochimiques importantes dans le PLC suite à une manipulation directe de la contingence action-résultat dans le 5-CSRTT (Dalley et al. 2001). La perte de la contingence a entraîné une diminution importante et soutenue des niveaux d'acétylcholine, ainsi qu'une augmentation significative des niveaux de noradrénaline dans la PLC. En fait, les inputs noradrénergiques en provenance du locus coeruleus vers le PLC, et éventuellement vers d'autres régions du cortex préfrontal, constituent un important moyen pour rediriger l'attention dans le but de détecter les nouvelles contingences action-résultat (Aston-Jones & Bloom 1981; Aston-Jones et al. 1999; Devauges & Sara 1990; Robbins & Everitt 1995).

L'une des connexions les plus importantes pour ces comportements dits « instrumentaux » est sans doute la connexion bidirectionnelle entre le mPFC et les ganglions de la base. En effet, en se basant sur des études de lésions, d'optogénétique, de cytoarchitecture et de connectivité, de nombreux auteurs stipulent que les ganglions de la base constituent une région indispensable aux comportements instrumentaux,

particulièrement pour l'apprentissage S-R (White 1989; Balleine & Dickinson 1998; Killcross & Coutureau 2003; Yin & Knowlton 2006).

Le PLC ne permet pas uniquement de détecter les associations action-résultat en cours et d'utiliser les contingences apprises grâce aux expériences passées, il peut aussi prédire le résultat d'une futur action.

#### **4.2.4.2. Prédiction des résultats des actions et erreurs**

Un grand nombre d'études ont montré que l'activité dans mPFC est liée à la valeur subjective des résultats attendus ou obtenus, que les résultats soient positifs ou négatifs (Euston et al. 2012).

Chez les rongeurs, environ un tiers des cellules montrent des changements du taux de décharge quand l'animal reçoit ou s'attend à recevoir une récompense (Burton et al. 2009; Gruber et al. 2010; Pratt & Mizumori 2001). De plus, la valeur de la récompense anticipée à laquelle l'animal s'attend, et la valeur réelle de la récompense que l'animal reçoit sont codées par des neurones différents dans le mPFC (Cowen et al. 2012; Pratt & Mizumori 2001; Sul et al. 2010). Les neurones du mPFC répondent aussi à l'anticipation des résultats négatifs, même si, à ma connaissance, il n'est pas clair si les résultats aversifs attendus et réels sont codés par des groupes de neurones différents (Baeg et al. 2001; Gilmartin & McEchron 2005; Takehara-Nishiuchi & McNaughton 2008).

De plus, le mPFC reçoit des retours sur les résultats des actions que l'animal a effectuées en provenance de la VTA, du cortex insulaire et de l'hypothalamus. Ceci lui permet de comparer les résultats réellement obtenues aux résultats attendus et de calculer ainsi le degré de violation des attentes ou « surprise ». Ces signaux de surprise sont de puissants déclencheurs d'apprentissage dans beaucoup de régions cérébrales, y compris le mPFC (Alexander & Brown 2011).

Les neurones du mPFC codent aussi les erreurs ; en d'autres termes, ils codent le fait qu'une action n'a pas menée à une récompense (Narayanan & Laubach 2006). Après une erreur, l'activité d'un tiers des neurones du mPFC dorsal est modulée, et 28% de ces neurones montrent une augmentation du taux de déchargement qui persiste jusqu'à ce que l'animal reçoit la récompense (Narayanan & Laubach 2008). Les neurones du mPFC peuvent également coder la raison pour laquelle l'animal n'a pas reçu la récompense. En effet, il a été montré que si la tâche requière une précision temporelle, les neurones du mPFC peuvent coder les erreurs dues au fait que l'action s'est produite trop tôt dans le temps (Laubach et al. 2000). En plus de ce codage rétrospectif des erreurs, les cellules du mPFC sont capables de coder prospectivement les erreurs. En effet, ces neurones déchargent différemment avant l'initiation des réponses correctes et incorrectes (Laubach et al. 2015). Grâce au pattern de décharge des neurones du mPFC on peut donc prédire si l'animal va réussir ou échouer dans un teste comportemental. Un autre phénomène intéressant qui survient après une erreur est

le ralentissement du temps de réaction ; ce processus a probablement pour intérêt d'améliorer les performances de l'animal suite aux erreurs. L'inactivation du mPFC dorsal a pour conséquence d'atténuer le ralentissement du temps de réaction post-erreur (Narayanan & Laubach 2008).

Le mPFC peut donc surveiller les performances comportementales, intégrer les informations sur les réussites et les échecs des comportements passés et prédire le résultat des futures actions (Dalley et al. 2004; Narayanan & Laubach 2008). Ceci suggère que le mPFC est capable d'assurer des fonctions de planification.

#### **4.2.4.3. Planification, comportements séquentiels et timing**

Chez l'humain, il semblerait que la même machinerie neurale est utilisée pour se rappeler du passé et pour se représenter le futur (Schacter et al. 2007; Schacter & Addis 2007; Schacter et al. 2008). Un grand nombre de données scientifiques indique que les rongeurs sont capables de se représenter et de se rappeler des événements passés (Euston et al. 2012; cf « fonctions mnésiques »), et de récentes études suggèrent que ces animaux sont également capables de se représenter les événements susceptibles de se produire à l'avenir (Crystal 2012). Une capacité importante conférée par la représentation de l'avenir est l'aptitude à planifier les actions futures. Cependant, on sait relativement peu de chose sur le contenu des représentations des événements futurs et les mécanismes cognitifs qui sous-tendent la planification chez le rongeur. Toutefois, une étude a montré que les rats sont capables de se rappeler d'effectuer une action future prévue, ce qui suggère que les rats possèdent au moins un précurseur de la planification (Wilson & Crystal 2012). Cette capacité de « se rappeler de se rappeler » est appelée « mémoire prospective ». Une caractéristique de cette mémoire prospective est que, quand le moment d'exécuter un plan mémorisé s'approche, un effet délétère sur le comportement en cours se produit, parce que davantage de ressources attentionnelles sont renvoyés vers la mémoire prospective activée (Marsh et al. 1998 et 2006; Kliegel et al. 2001; Smith 2003 et 2007; Hicks et al. 2005). En se basant sur cette caractéristique, George Wilson et Jonathon Crystal ont développé un modèle rongeur de la mémoire prospective (Wilson & Crystal 2012). Dans ce paradigme, des rats sont entraînés 90 minutes par jour (sur plusieurs jours) à catégoriser un signal comme court ou long (2 ou 8s) en actionnant le levier qui correspond à la durée du signal (si le signal est court il faut actionner le levier de droite, et s'il est long il faut actionner celui de gauche, par exemple) afin de recevoir une petite récompense. Après ces 90 minutes, un groupe de rats a 30 minutes pour actionner un autre levier afin d'obtenir une plus grande récompense, alors qu'un autre groupe n'aura pas à faire cette tâche et ne recevra pas une plus grande récompense. En montrant, que les rats du premier groupe, qui doivent se rappeler qu'à la fin des 90 minutes ils ont une autre tâche à effectuer pour avoir une plus grande récompense, étaient les seuls à présenter une diminution de leur performance sur les dernières minutes de la première tâche, les auteurs ont apporté un argument de valeur à la présence d'une mémoire prospective chez les rongeurs.

Chez les rongeurs, le mPFC a des neurones qui codent le passage du temps (Narayanan & Laubach 2009) et est impliqué dans le circuit de l'horloge interne (Kim et al. 2013). Plusieurs études suggèrent aussi que le mPFC exerce un contrôle top-down sur les régions cérébrales qui contrôlent les mouvements dans le temps, et qu'il joue un rôle majeur dans la modulation des comportements séquentiels. En effet, le mPFC reçoit des informations traitées au préalable par les cortex visuels, auditifs et somatosensoriels, et est impliqué dans l'intégration de ces informations sensorielles avec les actions motrices, une fonction nécessaire à la planification des comportements (Mogenson et al. 1980; Groenewegen & Uylings 2000; Kolb & Cioe 2003; Narayanan & Laubach 2006). Une étude a également montré que le mPFC est indispensable au contrôle temporel des mouvements durant les actions orientées vers un but ; bloquer les récepteurs à la dopamine de type D1-R (mais pas D2-R) dans l'ILC et le PLC altère ce contrôle temporel (Narayanan et al. 2012).

Toutefois, la capacité à planifier, à séquencer les tâches et à modifier les comportements en cours, ainsi que la faculté d'ignorer les stimuli non pertinents et de se désengager d'un comportement après une dévaluation des résultats, suggèrent que le PLC est impliqué dans l'inhibition des comportements et des stimuli inadéquats (Fuster 1997; Kesner & Giles 1998; Kesner & Ragozzino 2003; Dalley et al. 2004).

Toutefois, la capacité à planifier, à séquencer les tâches et à modifier les comportements en cours, ainsi que la faculté d'ignorer les stimuli non pertinents et de se désengager d'un comportement après une dévaluation des résultats, suggèrent que le PLC est impliqué dans l'inhibition des comportements et des stimuli inadéquats (Fuster., 1997; Kesner., 1998 ; Kesner. et Ragozzino., 2003 ; Dalley et al., 2004 ).

#### **4.2.4.4. Contrôle inhibiteur**

La capacité à s'adapter à l'évolution constante des contingences environnementales nécessite une sélection méticuleuse des informations pertinentes et un contrôle cognitif rigoureux du comportement. L'inhibition est l'un des mécanismes de contrôle cognitif grâce auxquels le PFC optimise le comportement en exerçant des effets de coordination sur les processus subsidiaires activés par les régions cérébrales postérieures (Ridderinkhof et al. 2004a et 2004b). Ce mécanisme intervient particulièrement lorsqu'une action sélectionnée entre en compétition avec plusieurs autres alternatives pour activer un comportement donné ; dans cette situation un contrôle cognitif est nécessaire pour résister aux interférences que constituent les autres alternatives et pour veiller à l'activation rapide et ininterrompue de l'action choisie (Miller & Cohen 2001). L'inhibition peut être définie soit comme la suppression, lorsque le contexte change, des habitudes S-R, des réflexes ou de toute autre réponse comportementale incorrecte, prématurée ou inappropriée ; soit comme la suppression des interférences mnésiques lors de la récupération des souvenirs (Aron et al. 2004; Burle et al. 2004).

Les déficits du contrôle inhibiteur (ou désinhibition) sont probablement la caractéristique la plus omniprésente du comportement des animaux avec des lésions préfrontales incluant le PLC (Chudasama et al. 2012). En effet, des rats et des souris avec les lésions de sous-régions du mPFC ou du mPFC en entier présentent des difficultés dans des tâches qui requièrent la suppression active des réponses inappropriées (Chudasama 2011; Dalley et al. 2011). La désinhibition peut prendre de multiples formes, et grâce au 5-CSRTT, au moins deux types de contrôles inhibiteurs peuvent être étudiés. Il y a d'une part les réponses de persévération, dans lesquelles le rongeur continue de répondre après la présentation du stimulus pertinent ; cette incapacité à se désengager de l'action est considérée comme un comportement compulsif (qui n'est plus contrôlé par ses conséquences) (Robbins & Everitt 2002). D'autre part il y a les réponses prématurées, qui se produisent pendant l'intervalle inter-essaies et donc avant la présentation du stimulus pertinent ; ces réponses traduisent une incapacité à attendre le bon moment pour agir et sont considérées comme des comportements impulsifs (Carli et al. 1983; Harrison et al. 1997; Chudasama & Robbins 2003; Dalley et al. 2004). Les choix impulsifs sont des déficits de prise de décision qui peuvent également être illustrés par la tendance de l'animal à choisir une récompense immédiate mais petite au lieu d'une récompense plus grande mais différée dans le temps. Des lésions englobant une grande portion du mPFC ont considérablement augmenté la préférence des rongeurs pour les récompenses immédiates (Dalley et al. 2004). Toutefois, ce comportement impulsif semble dépendre de l'ACC ; les lésions du PLC quant à elles n'ont aucun effet sur cette tâche et semblent plutôt impliquer le PLC dans le contrôle des comportements compulsifs (Chudasama & Robbins 2004).

Les lésions de l'hippocampe, une structure qui est le plus souvent associée à la mémoire spatiale, affectent également le contrôle comportemental. En effet, l'ablation de l'hippocampe, comme celle du mPFC, rend les rats désinhibés dans une large gamme de testes (Jarrard & Isaacson 1965; Nonneman et al. 1974; Gray & McNaughton 1983; Rawlins et al. 1985). Une explication possible des similitudes de ces effets est que l'hippocampe et mPFC travaillent en étroite collaboration pour assurer certains aspects du contrôle inhibiteur (Chudasama et al. 2012). Une étude récente a également révélé une activité oscillatoire synchronisée dans les structures limbiques (VTA, BLA et NAcc) vers lesquelles le PLC projette, fournissant ainsi la preuve que les cellules du PLC modulent en aval les régions sous-corticales responsables du traitement des informations liées aux récompenses et aux punitions (Kumar et al. 2013). Ces connexions sont importantes pour le contrôle inhibiteur que le PLC exerce sur les processus ayant lieu dans ces régions. Toutefois, ces structures limbiques sous-corticales sont aussi impliquées dans le traitement des informations affectives, suggérant ainsi que PLC jouent un rôle important dans la régulation des émotions.

#### 4.2.5. Régulation des émotions

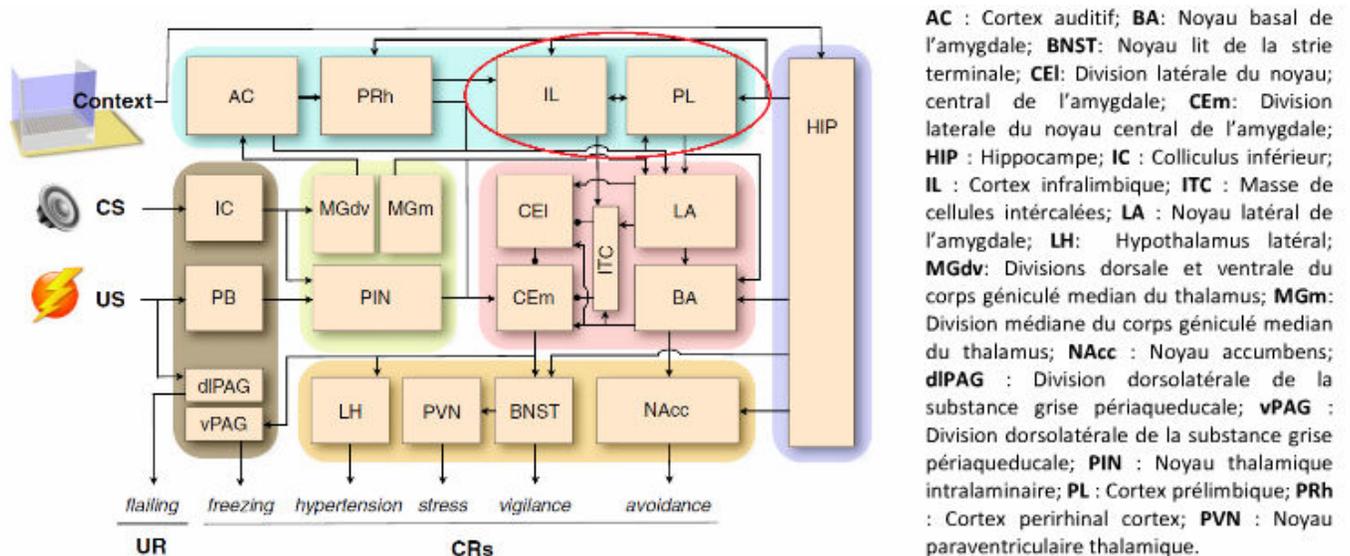
Les émotions sont définies comme des changements épisodiques et synchronisés dans l'organisme reflétant l'identification rapide des stimuli saillants dans l'environnement et la production de réponses comportementales et physiologiques adaptatives (Fossati 2012). Bien que transitoires, les épisodes émotionnels sont essentiels à la survie et ont une forte et persistante influence sur les processus cognitifs comme la perception, l'attention, la mémoire et la prise de décision (Dolan 2002). Toutefois, pour le bon déroulement des fonctions cognitives, il est aussi important pour l'animal de pouvoir réguler ses émotions.

La régulation des émotions est un processus par lequel le cerveau contrôle quand, où, comment et quelles émotions sont exprimées (Gross 1998). Les paradigmes utilisés pour étudier la régulation des émotions chez l'Homme examinent les réponses à des stimuli émotionnels et/ou l'inhibition des influences émotionnelles sur le comportement. Ces processus de régulation des émotions déclenchent une activation du mPFC et une inhibition de l'amygdale. Un schéma d'activation similaire est retrouvé chez les rongeurs pendant le rappel de l'extinction de la peur, un exemple de régulation émotionnelle (Quirk & Beer 2006). Ce chevauchement des circuits suggère que les mécanismes de régulation émotionnelle chez les humains et les rongeurs sont comparables. Bien que les régulations émotionnelles soient difficiles à étudier chez les rongeurs, de grands progrès ont été réalisés sur l'expression et l'extinction de la peur conditionnée.

Avant de parler de ce mécanisme d'extinction, il est important de comprendre ce qu'est la peur conditionnée. En fait, la peur conditionnée qu'est une forme d'émotions cognitives qu'on peut distinguer de la peur innée, en présence d'un prédateur par exemple qui fait partie quant à elle des émotions instinctives. La peur innée serait entièrement dépendante de l'amygdale alors que la peur conditionnée implique différentes structures dont le PFC (Corcoran & Quirk 2007). Le conditionnement de peur chez le rongeur est un apprentissage pavlovien qui associe un stimulus neutre, comme la présentation d'un son et/ou d'un contexte, à un stimulus aversif non-conditionné (US), comme la délivrance d'un choc électrique plantaire. Durant la phase d'apprentissage (ou acquisition), le stimulus neutre devient conditionné (CS) et acquiert une valeur aversive ; en d'autre terme, il génère une réaction de peur qu'on peut mesurer entre autre grâce au comportement d'immobilisation (ou freezing en anglais). Cette réponse de peur est ensuite stockée dans la mémoire et la seule présentation du CS plusieurs heures ou jours après l'acquisition est capable d'induire à nouveau un comportement d'immobilisation. Toutefois, une présentation répétée du CS sans le choc électrique (US) induit une diminution progressive du freezing ; c'est cette diminution de la réponse conditionnée de peur qu'on appelle : « extinction ». En fait, l'extinction est un nouvel apprentissage inhibiteur qui supprime une réponse préalablement conditionnée, sans pour autant effacer l'association acquise après le conditionnement. Vu que l'extinction ne fait pas disparaître le souvenir émotionnel, elle

peut être considérée comme un mécanisme de régulation émotionnelle qui contrôle l'expression de la peur (Rescorla 2004).

Le mPFC peut réguler les réponses comportementales de peur, notamment grâce à ses connexions réciproques avec l'amygdale (Figure 14) ; une structure qui joue un rôle central dans l'acquisition et l'expression des réponses conditionnées de peur (Peters et al. 2009; Quirk & Beer 2006; Maren et al. 2013; Cho et al. 2013). Des expériences d'inactivation ou de lésions étendues du mPFC ont donné lieu à des données controversées (Courtin et al. 2013). Cependant, les études qui se sont focalisées sur le rôle spécifique des sous-régions du mPFC ont pu exclure l'implication de l'ACC et du cortex précentral dans l'expression et la régulation de l'émotion de peur, et démontrer un rôle crucial et antagoniste des cortex infralimbique et prélimbique (Vidal-Gonzalez et al. 2006).



**Figure 14: Neuroanatomie du circuit de peur conditionnée.** Ce schéma simplifié décrit la connectivité des différentes régions cérébrales impliquées dans le circuit de conditionnement de peur. L'amygdale est au centre de ce circuit, elle reçoit des informations contextuelles via l'hippocampe (violet) et des informations sensorielles via le tronc cérébral (marron) et le relai thalamique (vert). Les structures corticales influencent l'activité de l'amygdale via le mPFC (IL, cortex infralimbique; PL, cortex prélimbique). Les principales sorties de l'amygdale projettent en direction du prosencéphale basal (orange) pour moduler des réponses comportementales et en direction du tronc cérébral (marron) pour induire l'immobilisation (freezing). D'après Maren., 2011.

Le PLC est nécessaire à l'expression des réponses conditionnées de peur (Corcoran & Quirk 2007). En effet, le PLC projette vers la subdivision basale de l'amygdale, ou BLA (McDonald et al. 1996; Vertes 2004) ; cette dernière active le noyau central de l'amygdale (CE) qui est nécessaire à l'expression de la peur (Anglada-Figueroa & Quirk 2005). Il a également été montré que les décharges des neurones du PLC sont suivies 20ms après par des décharges dans la BLA (Likhtik 2005), ce qui indique la présence d'une projection excitatrice directe reliant le PLC à la BLA. De plus, la stimulation électrique du PLC favorise

l'expression et la réactivation de la peur conditionnée et empêche son extinction (Vidal-Gonzalez et al. 2006). A l'inverse, la stimulation de l'ILC inhibe les réponses conditionnées de peur et favorise leur extinction (Vidal-Gonzalez et al. 2006; Peters et al. 2009). Comme le PLC, l'ILC envoie aussi des projections excitatrices vers le complexe amygdalien. Cependant, il cible préférentiellement une subdivision contenant des neurones GABAergiques dont le rôle est d'inhiber le CE, responsable de l'activation de la réponse de peur (Peters et al. 2009).

On peut noter trois faits intéressants sur le mPFC et la régulation émotionnelle : tout d'abord, des enregistrements unitaires ont révélé que le codage du CS par les neurones de l'ILC ne se développe qu'après que l'apprentissage de l'extinction a eu lieu (Milad & Quirk 2002) ; ensuite et comme je l'ai mentionné dans la partie traitant de la connectivité extrinsèque des neurones GABAergiques du PLC, l'activation de l'ILC induit une inhibition des neurones pyramidaux du PLC (Ji & Neugebauer 2012), lui permettant ainsi d'inhiber les sorties du PLC tout en activant ses régions sous-corticales cibles ; finalement, plusieurs évidences montrent qu'une diminution de l'activité des neurones pyramidaux du PLC est nécessaire à l'expression de l'extinction de peur conditionnée (Herry et al. 2010).

La combinaison de ces trois faits peut fournir une explication mécanistique des rôles antagonistes que jouent les cortex infralimbique et prélimbique dans l'expression et la régulation de la peur conditionnée. La logique de ce raisonnement est la suivante :

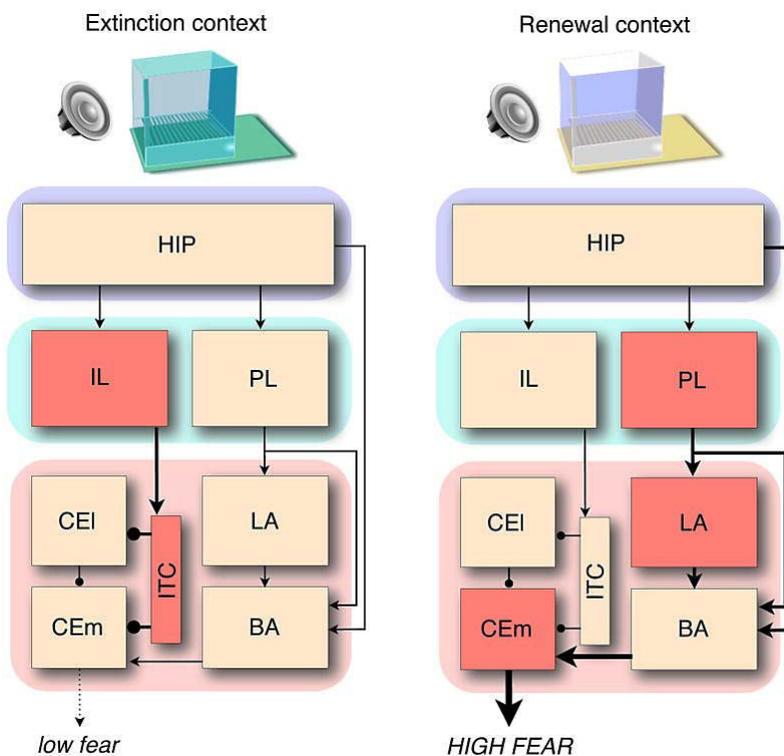
- Durant l'acquisition de la peur conditionnée : le codage du CS dans mPFC s'effectue spécifiquement dans le PLC ; celui-ci active la BLA qui active à son tour le CE générant ainsi une réaction de peur.
- Durant l'acquisition de l'extinction de la peur conditionnée : les neurones de l'ILC se mettent aussi à coder le CS (peut-être en raison de l'absence de l'US) et leur activation permettrait d'une part, d'activer les neurones GABAergiques de l'amygdale qui inhibent le CE, et d'autre part d'activer les neurones inhibiteurs locaux du PLC, annulant de ce fait l'action excitatrice de ce dernier sur la BLA et donc sur le CE. Ceci engendre par conséquent l'extinction et la suppression de la réaction de peur.

Toutefois, à ma connaissance, aucune étude n'a montré clairement un contrôle inhibiteur l'ILC sur le PLC durant l'extinction de peur conditionnée (Tovote et al. 2015). En effet, des études approfondies sur rôle des interactions entre l'ILC et le PLC dans ce processus de régulation émotionnelle sont encore nécessaires à la validation de cette hypothèse.

Néanmoins on peut conclure que le PLC est impliqué dans l'expression de la peur conditionnée ; l'ILC, quant à lui, semble plus exercer un contrôle inhibiteur sur le PLC afin d'assurer l'expression de l'extinction de la peur conditionnée. Ainsi, les sous-régions infralimbique et prélimbique du mPFC exercent une

régulation bidirectionnelle sur la peur à travers des projections divergentes vers l'amygdale (Figure 15) (Maren 2011).

La régulation émotionnelle de la peur est un processus fortement dépendant des facteurs contextuels et donc du circuit hippocampo-préfrontal (Figure 15) (Sotres-Bayon et al. 2004; Maren et al. 2013). Cependant, l'hippocampe n'est impliqué que dans l'aspect spatiotemporel du contexte et ne semble pas apporter des informations sur les composantes affectives de l'expérience (Vertes 2006; Euston et al. 2012). En fait, ces éléments émotionnels semblent découler de structures limbiques sous-corticales, notamment, la VTA, le NAcc, l'amygdale et le thalamus (Cardinal et al. 2003; Vertes 2006; Floresco 2014). Le mPFC et toutes ces structures limbiques constituent ce qu'on appelle le « cerveau émotionnel ». Ce dernier présente un chevauchement impressionnant avec le cerveau social. En effet, au-delà de leur rôle classique dans le traitement des informations émotionnelles, ces régions cortico-limbiques sont impliquées dans le traitement des stimuli sociaux pertinents et la régulation des interactions sociales (Fossati 2012).



**Figure 15 : Le mPFC contrôle les réponses de peur conditionnées en fonction du contexte.**

(à gauche) Dans un contexte différent de l'acquisition, l'ILC est préférentiellement activé et participe à l'extinction.

(à droite) Dans un contexte identique à celui de l'acquisition, le PLC est activé et participe à la réactivation de la peur (renewal).

D'après Maren., 2011.

#### **4.2.6. Régulation des comportements sociaux**

Pour assurer la survie des individus et des espèces, des comportements sociaux complexes se sont développés au cours de l'évolution (Cohen 2004; Amodio & Frith 2006; Strodl & Schausberger 2012). Il est bien admis que le cortex préfrontal joue un rôle important dans le contrôle du comportement social chez un grand nombre d'espèces mammifères (Schneider & Koch 2005; Avale et al. 2011; Wall et al. 2012; Kolb & Gibb 2015). Ainsi, des lésions du mPFC ou du cortex orbitofrontal (OFC) chez les rats aboutissent à des changements dans les interactions sociales chez les adultes et des comportements du jeu social chez les rats juvénile (Kolb & Nonneman 1974; Kolb 1974; de Bruin 1990; Pellis et al. 2006).

##### **4.2.6.1. Contrôle des comportements de jeu et d'exploration sociale**

Le comportement de jeu social est une forme vigoureuse et caractéristique des interactions sociales des jeunes mammifères. Ce comportement très plaisant (générant une sensation de récompense) a une importance majeure pour le développement social et cognitif. L'exploration sociale est, quant à elle, définie comme toute interaction sociale n'impliquant pas le jeu et les comportements agressifs ou sexuels ; chez les rongeurs, elle comprend des comportements tels que le toilettage et le reniflement des congénères ainsi que les comportements d'approche et de poursuite (Van Kerkhof et al. 2013; Avale et al. 2011).

Plusieurs études démontrent l'implication du PLC dans le circuit striato-préfrontal responsable du contrôle du comportement du jeu. En effet, les projections glutamatergiques entrantes du striatum dorsal exercent un effet inhibiteur sur le jeu social, et l'activation du NAcc agit pour limiter le temps de jeu (Pellis et al. et 2006; Trezza et al. 2011 et 2012). Les lésions de l'amygdale au stade néonatal et juvénile, démontre que cette structure très interconnectée avec mPFC, favorise le comportement de jeu social (Meaney et al. 1981; Daenen et al. 2002). Des altérations dans l'initiation du jeu social ont également été reporté après des lésions néonatales du PFC (Panksepp et al. 1994; Schneider & Koch 2005; Bell et al. 2010). De plus, l'inactivation du PLC, de l'ILC et du OFC ont nettement réduit la fréquence et la durée des comportements de jeu social (Wm Van Kerkhof et al. 2013). En utilisant le marquage c-fos (un indicateur d'activité), d'autres études ont pu observer une augmentation de l'activité neuronale après un comportement de jeu social dans plusieurs sous-régions du mPFC (PLC, ILC et ACC) et du OFC (Gordon et al. 2002; Cheng et al. 2008; Wm Van Kerkhof et al. 2013).

Par ailleurs, l'inactivation du PLC augmente le temps que les animaux passent dans l'exploration sociale. Les inactivations de l'ILC ou de l'OFC n'ont quant à elles aucun effet sur ce comportement (van Kerkhof et al. 2013). De plus, l'expression de c-fos est spécifiquement activée dans le PLC des souris à qui on présente une nouvelle souris, et est particulièrement élevée par rapport à celle qui a lieu suite à la présentation d'un nouvel objet. D'autres études montrent également, que les souris avec des lésions du PLC présentent une

augmentation du temps d'exploration sociale au détriment du temps d'exploration de l'environnement qui se retrouve réduit chez ces animaux (Avale et al. 2011). Parallèlement, l'exploration de la nouveauté ne semblent pas altérée chez les rongeurs avec un PLC lésé (Granon et al. 1996; Mogensen et al. 2004). De ce fait, ces données suggèrent que la favorisation des interactions sociales chez ces animaux lésés n'est pas due à un manque d'intérêt pour l'environnement ou pour la nouveauté. Ce défaut est probablement plus dû à l'incapacité de ces souris à se désengager d'un type d'actions qui conduit à un genre de récompense (l'interaction avec un partenaire social) et de balancer leurs comportements entre interactions sociale et exploration de l'environnement. En effet, comme je l'ai mentionné précédemment le PLC est impliqué dans la capacité à changer de stratégie et à passer d'une action ou d'une récompense à une autre (Birrell & Brown 2000; Ragozzino et al. 1999; E L Rich & Shapiro 2009).

Ainsi, l'augmentation de l'exploration sociale après la lésion ou l'inactivation du PLC, suggère que l'initiation des interactions sociales n'est pas contrôlée par le PLC. Cependant une fois que l'interaction sociale est lancée, elle est moins souvent suivie par le lancement d'un comportement de jeu, ce qui entraîne indirectement une augmentation de l'exploration sociale. L'ensemble de ces données suggèrent donc que l'activité fonctionnelle du PLC sert à faciliter les initiatives de jeu et à contrôler la balance entre interactions sociales et explorations environnementales (Van Kerkhof et al. 2013; Avale et al. 2011).

Après la fin de l'adolescence, le comportement change ; en effet, les rongeurs arrêtent de jouer les uns avec les autres et commencent à présenter des comportements offensifs et défensifs sur lesquels le mPFC exerce un contrôle cognitif (Bell et al. 2009).

#### **4.2.6.2. Contrôle des comportements agressifs**

Le comportement agressif est largement présent dans tout le règne animal, sûrement en raison de l'avantage adaptatif et évolutif qu'il confère aux animaux sociaux (Takahashi et al. 2014). Toutefois, lorsque le comportement agressif dépasse le niveau normal typique de l'espèce, il n'est plus considéré comme adaptatif ; par conséquent, il doit y avoir un mécanisme de contrôle de l'agressivité excessive.

Le mPFC est impliqué dans le contrôle inhibiteur des débordements émotionnels, y compris l'agressivité et la violence (Nelson & Trainor 2007; Davidson et al. 2000). En effet, le mPFC envoie des projections glutamatergiques vers plusieurs régions cérébrales liées à l'agressivité (Vertes 2004; Gabbott et al. 2005; Hoover & Vertes 2011) telles que l'hypothalamus antérieur (Ferris et al. 1997; Gobrogge et al. 2009) l'amygdale médiane (Koolhaas., 1990), la VTA (Fuxjager et al. 2010), le noyau du raphé dorsal (Faccidomo et al. 2008; Takahashi et al. 2010) et la substance grise périaqueducule (Depaulis et al. 1992; Lonstein & Stern 1997).

Les lésions du mPFC augmentent l'agressivité induite par un choc et l'agressivité inter-mâles (Kolb & Nonneman 1974) tout en diminuant la complexité des stratégies défensives utilisées (Bell et al. 2009). De plus, après une rencontre agressive, l'expression de c-fos est activée dans le mPFC (Halász et al. 2006; Haller et al. 2006). Un fait intéressant est que cette activation du mPFC induite par la rencontre agressive a été émoussée dans un modèle animal d'agressivité excessive dans lequel les rats ont été isolés socialement pendant 4 semaines (Wall et al. 2012). Des expériences d'optogénétiques ont également démontré que l'inhibition d'une portion du mPFC incluant le PLC produisait une exacerbation de l'agressivité entre les souris mâles (Takahashi et al. 2014). La même étude, a, en parallèle, montré que l'activation optogénétique des neurones pyramidaux du mPFC, mais ceux de l'OFC, réduisait la fréquence des agressions et leurs intensités sans affecter la durée des attaques. De plus, les auteurs ont aussi dévoilé que l'activation du mPFC ne peut pas stopper les attaques agressives une fois qu'elles sont lancées. Ainsi, le mPFC joue un rôle inhibiteur dans l'initiation et l'exécution, mais pas l'arrêt, des comportements agressifs chez les mâles. Les mâles ne sont pas les seuls à exprimer une agressivité physiologique ; les femelles présentent aussi des comportements agressifs, principalement durant la période postpartum (Erskine et al. 1978; Numan & Woodside 2010). En effet, l'introduction d'une autre souris dans la cage d'une femelle postpartum déclenche ce qu'on appelle un « comportement d'agressivité maternelle » (Neumann et al. 2001; Bosch et al. 2005). Plusieurs études ont lié l'agressivité maternelle à l'activation du mPFC (Gammie et al. 2004; Nephew et al. 2009). De plus, une étude récente a montré que le blocage des récepteurs à l'ocytocine dans le PLC de femelles postpartum augmentait la fréquences des attaques engagées contre l'intrus et diminuait le temps de latence avant les agressions (Sabihi et al. 2014). Le PLC est donc impliqué dans la modulation de l'agressivité maternelle.

En conclusion, le PLC (et le mPFC en général) joue un rôle crucial dans le contrôle des comportements agressifs chez les mâles et chez les femelles. Chez les rongeurs, comme chez beaucoup d'espèces mammifères, l'agressivité constitue un avantage évolutif important pour la survie et sélection sexuelle. En effet, ce comportement permet de faire face à des menaces extra-spécifiques (prédateurs) et intra-spécifiques (congénères) durant la concurrence pour les opportunités d'accouplement et la défense du territoire ou de la progéniture (Lindenfors & Tullberg 2011). Toutefois, le mPFC n'est pas uniquement impliqué dans l'aspect agressif de la sélection sexuelle chez les mâles et de la protection des petits chez les femelles, il régule aussi d'autres aspects des comportements maternels et de la reproduction

#### **4.2.6.3. Contrôle des comportements sexuels et maternels**

Plusieurs évidences indiquent que le mPFC est impliqué dans le comportement sexuel chez les rongeurs mâles et femelles (Agmo & Villalpando 1995; Agmo et al. 1995; Balfour et al. 2006; Afonso et al. 2007; Hernández-González et al. 2007).

Le mPFC est interconnecté avec le système limbique, qui joue un rôle important dans la régulation du comportement, de la motivation et de la récompense sexuelles. Au cœur de ce système on retrouve le circuit méso-cortico-limbique, qui comprend des régions telles que la VTA et le NAcc. En effet, la majorité des neurones de la VTA qui répondent au comportement sexuel reçoivent des inputs en provenance de l'ILC et du PLC, mais pas de l'ACC. Il a également été montré que les cellules du l'ILC et du PLC sont activées durant les comportements sexuelles (Balfour et al. 2006). De plus, les lésions du mPFC ont un effet négatif sur le comportement et la motivation sexuels (Hendricks & Scheetz 1973; Pfaus & Phillips 1991; Fernández-Guasti et al. 1994; Agmo et al. 1995).

Chez les mâles, une étude a mesuré le taux de décharge des neurones du mPFC pendant l'expression des réponses d'approche vers une femelle sexuellement réceptive, et a montré que 23% de ces neurones présentent une augmentation du taux de décharge durant le comportement d'approche et pas avant (Febo 2011). Les performances copulatoires sont aussi altérées chez des mâles avec une lésion d'une portion du mPFC incluant le PLC (Agmo et al. 1995).

Chez les femelles, les comportements sexuels et maternels sont exprimés dans une séquence temporelle bien organisée. Ces comportements se composent de plusieurs éléments stéréotypés, régulés par des mécanismes similaires et chevauchants. En effet, la modulation de ces deux comportements implique les odeurs, les hormones ovariennes, ainsi que les systèmes sous-corticaux constitués de l'aire préoptique médiane, de l'hypothalamus ventromédian, du noyau lit de la *stria terminalis*, de l'amygdale et des régions septale et périaqueducale (Numan et al. 2006; Simerly 2002). Des lésions du mPFC ont réduit le temps de latence, la fréquence, la durée et l'exécution de la séquence temporelle des comportements sexuels et maternels (Afonso et al. 2007). En effet, les rates lésées présentent une diminution des niveaux d'interactions avec les mâles et une réduction des comportements de sollicitation et d'approche ; par contre, les comportements qui nécessitent peu d'interactions avec les mâles (reniflement des zones génitales, et auto-toilette) et les réflexes tels que la lordose (la réponse aux stimulations tactiles des mâles) ne sont pas affectés (Pfaff & Lewis 1974; Afonso et al. 2007). Ainsi, dans les comportements sexuels des femelles, les lésions du mPFC affectent les comportements les plus complexes et les plus interactifs. Par ailleurs, les études du comportement maternel montrent que le blocage des récepteurs à l'ocytocine dans le PLC de femelles postpartum diminue la fréquence des interactions mère/petits et réduit les soins que les mères accordent à leur petits en les léchant et les nourrissant (Sabihi et al. 2014). La même étude a aussi montré une altération des comportements de récupération des petites. En effet, les auteurs ont observé une diminution du nombre de rats récupérés et une augmentation du temps de latence pour la récupération du premier raton.

Le PLC est donc nécessaire au bon fonctionnement des comportements sexuels et maternels chez les rongeurs. Outre leur importance dans la survie de l'individu et de l'espèce, ces comportements, comme toutes les autres interactions sociales, procurent des récompenses et réduisent le stress (Douglas et al. 2004; Wall et al. 2012; Lungwitz et al. 2014).

#### **4.2.6.4. Régulation de l'effet anxiolytique de la familiarité sociale**

La capacité à surmonter les peurs et l'anxiété peut être fortement améliorée par la présence des partenaires sociaux familiers. En effet, chez plusieurs espèces mammifères, la présence d'un congénère réduit les réponses comportementales et autonomes aux menaces (Davitz & Mason 1955; Terranova et al. 1999; Hennessy et al. 2000; Hennessy et al. 2002; DeVries et al. 2003; Kiyokawa et al. 2007; Kiyokawa et al. 2009; Kiyokawa et al. 2012; Nakayasu & Kato 2011) ; ces réductions sont encore plus grandes quand le congénère est familier.

Le mPFC est au même temps impliqué dans la régulation des comportements sociaux et le contrôle des émotions et de l'anxiété (Fossati 2012; Kim et al. 2011), ce qui suggère un rôle central du mPFC dans la modulation de l'effet anxiolytique de la familiarité sociale. Pour valider cette hypothèse, une étude récente a utilisé un paradigme qui permet de tester l'effet de la présence récurrente d'un congénère familier sur la réduction de l'anxiété induite par une exposition à une lumière vive (Lungwitz et al. 2014). Les résultats de cette étude ont montré que l'inhibition du mPFC, avec des injections bilatérales de muscimole (un agoniste des récepteurs GABA<sub>A</sub>), bloque l'expression de l'anxiolyse induite par la familiarité sociale.

Le mPFC semble donc contrôler l'intégration des signaux sociaux rassurants et contribue de ce fait, à l'expression des réponses anxiolytiques. Ceci suggère une possible implication dans la régulation du stress.

#### **4.2.7. Contrôle du stress et de l'anxiété**

Même si le stress et l'anxiété sont deux termes liés et souvent utilisés de façon interchangeable, ils décrivent deux phénomènes différents. Le stress est plutôt une réaction physiologique qui peut être déclenchée par plusieurs causes distinctes mais toujours en rapport à des cotextes ou événements présents, alors que l'anxiété est due à l'anticipation d'un événement futur et est le plus souvent focalisée sur une cause de stress unique et bien précise.

Plusieurs études démontrent que le mPFC joue un rôle important dans la régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénal (en anglais, hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis), principal circuit du stress émotionnel (Diorio et al. 1993; Figueiredo et al. 2003; Spencer et al. 2005). Cette régulation s'effectue en grande partie par l'intermédiaire du noyau hypothalamique paraventriculaire (PVH). Le PVH comporte des régions impliquées dans le contrôle autonome, et des régions neuroendocrines qui abritent des cellules

sécrétant le CRF (Corticotropin releasing factor). Une fois libéré, le CRF active le circuit de stress en stimulant la libération de l'hormone corticotrope (ACTH) par l'hypophyse. L'ACTH active, à son tour, la glande surrénale qui se met à sécréter des glucocorticoïdes (Antoni 1986). Ensemble, ces systèmes effecteurs servent à activer les réponses «de lutte ou de fuite » qui permettent de faire face aux situations de stress aiguës.

L'un des meilleurs moyens de générer un stress aigu chez les rongeurs, est de les empêcher de bouger en les plaçant dans un dispositif (un tube en plexiglas par exemple) dans lequel ils sont retenus pour une durée de quelques minutes à quelques heures. Ce moyen simple, indolore et sans répercussions cognitives durables induit un stress aigu qu'on nomme « stress de contention » ou « stress d'immobilisation » (Buynitsky & Mostofsky 2009).

Il a été montré que le mPFC est impliqué dans le stress de contention aigu (Sullivan & Gratton 1999). Toutefois, comme dans beaucoup d'autres comportements, les parties prélimbiques et infralimbiques du mPFC jouent des rôles antagonistes dans le contrôle du stress aigu. En effet, la lésion du PLC amplifie l'expression de c-fos et de CRF induite par le stress spécifiquement dans la région neuroendocrine du PVH ; alors que l'ablation de l'ILC la diminue dans ce compartiment et l'augmente dans les parties impliquées dans le contrôle autonome. De plus, la lésion du PLC a conduit à une augmentation des taux plasmatiques de l'ACTH et des glucocorticoïdes ; tandis que la lésion de l'ILC n'affecte pas les niveaux de ces substances dans le plasma, et semble plutôt accélérer le retour au niveau de base des taux des glucocorticoïdes (Radley et al. 2006). Ainsi l'activation de l'axe HPA par un stress aigu est exacerbée par la lésion du PLC et modérément inhibée par les lésions de l'ILC. Ainsi, le PLC exerce un contrôle inhibiteur sur le stress aigu. Par ailleurs, le PLC est aussi impliqué dans le contrôle de l'effet anxiogène du stress chronique.

Parmi les modèles rongeurs de stress chroniques, on peut retrouver le modèle de défaite sociale. Ce modèle basé sur les conflits sociaux est souvent utilisé en raison de son implication dans une forme sociale de stress qui présente un intérêt évident pour les analogies avec les psychopathologies induites par le stress chez l'Homme (Krishnan et al. 2007). Le principe du modèle de défaite sociale est de générer un stress en induisant une subordination sociale par la présentation d'un congénère dominant (Koolhaas et al. 1997; Venzala et al. 2012).

Chez les souris ayant subi un stress chronique de défaite sociale, la stimulation optogénétique des cellules pyramidales du PLC induit des effets anxiolytiques durables dans le labyrinthe en croix surélevé (ou elevated plus maze en anglais (EPM)), un paradigme utilisé pour mesurer les comportements d'anxiété. La stimulation de l'ILC quant à elle n'a eu aucun effet sur la réponse de stress (Kumar et al. 2013). De plus, l'inactivation pharmacologique du PLC après un stress chronique augmente l'anxiété chez les souris ; la

photostimulation des neurones pyramidaux du PLC qui projettent vers la BLA (et pas ceux qui contactent le NAcc) corrige ce défaut (V Vialou et al. 2014). L'effet anxiolytique du PLC semble donc impliquer ses connexions avec l'amygdale.

L'ensemble de ces études indique que le PLC inhibe le stress et l'anxiété, confirmant ainsi son rôle dans le contrôle top-down des réponses adaptatives.

### **4.3. Conclusion sur les fonctions du PLC**

Pour conclure, les fonctions physiologiques du PLC et du mPFC en général, supportent les processus mnésiques dans des échelles de temps allant de la seconde à plusieurs jours. Le PLC participe d'une part à la mémoire de travail et aux processus attentionnels, et d'autre part au rappel de la mémoire à long terme. De plus, le PLC est impliqué dans la flexibilité comportementale et les prises de décision en relation avec des composants émotionnels et motivationnelles. Il joue également un rôle important dans la régulation des émotions, du stress et le contrôle des comportements sociaux.

Ces différentes fonctions peuvent être réconciliées. Il a été proposé que l'ensemble du mPFC permet l'association des contextes, des localisations spatiale et temporelle et des évènements avec une réponse émotionnelle et comportementale adaptée. Autrement dit, le recrutement du mPFC durant la prise de décision serait dû au fait que ces différents processus nécessitent une même capacité à se remémorer l'action ou la réponse émotionnelle adaptée au sein des expériences individuelles passées (Euston et al. 2012).

Certaines fonctions du mPFC se mettent en place durant le développement et sont particulièrement vulnérables durant l'adolescence. L'expérience et l'activité permettraient de sculpter le circuit neuronal du cortex préfrontal par des réarrangements morphologiques et fonctionnels qui s'étendent sur une longue période de vie.

## **5. Maturation du cortex préfrontal**

Le développement du cortex n'est pas la simple conséquence de facteurs génétiques permettant la mise en place et l'établissement des connexions nécessaires aux fonctions des réseaux corticaux. En effet, l'activité neuronale et les expériences sont des facteurs importants pour la maturation corticale et celles du PFC.

### **5.1. Développement des fonctions dépendantes du PFC**

Chez l'humain, la maturation fonctionnelle du PFC s'effectue durant une période étendue qui commence durant l'enfance et se termine au stade de jeune adulte, vers l'âge de 20 ans. Ainsi, le PFC présente la particularité remarquable d'être la dernière structure du cerveau à atteindre la maturité (Fuster 1991;

Goldman-Rakic 1995). La maturation du PFC serait favorisée par l'expérience dès la première année chez l'enfant (Diamond & Goldman-Rakic 1989).

La maturation des circuits du PFC durant l'adolescence est concomitante avec l'émergence des fonctions exécutives permettant d'adapter les comportements en fonction de l'environnement. Les performances dans des tâches impliquant la mémoire de travail augmentent en fonction de l'âge (Crone et al. 2006). La vitesse et le taux de réponses correctes dans un exercice de rappel mnésique, progressent entre 8 ans et 25 ans. L'analyse par IRM fonctionnelle des zones cérébrales activées dans ce test indique que les individus adolescents et adultes recrutent préférentiellement le PFC pour la rétention des informations durant l'acquisition et le rappel à la différence des enfants (8 ans à 12 ans) qui utilisent d'autres régions cérébrales (Crone et al. 2006). Il semblerait aussi que les aires apparues précocement durant l'évolution phylogénétique se développent en premier durant le développement, les aires d'intégration telles que le PFC devenant matures ultérieurement. Les données d'imagerie fonctionnelle démontrent que le PFC mature après les aires somatosensorielles et visuelles (Gogtay et al. 2004).

Chez le rongeur, des fonctions dépendantes du PFC comme les comportements sociaux se développent en fonction de la maturation de cette structure. Durant les stades juvénile et adolescent les rongeurs présentent des comportements de jeu social qui se développent puis disparaissent à la fin de l'adolescence pour laisser place à des comportements adultes, tels que le comportement sexuel et agressif (Van Kerkhof et al. 2013; Avale et al. 2011). Une étude a également montré que les modifications des connexions fonctionnelles entre les différentes sous-régions du PFC sont associées à la maturation du comportement d'extinction chez les jeunes rats. Ceci suggère que le développement fonctionnel du PFC sous-tend l'émergence postnatale de la flexibilité comportementale chez les rongeurs (Nair et al. 2001).

Les stades juvénile et adolescent constituent une période critique pour la maturation du circuit du PFC et la finalisation des inputs glutamatergiques, GABAergiques et dopaminergiques en provenance de l'hippocampe, de l'amygdale et de la VTA. De ce fait, cette période est caractérisée par d'intenses remodelages synaptiques accompagnés par des changements importants dans la neurochimie des synapses (Murphy et al. 2010).

## **5.2. Réarrangements synaptiques**

Des études longitudinales ont détaillé la formation des synapses (ou synaptogenèse) chez l'humain (Huttenlocher & Dabholkar 1997; Elston et al. 2009; Petanjek et al. 2011; Kolb et al. 2012; Elston & Fujita 2014). Au stade embryonnaire, les premiers contacts synaptiques s'effectuent sur le tronc dendritique. À la période périnatale, les synapses commencent à s'effectuer au niveau des épines dendritiques. Leur nombre

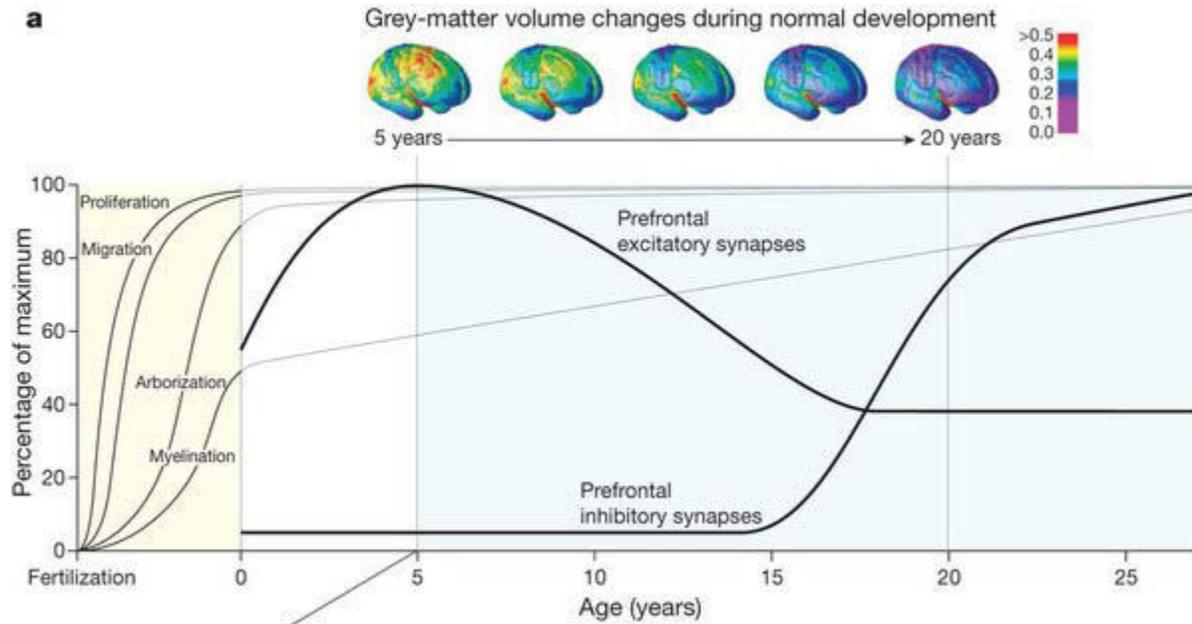
augmente rapidement jusqu'à atteindre un pic culminant durant la petite enfance. En effet, la densité d'épines dendritiques est deux à trois fois plus élevée durant l'enfance qu'au stade adulte.

La synaptogenèse est retardée dans le PFC comparé aux autres aires corticales. Chez l'humain, le pic de la densité de synapses arrive vers l'âge de 1 an dans les cortex sensoriels, alors que dans le PFC le nombre de synapses culmine autour de l'âge de 5 ans. Cette surproduction de synapses s'arrête à partir de la fin de l'enfance dans la majorité des aires corticales, mais dans le PFC, elle persiste jusqu'aux environs de l'âge de 30 ans. De plus, la surproduction de synapses est plus grande dans le PFC en comparaison à d'autres cortex. Après le début de la synaptogénèse, le PFC subit, comme les autres aires corticales, une phase d'élimination neuronale et synaptique (Huttenlocher 1979). Le PFC semble être la région qui montre le plus lent taux d'élimination synaptique dans le cerveau. De ce fait, la densité synaptique dans le PFC décline très lentement de l'adolescence au stade adulte (Figure 16) (Petanjek et al. 2011). Une élimination synaptique excessive ou bien au contraire insuffisante serait à l'origine de désordres neurodéveloppementaux et psychiatriques (Penzes et al. 2011).

Les périodes de surproduction et d'élimination synaptiques particulièrement longues dans le PFC augmenteraient la sensibilité aux influences de l'expérience sur le développement des capacités cognitives durant l'enfance et l'adolescence. En fait, ces réarrangements synaptiques qui aident à sculpter la connectivité intrinsèque et extrinsèque des circuits du PFC, sont influencés par l'activité neuronale et par l'expérience. De plus, la période de forte densité synaptique dans le PFC correspond au stade où l'apprentissage et l'expérience sont les plus intenses (Changeux & Danchin; Purves & Lichtman 1980; Bourgeois et al.). Plusieurs chercheurs proposent que durant la période qui s'étend de la petite enfance à l'école maternelle, les premières expériences de vie (aversives, plaisantes ou autres) permettent de façonner les circuits de base du PFC qui sous-tendent, au stade adulte, les fonctions cognitives supérieures ; ces circuits synaptiques seraient ensuite affinés par les expériences survenant durant l'adolescence (Tsujimoto 2008; Kolb et al. 2012; Kolb & Gibb 2015).

**Figure 16 : Neuro-développement du PFC chez l'humain.**

Le développement du PFC met en jeu des mécanismes de prolifération, de migration, d'arborisation et de myélination. Les deux premiers processus se produisent principalement durant la vie embryonnaire. Les deux autres processus commencent durant l'embryogenèse et se poursuivent durant les deux premières décennies de la vie postnatale. Les effets combinés de l'élimination synaptique, de l'élagage de l'arborisation dendritique et de la myélination sous-tendraient la réduction du volume de la matière grise observée en neuro-imagerie longitudinale (en haut). Toutefois, les modifications locales sont beaucoup plus complexes. Les données chez l'homme et les primates non humains indiquent qu'une augmentation du nombre des synapses inhibitrices et une diminution du nombre de synapses excitatrices se produisant dans le PFC tout au long de l'adolescence et le début de l'âge adulte, au cours de la période de prodrome et d'émergence de la schizophrénie. D'après Insel, 2010.



Bien que j'ai spécifiquement décrit la maturation du PFC humain, les principes de base restent les mêmes pour d'autres mammifères, y compris les animaux communément utilisés en laboratoire comme les rats et les souris. La chronologie des processus est légèrement différente de celle de l'humain parce que les rongeurs naissent plus jeunes que l'Homme d'un point de vue développementale (la naissance chez le rat correspond approximativement à la fin du 2nd trimestre de gestation humaine), et parce que leur maturation est plus rapide (Kolb et al. 2012).

Chez le rat, le pic de la densité des synapses semble survenir autour de P30 dans les régions sensori-motrices (Harris & Kater 1994), mais à ma connaissance aucune étude ne traite du sujet dans le PFC. Toutefois, une étude a montré que les caractéristiques cytoarchitectoniques du cortex sensori-moteur de rat se stabilisent autour de P24, tandis que celles du PFC ne se stabilisent qu'aux environs de P30 (Uylings & van Eden 1990). Étant donné que le pic de la densité synaptique semble survenir après la maturation cytoarchitectonique, nous pouvons postuler que les réarrangements synaptiques sont retardés dans le PFC murins. En effet, une étude de microscopie électronique montre que le nombre de synapses par  $\mu\text{m}^3$  continue d'augmenter entre P60 et P80 dans le PFC de rat (Murphy et al. 2010). Toutefois, une étude détaillée sur l'évolution du nombre de synapses durant la maturation postnatale du PFC murin reste à faire. Ainsi, comme chez l'Homme, la période juvénile et l'adolescence chez les rongeurs (qui se termine autour de P60) sont probablement caractérisées par des mécanismes d'intense élagage synaptique dans les régions préfrontales.

Chez le rongeur, la maturation des synapses du PFC, en comparaison à d'autres structures cérébrales, semble également plus lente au niveau neurochimique et fonctionnel. La maturation synaptique implique par exemple, une coordination de changements présynaptiques et postsynaptiques. Durant cette maturation, la présynapse diminue la probabilité de libération du glutamate, au même temps que la postsynapse modifie sa composition en sous-unités des récepteurs glutamatergiques de type NMDA (NMDA-R) en exprimant plus de GluN2A (Chavis & Westbrook 2001). Les propriétés cinétiques des courants générés par les NMDA-R dépendent de la composition en sous-unités ; les récepteurs comportant la sous-unité GluN2A ont de décroissance plus rapide que les récepteurs possédant la sous-unité GluN2B (Vicini et al., 1998). La durée de dépolarisation induite par les réponses de type NMDA intervient notamment dans l'intégration et le traitement de l'information (Feldman 2012; Evans et al. 2012). De manière intéressante, l'ensemble de ces données suggère que la composition en sous-unités des NMDA-R peut nous renseigner sur l'état de maturation des synapses. Il est intéressant de noter que la maturation de la composition en sous-unités des récepteurs NMDA-R est sous le contrôle de la reelin, principale protéine d'intérêt de ma thèse (Laurent Groc et al. 2007). Chez des souris adolescentes, le ratio GluN2B/GluN2A est plus élevé dans le PFC que dans l'hippocampe au niveau synaptique ou total (Zhao et al. 2005). L'augmentation de ce ratio est liée aux niveaux de GluN2A qui sont plus élevés dans l'hippocampe par rapport au PFC, et pas à ceux de GluN2B qui sont similaires dans ces deux structures cérébrales. De plus, le décroissance des réponses NMDA-R est deux fois plus lent dans le PFC comparé au cortex visuel chez les souris adultes. Dans le cortex visuel de rats, la proportion de la sous-unité GluN2B diminue rapidement durant le développement alors que dans le PFC la proportion reste constante indiquant une maturation des synapses plus lente dans le PFC (Wang et al. 2009). Ces données suggèrent que la maturation fonctionnelle des synapses est retardée dans le PFC par rapport à d'autres structures cérébrales.

En conclusion, la longue phase de développement et de réorganisation du circuit préfrontal permettrait l'acquisition de capacités cognitives dépendante des expériences. Des anomalies survenant durant cette phase de maturation tardive rendraient cette structure susceptible à des facteurs modifiant son fonctionnement et augmenteraient la vulnérabilité des individus à certaines maladies psychiatriques comme la dépression et la schizophrénie. Dans les deux prochains chapitres, je présenterai un facteur environnemental, l'isolement social et un facteur génétique, le gène reelin.

## II. ISOLEMENT SOCIAL

Comme je l'ai mentionné dans le précédent chapitre, d'importants changements dans le cerveau et le comportement se produisent entre l'enfance et l'âge adulte, de manière similaire chez les humains et les rongeurs (Kolb et al. 2012; Crone et al. 2006; Gogtay et al. 2004; Insel 2010; Van Kerkhof et al. 2013). Ce stade du développement postnatal chez ces espèces, est caractérisé, entre autre, par une augmentation marquée des interactions sociales, constituées principalement des comportements de jeu social (Groos 1898; Small., 1899 ; Johnson 1907; Curtis 1916; Parten 1932; Mitchell, E.D. 1948; English, H.B. 1958; Piaget, J. 1964; Gander 1981 ; Panksepp., 1981 ; Frost et Sunderlin., 1985 ; Scholer., 2001 ; Tomlin., 2012). Ces études indiquent que la fréquence des comportements de jeu et des interactions sociales en général, culmine également pendant le stade juvénile et l'adolescence et décline après la maturation sexuelle.

Des interactions sociales appropriées au cours de cette phase de la vie sont indispensables au développement cognitif et social chez les humains et chez les rongeurs (Matheson et al. 2013; Bell et al. 2010; Spinka et al. 2001; Vanderschuren & Niesink 1997). Chez l'humain, des altérations du comportement de jeu et/ou une réduction importante des interactions sociales sont observées durant l'enfance des patients atteints de nombreuses maladies psychiatriques (Alessandri 1992; Manning & Wainwright 2010; Yoshida et al. 2010; Tarbox & Pogue-Geile 2008; Matheson et al. 2013; Cacioppo et al. 2015a; Cannon et al. 2007). Plusieurs études, dont certaines très récentes, montrent que les prisonniers ayant subi un isolement social de longue durée, ont un risque accru aux troubles psychiatriques (Andersen et al. 2000; Andersen et al. 2003; Arrigo & Bullock 2008; Grassian 1983; McCarthy 2015; Cloud et al. 2015). Je reviendrai sur ces études dans le chapitre VI, dédié aux maladies psychiatriques. Chez les rongeurs communément utilisés en laboratoire, l'isolement social durant cette période produit des défauts cognitifs et comportementaux qui ressemblent à des symptômes de la schizophrénie. Ces défauts sont durables et ne sont pas corrigés par une resocialisation ultérieure (Hol et al. 1999; Lapid et al. 2003; K C F Fone & Porkess 2008; Pascual et al. 2006; Baarendse et al. 2013).

Dans ce chapitre, je donner un aperçu de l'étendu des défauts comportementaux, neuroanatomiques et neurochimiques qu'occasionne un isolement social chez les rongeurs, principalement quand il a lieu durant la période critique du développement postnatal du cerveau. Je préciserai tout au long de ce chapitre, les analogies entre les effets de l'isolement social et les symptômes de la schizophrénie. Mais, tout d'abord, je vais décrire brièvement les comportements sociaux chez les rongeurs.

## 1. Le comportement social chez les rongeurs

Dans la nature, les rats et les souris s'organisent dans des systèmes sociaux. Un mâle dominant contrôle le territoire contenant une ou plusieurs femelles reproductrices. Ce territoire peut aussi inclure un ou plusieurs mâles subordonnés (Nowak., 1999). Les deux espèces possèdent un riche répertoire de comportements utilisés pour l'exploration sociale, l'affiliation, le sexe et l'agressivité (Grant et MacIntosh., 1963). L'organisation sociale et le comportement des souris et des rats sont similaires. Dans les conditions de laboratoire, les rongeurs ne peuvent pas former une organisation sociale aussi complexe, car ils sont forcés à cohabiter avec plusieurs mâles ou femelles (Miczek et al. 2001). La plupart des souris de laboratoire par exemple, ont besoin d'une expérience considérable avec leurs congénères avant qu'elles puissent développer des comportements adultes tels que l'agressivité (King 1957). Toutefois, plusieurs comportements sociaux peuvent être observés chez ces espèces dans les conditions de laboratoire (Miczek et al. 2001).

Le comportement de jeu chez les rongeurs a été décrit en détail pour la première fois en 1899 par le psychologue expérimental Willard S. Small (Small., 1899). Small a noté que les rats commencent à jouer vers l'âge de 18 jours (ou P18), et que vers P25 l'ensemble de leur répertoire de jeu est complet. Ce répertoire comprend des comportements tels que : courir, sauter, grimper, creuser, ronger, lécher et caresser les congénères et simuler des comportements sexuels et des combats (en mordant et griffant). Dans son étude du développement comportemental chez les rats, Baenninger (1967) a résumé l'élaboration des comportements sociaux de P9 à P92, et a montré que les comportements de jeu se distribuent sur une courbe en U inversé avec un pic à P30-36. Les souris quant à elle, atteignent le pic de leur activité de jeu à un âge plus jeune que les rats, et ce pic dure moins de jours (Whishaw et al. 2001). Le comportement de jeu commence à baisser significativement autour de P45 chez la souris et plus tardivement chez le rat autour de P58 (Spear & Brake 1983; Panksepp 1981). Le répertoire des comportements de jeu des souris est également moins complexe que celui des rats (Wolff., 1981 ; Hole et Einon., 1984 ; Pellis et Pasztor., 1997 et 1999). Toutefois, ce répertoire reste très similaire et les deux espèces présentent une augmentation de l'activité locomotrice liée au jeu durant le stade juvénile et l'adolescence.

Après la puberté, le comportement de jeux diminue jusqu'à disparaître ; les rongeurs commencent alors à présenter des comportements sexuels et des comportements agressifs. Ces derniers sont moins fréquents que les comportements de jeu (Panksepp 1981), et semblent moins indispensables au développement du cerveau que les interactions sociales aux stades juvénile et adolescent (Cilia et al. 2001; Meaney et al. 2002; Wolffgramm 1990; Wright et al. 1991). Toutefois, comme chez beaucoup de mammifères, les rongeurs adultes continuent à utiliser les informations sociales pour apprendre en observant leurs conspécifiques. Cet apprentissage social est important pour la survie de l'espèce.

## 2. La période critique pour l'isolement social

Priver les animaux des interactions sociales conduit à des profonds déficits comportementaux dont la sévérité dépend du stade développemental durant lequel l'isolement social est initié. Les études qui ont examiné l'effet de l'isolement social à différentes période de vie ont utilisé principalement des modèles rongeurs (Blanc et al. 1980; Einon & Morgan 1977; Valzelli 1973). Les résultats de ces études sont étonnamment divergents, allant des effets graves et irréversibles de la séparation maternelle à la naissance, à des effets plus modérés et moins permanents de l'isolement pendant l'âge adulte (Cilia et al. 2001; Meaney et al. 2002; Wolffgramm 1990; Wright et al. 1991).

Einon et Morgan (1977) ont été les premiers à décrire une période critique au cours de laquelle l'isolement social chez le rongeur est particulièrement néfaste. Elle commence dans la période post-sevrage précoce, P20-25, et dure jusqu'à P45-50. Dans ces expériences, Einon et Morgan ont démontré que l'isolement pendant cette période de temps conduit à une augmentation de l'exploration des objets, alors que l'isolement de P16 à 25 ou à partir de P45 n'affecte pas ce paramètre comportemental (Einon & Morgan 1977).

La majorité des premières études sur le sujet se sont focalisées sur le comportement agressif des rongeurs isolés. Valzelli a été le premier à décrire un « syndrome d'isolement » plus global qui comprenait des déficits cognitifs, comportementaux, neurochimiques et neurobiologiques (Valzelli 1973). Dans les décennies suivantes plusieurs groupes ont reproduit et étendu ses résultats. Ces études ont confirmé que l'isolement pendant le stade juvénile et l'adolescence, mais pas pendant l'âge adulte, conduit à des dysfonctionnements comportementaux irréversibles par la resocialisation (Arakawa 2003; Ferdman et al. 2007; K C F Fone & Porkess 2008; Paulus et al. 1998; Varty & Geyer 1998; Wilkinson et al. 1994; Pascual et al. 2006; Schenk et al. 1990). En effet, le répertoire complet de déficits comportementaux associé à l'isolement social des rongeurs n'est généré que si cette intervention commence entre P20 et P30 (Robbins et al. 1996).

La procédure d'isolement social adoptée par la plupart des laboratoires consiste à élever des rongeurs dans des cages individuelles à partir du premier jour du sevrage, P21 généralement, et pour une durée allant de quelques semaines à quelques mois (K C F Fone & Porkess 2008). Outre la période durant laquelle l'isolement a eu lieu, d'autres paramètres doivent être pris en compte dans ce protocole. L'enrichissement d'environnement dans la cage, par exemple, peut influencer les effets de l'isolement social (Weiss et al., 1999), alors que le style de la cage semble être sans importance (Kwak et al. 2009; Einon & Morgan 1977). De plus, les rongeurs isolés ne doivent pas être manipulés plus d'une fois par semaine (pour changer la litière). Il est clair que toute forme de manipulation excessive par l'expérimentateur (comme une injection

quotidienne de drogue) ou de contact avec un congénère, peut aisément annuler les effets à long terme de l'isolement social (K C F Fone & Porkess 2008).

Dans les pages suivantes je vais décrire les principales altérations neurobiologiques comportementales liées à l'isolement social post-sevrage.

### **3. Les effets de l'isolement social sur le comportement**

Les rongeurs socialement isolés à partir du sevrage présentent des défauts comportementaux durables (Figure 17) qui ressemblent à certains symptômes de la schizophrénie (Powell & Miyakawa 2006; Piotr Ratajczak et al. 2013).

#### **3.1. Neurodéveloppement des troubles comportementaux**

Un ensemble d'observations, notamment le fait que chez les rongeurs isolés les défauts comportementaux apparaissent graduellement durant le développement postnatal suggèrent que l'isolement social post sevrage pourrait être un modèle développemental de schizophrénie (Geyer et al. 1993; K C F Fone & Porkess 2008).

Des défauts comportementaux précoces tels que l'absence de l'habituation aux nouveaux environnements et l'hyperactivité motrice sont générés après seulement deux semaines d'isolements social chez plusieurs lignées de rats et de souris (Einon & Morgan 1977; Heidbreder et al. 2000; Silva-Gómez et al. 2003; Bakshi & Geyer 1999; Domeney & Feldon 1998; Gentsch et al. 1981; Gentsch, Lichtsteiner & Feer 1982; Gentsch, Lichtsteiner, Kraeuchi, et al. 1982; Gentsch et al. 1983; Hughes & Syme 1972; Phillips et al. 1994; Sahakian & Robbins 1977; Syme & Syme 1973). Toutefois, plusieurs études démontrent que les souris C57BL/6J socialement isolés présentent une activité locomotrice similaire aux souris sociabilisées de la même lignée (Pietro Paolo et al. 2008; Varty et al. 2006; Võikar et al. 2005; Gresack et al. 2010).

D'autres changements de comportement tels que la réduction de l'inhibition pré-impulsion du réflexe de sursaut (PPI, ou prepulse inhibition) n'apparaissent qu'après au moins 4 semaines d'isolement (Geyer et al. 1993; Bakshi & Geyer 1999; Varty et al. 1999; Varty et al. 2006; Cilia et al. 2001; a W. Cassidy et al. 2010; Weiss & Feldon 2001; Sakaue et al. 2003; Cilia et al. 2005; Schubert et al. 2009). Le PPI consiste à mesurer l'influence inhibitrice d'un stimulus sensoriel sonore de faible intensité (la pré-impulsion : 70-85 dB) sur la réaction motrice de sursaut déclenchée par un stimulus ultérieur de forte intensité (l'impulsion : 120 dB). Ce paradigme teste un mécanisme essentiel à l'intégration cognitive et sensorielle : la transmission sélective des informations sensori-motrices, et montre une neurobiologie similaire chez les rongeurs et l'Homme (Geyer et al. 2001; K C F Fone & Porkess 2008). De plus, des déficiences dans le PPI sont souvent rapportés chez les patients atteints de schizophrénie (Braff et al. 2001) et sont sensés refléter une fragmentation cognitive induite par une surcharge sensorielle. D'autres défauts cognitifs similaires aux

symptômes de la schizophrénie, tels que les déficits d'attention n'apparaissent que tardivement, après environ huit semaines d'isolement social.

### **3.2. Altérations des comportements dépendants du PFC**

Au moins deux aspects de l'attention peuvent être étudiés : la sélection attentionnelle et la redirection attentionnelle. Des études utilisant le EDST (Schrijver & Würbel 2001; McLean et al. 2010) ont démontré que l'isolement social chez les rongeurs reproduit les déficits de redirection attentionnelle observés chez des patients schizophrènes (Elliott et al. 1995; Haut et al. 1996; Tyson et al. 2004; Bozikas et al. 2006; Ruiz et al. 2007; Jazbec et al. 2007). De plus, d'autres études ont montré qu'introduire des stimuli de distraction diminue la précision des réponses chez les animaux élevés en groupes sociaux mais pas chez les animaux isolés, ce qui suggère que ces derniers ne sont pas capables de rediriger leur attention (Jones et al., 1991 ; (Schrijver et al. 2004) Parallèlement, des études utilisant le 5-CSRTT ont montré que la précision des réponses des rats isolés n'est pas altérée par rapport aux contrôles, indiquant que l'isolement sociale n'affecte pas la sélection attentionnelle (Dalley et al. 2004).

En plus d'être utilisé pour mesurer la capacité à maintenir une attention visuospatiale soutenue, le 5-CSRTT permet également d'étudier différents aspects des fonctions exécutives tels que le contrôle des comportements compulsifs et impulsifs (Chudasama & Robbins 2004). L'étude de Dalley et collaborateurs a montré que l'isolement social augmente les comportement compulsifs sans affecter l'impulsivité (Dalley et al. 2004). Ces observations confirment les résultats d'anciennes études qui montrent que les rongeurs isolés continuent à exécuter une tâche pour obtenir de la nourriture comme récompense même après la satiété et l'extinction (Einson & Morgan 1977) et suggèrent d'importants défauts dans le PLC, une structure cruciale pour le contrôle des comportements compulsifs (Wiley et al., 1991 ; Chudasama & Robbins 2004). D'autres comportements nécessitant un contrôle cognitif tels que l'agressivité sont également altérés chez les rongeurs socialement isolés ; en effet, ce comportement social est exacerbé par l'isolement social (Valzelli 1973; Tulogdi et al. 2014; Wall et al. 2012). Une agressivité excessive est présente dès deux semaines d'isolement social et la proportion d'animaux agressifs augmente en fonction de la durée de l'isolement (Valzelli 1973; Valzelli & Garattini 1972; Arakawa 2007b; Arakawa 2007a).

### **3.3. Altérations des fonctions mnésiques dépendantes du PFC**

Plusieurs études se sont intéressées à l'effet de l'isolement social sur les phénomènes d'apprentissage et de mémoire. L'ensemble de ces études semblent indiquer que l'isolement social chez les rongeurs n'affecterait pas les apprentissages spatiaux simples ou l'acquisition d'une nouvelle règle (Morgan 1973; Lapid et al. 2003; Schrijver et al. 2004; Li 2007; Jodi L. Lukkes et al. 2009), et semble plutôt altérer les apprentissages (spatiaux ou de discrimination) dans les paradigmes qui nécessitent : un apprentissage inverse (Jones et al.

1991; Li 2007; Schrijver et al. 2004), un apprentissage social par observation (Yusufishaq & Rosenkranz 2013), l'adoption d'une stratégie différente (Schrijver & Würbel 2001; Morgan 1973) ou des tâches basées sur l'extinction (Jones et al. 1991).

L'isolement social affecte également différentes formes de mémoires telles que, la mémoire de peur conditionnée et la mémoire de familiarité (nouvel objet recognition memory). En effet, des études montrent que l'isolement social altère l'aspect contextuel de la mémoire de peur conditionnée sans affecter la mémoire de l'association entre le signal sonore (le stimulus conditionné) et le choc électrique (le stimulus inconditionné) (Weiss et al. 2004; Gresack et al. 2011; Jodi L Lukkes et al. 2009). Pour tester la mémoire de familiarité (ou de nouveauté) les chercheurs utilisent un paradigme qui évalue la capacité de l'animal à discriminer entre un objet familier et un nouvel objet présentés dans le même contexte (Ennaceur & Delacour 1988). Dans la première session de ce paradigme, l'animal doit explorer deux objets identiques (A). Dans la session test, qui se déroule après un certain délai, l'un des deux objets familiers (A) est remplacé par un nouvel objet (B) placés au même endroit. Les rongeurs tendent à plus explorer le nouvel objet (B) et la différence dans le temps d'exploration des deux objets dans la dernière phase est une mesure de la mémoire de familiarité. Des études montrent que l'isolement social n'altère cette forme de mémoire de reconnaissance que si le délai entre les deux sessions est supérieur à deux heures, suggérant ainsi une implication du PFC (Bianchi et al. 2006; King et al. 2009; McLean et al. 2010; Marsden et al. 2011).

Des altérations similaires sont observés chez des patients atteints de schizophrénie (Nestor et al. 2007; Jazbec et al. 2007; McClure et al. 2007).

### **3.4. Effets sur les comportements liés à un état dépressif et anxieux**

Etant donné qu'un comportement de retrait social est associé à l'étiologie de la dépression chez l'Homme, plusieurs groupes ont cherché à savoir si l'isolement social chez les rongeurs conduit au développement de comportements de résignation. L'un des moyens les plus couramment utilisé pour détecter ces comportements de type dépressif (depressive-like) et le test de nage forcée de Porsolt. Dans ce paradigme, les comportements de type dépressifs sont reflétés par une diminution du temps de latence à l'immobilité et une augmentation du temps passé immobile (Porsolt et al. 1977). Les résultats de plusieurs études sont en défaveurs de la présence de comportements de type dépressifs chez les rongeurs socialement isolés (Hilakivi et al. 1989; Hall 1998; Hall et al. 2000). Une autre étude montre que l'isolement social post-sevrage augmente l'anxiété chez les souris sans affecter les comportements de types dépressifs (Kwak et al. 2009).

L'augmentation des comportements de types anxieux chez les rongeurs isolés à partir du sevrage a également été observée par de nombreuses autres études utilisant le labyrinthe en croix surélevée, le test de l'escalier (dans lequel le nombre de marches escaladées augmente en fonction de l'anxiété de l'animal), des mesures de la consommation d'un nouvel aliment ou le temps de latence pour s'évader d'une cage ouverte (qui diminuent en fonction de l'anxiété) (Parker & Morinan 1986 ; Wright et al. 1991 ; Bickerdike et al. 1993; Hellemans et al. 2004 ; Bledsoe et al. 2011; Lukkes et al. 2012). L'isolement social durant les stades juvéniles et adolescents est donc anxiogénique.

Ces observations ont amené des chercheurs à proposer l'isolement social post-sevrage chez les rongeurs comme un modèle de stress chronique (Hall 1998; Serra et al. 2007; Lukkes et al. 2009). Il faut savoir que le stress met en jeu l'axe HPA dont l'action dépend des hormones glucocorticoïdes (cortisol chez les humains et la plupart des mammifères, et corticostérone chez les rongeurs) qu'il libère dans la circulation sanguine (Antoni 1986). Le stress aigu active l'axe HPA ; toutefois, dans le cas d'un stress chronique, l'exposition répétée à un facteur de stress homotypique induit une habitude ou une diminution des réponses de l'axe HPA à l'agent stressant en question (Pitman et al. 1988; Gadek-Michalska & Bugajski 2003), mais potentialise la réponse aux nouveaux stressors (Herman & Cullinan 1997; Herman et al. 2003). Même s'il existe des contradictions concernant l'effet de l'isolement social post-sevrage sur les niveaux basaux de glucocorticoïdes chez les rongeurs, la majorité des études indiquent que ce stress chronique augmente la réactivité de l'axe HPA aux nouveaux facteurs de stress aigus (Einon & Morgan 1977 ; Akana et al. 1992; Hall 1998; Serra et al. 2007; Norman et al. 2010 ; Hawkley et al. 2012). Je reviendrai sur ces études contradictoires dans la discussion.

De façon intéressante, des résultats similaires sont observés chez les humains et chez une grande variété de mammifères. Par exemple, il a été montré que l'isolement social affecte les taux de cortisol chez les ovins, les bovins et les primates non-humains (Rushen et al. 1999; Parrott et al. 1988; Cross et al. 2004 ; Smith & French 1997; Higley et al. 1992; Sapolsky et al. 1997; Lyons et al. 1995; Lyons et al. 1999). De plus, l'isolement social exacerbe l'augmentation des niveaux de cortisol après un stress aigu chez les grands mammifères domestiques tels que les porcs et les bovins (Creel & Albright 1988; Kanitz et al. 2009). Chez les humains, les individus socialement inactifs ou qui ont peu de personnes proches dans leur réseau social présentent des altérations des taux de cortisol (Pressman et al. 2005; Steptoe et al. 2004; Grant et al. 2009; Arnetz et al. 1983; Cacioppo et al. 2000; Doane & Adam 2010; Adam et al. 2006). De plus, une étude récente a démontré qu'après un stress psychologique aigu, des patients schizophrènes ont présenté une plus grande élévation des niveaux de cortisol salivaires par rapport aux contrôles (Nugent et al. 2015).

Behaviour	Consequence of isolation rearing
Body weight	Males may be slightly heavier (Fiala et al., 1977) but most groups find little change and equal food consumption to social housed rats (Hellemans et al., 2004) Increased food hoarding behaviour (Heidbreder et al., 2000)
Exploratory behaviour	Hyper-reactivity to a novel environment (Gentsch et al., 1988, 1982a,b; Sahakian et al., 1977; Varty et al., 2000), decreased in SI mice (Valzelli et al., 1974)
Prepulse inhibition of acoustic startle	Impairment in PPI without change in control startle amplitude, reversed by antipsychotic treatment (Bakshi et al., 1998; Cilia et al., 2001; Day-Wilson et al., 2006; Varty et al., 2000) but not iloperidone (Barr et al., 2006) Neurotoxic DA depletion in the nucleus accumbens reduces the isolation-induced PPI deficit (Powell et al., 2003) Isolation-induced PPI deficits reversed by $\alpha 7$ nicotinic agonist (Cilia et al., 2005a,b) and 5-HT <sub>2A</sub> antagonist (Geyer et al., 1999)
Latent inhibition	No effects (Weiss et al., 2001a,b; Wilkinson et al., 1994)
Anhedonia	Increased sucrose consumption (increased motivation) (Hall et al., 1997a,b,c) Hyperphagia (Shelley, 1965) Increased reward sensitivity (Jones et al., 1990) Increased anticipatory behaviour (Morgan et al., 1975) Increased self-administration with low but impaired acquisition with high doses of cocaine (Howes et al., 2000) Increased ethanol preference in mice (Advani et al., 2007) and Long-Evans rats (Deehan et al., 2007)
Social interaction	Increased interactions and aggression, decreased by diazepam (Wongwitdecha and Marsden, 1996b) Progressive increase in muricidal behaviour in isolation-reared rats (Valzelli and Garattin, 1972) Increase in defensive burying of a shock probe (Arakawa, 2007) SI mice-increased aggression (Valzelli, 1973)
Pain	Hypoalgesia (Gentsch et al., 1988) No changes (Hellemans et al., 2004) Increased oral response to tail pinch (Sahakian and Robbins, 1977)
Passive avoidance	SI mice-deficits (reduced avoidance latency) (Valzelli, 1973) Rats-deficit (Del Arco et al., 2004) Fear conditioning reduced in male and female isolates (Weiss et al., 2004)
Visual learning and memory Attention/vigilance	Impaired novel object discrimination (Bianchi et al., 2006) No impairments seen in five choice serial reaction time (Dalley et al., 2002)
Spatial learning	Water maze- improvements (Wongwitdecha and Marsden, 1996a) No change (Schrijver et al., 2004) Impairments (Hellemans et al., 2004; Lu et al., 2003a,b)
Reasoning and problem solving (attentional set shifting)	Extradimensional shift impairment in spatial/non-spatial ID-ED task (Schrijver and Wurbel, 2001) Reversal impairment, but no ED impairment in bowl-digging (Schrijver et al., 2004) Impairments in reversal learning (Krech et al., 1962) Improved Morris water maze reversal performance (Wongwitdecha and Marsden, 1996a) Clozapine reversal of impaired learning of a visual discrimination stimulus-reward contingency rule change (Li et al., 2007)
Conditioned place preference	No aversion to saline and no preference for amphetamine treated area (Wongwitdecha and Marsden, 1995)
Anxiety	Anxiogenic on elevated plus-maze (Parker and Morinan, 1986; Weiss et al., 2004; Wright et al., 1991a,b) Hypo-neophagia (Parker and Morinan, 1986), reduced cage escape latency (Parker and Morinan, 1986)
Depression	Little change in immobility or struggling time in the Porsolt forced swim test in mice (Hilakivi et al., 1989) or rats (Hall et al., 1998a, 2001) Desipramine more effective in isolates (Wongwitdecha et al., 2006)

Figure 17 : Résumé des changements à long terme du phénotype comportemental associés à l'isolement social post-sevrage chez les rongeurs. D'après Fone et Porkess 2008.

#### 4. Effets neurobiologiques de l'isolement social

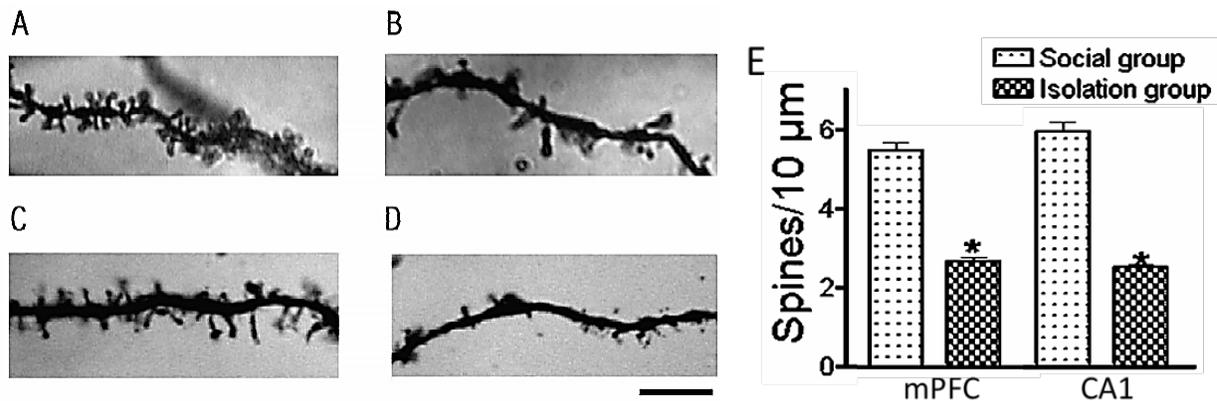
Un grand nombre des changements neurobiologiques dans le cerveau de rongeurs élevés en isolement sont similaires à ceux observées chez des patients schizophrènes. Par exemple, les rongeurs socialement isolés à partir du sevrage durant sept à huit semaines présentent une réduction de l'épaisseur corticale (Hellemans et al. 2004) et une baisse du volume du PFC (Day-Wilson et al. 2006; Schubert et al. 2009) et sa myélination

(Makinodan et al. 2012) similaires à celles observée chez des patients schizophrènes (Schultz et al. 2010; Nesvåg et al. 2008; Kuperberg et al. 2003 ; Harrison 2004; Hirayasu et al. 2001 ; Insel 2010).

Dans plusieurs études, l'isolement social post-sevrage a lieu durant la période critique pour la maturation du circuit du PFC et la finalisation des inputs glutamatergiques, GABAergiques et dopaminergiques en provenance de l'hippocampe, de l'amygdale et de la VTA. Cette période est, de ce fait, caractérisée par d'intenses remodelages synaptiques accompagnés par des changements importants dans les propriétés morpho-fonctionnelles des synapses.

#### 4.1. Effets sur les propriétés morpho-fonctionnelles et neurochimiques des synapses

Des études ont montré qu'un isolement social post-sevrage de huit semaines cause une diminution de la densité et de la longueur des épines dendritiques dans le PFC et l'hippocampe de rats (Figure 18) (Comery et al. 1995; Comery et al. 1996; Silva-Gómez et al. 2003; Pascual & Zamora-León 2007). En fait, dans des conditions normales, les rats sociabilisés présentent une augmentation du nombre de synapses dans le PFC entre P60 et P80, le déficit en nombre de synapses observé à P80 chez les animaux élevés en isolement social découlerait probablement d'une altération de la formation des synapses (Murphy et al. 2010).



**Figure 18 : Effet de l'isolement sociale post-sevrage sur la densité des épines dendritiques chez le rat.**

Marquage Golgi-Cox montrant les épines dendritiques de neurones pyramidaux du mPFC (A, C) et de l'hippocampe (B, D) chez les animaux contrôles (A, B) et isolés (C, D). Calibration : 5μm.

(E) La moyenne de la densité des épines dendritiques est significativement réduite dans ces deux structures chez les rats socialement isolés. Adapté de Silva-Gomez et al., 2003.

Les mécanismes qui sous-tendent cette baisse du nombre de synapses restent à établir ; cependant, il est intéressant de noter que ce déficit survient après une période de forte transcription génique durant laquelle sont synthétisées des protéines nécessaires à l'élaboration et/ou le remodelage synaptiques (Murphy et al. 2010). Ainsi, ces défauts morphologiques sont accompagnés d'importantes altérations dans la neurochimie des synapses.

Des études ont montré que deux semaines d'isolement social post-sevrage induisent une diminution de l'expression des gènes codant pour des protéines présynaptiques impliquées dans la libération de neurotransmetteurs telles que : la synaptophysine, la synapsine 2, la synaptotagmine 1, la syntaxine 1, la complexine 1 et le Nsf. A partir de cinq semaines d'isolement, ces gènes sont (Hermes et al. 2011; Murphy et al. 2010). En plus, de ces études réalisées sur le PFC, une étude a montré que les niveaux de synaptophysine sont réduits dans l'hippocampe après huit semaines d'isolement (Varty et al. 1999). L'isolement social post-sevrage commence à altérer l'expression des protéines présente dans les postsynapses glutamatergiques entre P60 et P80. Effectivement durant cette période, l'expression de PSD-95, PSD-93, Robo1 et MAGUK est diminuée dans le PFC de rongeurs isolés (Hermes et al. 2011 ; Murphy et al. 2010). D'autres travaux se sont intéressés à l'impact de l'isolement sur l'expression des récepteurs aux neurotransmetteurs.

La majorité des études s'intéressant l'effet de l'isolement social sur l'expression des récepteurs au glutamate de type AMPA, décrivent une baisse de l'expression des sous unités GluR1 et GluR2 dans le PFC et l'hippocampe, mais pas dans le cortex enthorinal et l'amygdale (Sestito et al. 2010; Murphy et al. 2010; Hermes et al. 2011). D'autres études montrent toutefois, l'effet inverse. Des rongeurs socialement isolés pendant six semaines présentent une augmentation de l'expression des sous-unités GluR1, GluR2 et GluR3 dans le PFC, mais pas dans l'hippocampe et le Nacc (Levine et al. 2007; Araki et al. 2014). Les résultats concernant les effets de l'isolement social sur l'expression des récepteurs au glutamate de types NMDA et de leurs sous unités sont eux aussi, très contradictoires (Cardinal et al. 2002; Turnock-Jones et al. 2009; Zhao et al. 2009; Toua et al. 2010). L'expression des récepteurs métabotropiques aux glutamates est aussi altérée par l'isolement social. En effet, des études ont montré une diminution de l'expression des récepteurs mGluR1 et mGluR5, et une augmentation de l'expression des récepteurs mGluR6 dans le mPFC mais pas dans le striatum (Melendez et al. 2004; Levine et al. 2007).

Il semblerait qu'à partir de P40, l'expression des récepteurs au GABA de type A et B est diminuée dans le PFC de rongeurs ayant subi un isolement social post-sevrage. Le nombre de neurones GABAergiques est également diminué dans le PFC après huit semaines d'isolement. D'autres études décrivent une augmentation de l'expression de GAD67 et des sous unités  $\alpha$  et  $\gamma$  des récepteurs au GABA dans l'amygdale et l'hippocampe respectivement (Serra et al. 2007; Bloomfield et al. 2008; Murphy et al. 2010; Pisu et al. 2011; Gilabert-Juan et al. 2012).

Ainsi, l'isolement social altère le nombre, la morphologie et la neurochimie des synapses. Malgré ces résultats encourageant, très peu d'études ont examiné l'effet de l'isolement social post-sevrage sur l'électrophysiologie des synapses glutamatergiques et GABAergiques. Quelques études démontre, toutefois,

que l'isolement social altère une forme de plasticité synaptique, la potentialisation à long terme (ou LTP), dans l'hippocampe et dans le noyau du lit de la strie terminale (BNST), une région impliquée dans la réponse au stress et l'anxiété (Lu et al. 2003; Roberts & Greene 2003; Conrad & Winder 2011; Talani et al. 2011; Kamal et al. 2014). Il semblerait que l'abolition de la LTP dans l'hippocampe soit corrélée à une réduction de l'excitabilité synaptique et membranaire (Greene 2001; Sanna et al. 2011; Talani et al. 2011). Je reviendrai sur ces résultats dans la discussion.

L'ensemble de ces défauts morphologique et neurochimiques reproduit les altérations observées dans les tissus cérébraux post-mortem de patients schizophrènes (Harrison et al. 1991; Eastwood et al. 1995; Eastwood et al. 1997; Sokolov 1998; Newcomer et al. 1999; Meador-Woodruff & Healy 2000; Sokolov et al. 2000; Harrison & Weinberger 2005; Ross et al. 2006; Saviouk et al. 2007).

#### **4.2. Effets de l'isolement social sur la neuromodulation**

Il actuellement admit que la neuromodulation conférée, entre autre, par les systèmes dopaminergiques, sérotoninergiques et noradrénergiques, est gravement altérée dans les maladies psychiatriques. Ces systèmes de neuromodulation sont également la principale cible des antipsychotiques, antidépresseurs et anxiolytiques couramment utilisés comme traitements en psychiatrie (Temel et al. 2012). Plusieurs études réalisées chez les rongeurs démontrent que l'isolement social post-sevrage altère les circuits cérébraux de neuromodulation (K C F Fone & Porkess 2008).

Des travaux ont montré que l'isolement social induit une baisse des niveaux de dopamine dans l'amygdale et le Nacc, mais pas dans le PFC (Eells et al. 2006; Murphy et al. 2010). De plus, l'isolement social post-sevrage augmente le renouvellement (ou turnover) de la dopamine dans l'amygdale (Heidbreder et al. 2000) et le Nacc (Hall 1998) et le diminue dans le mPFC (Heidbreder et al. 2000). L'expression des récepteurs à la dopamine de type D1 est réduite dans le mPFC (Toua et al., 2010) ; alors que l'expression et les fonctions des récepteurs D2, sont diminuées dans le striatum, mais ne semblent pas être altérées dans le PFC, l'hippocampe et l'amygdale de rongeurs socialement isolés (Hall 1998; Del Arco et al. 2004; Malone et al. 2008). Une étude d'électrophysiologie in vivo a également montré une élévation du nombre de neurones dopaminergiques activés spontanément dans la VTA chez les rats socialement isolés (Fabricius et al. 2010). L'ensemble de ces études suggère donc une hyperactivité dopaminergique dans le Nacc et l'amygdale et une hypofonction de la dopamine dans la PFC des rongeurs élevés en isolement.

La sérotonine (ou 5HT) est également affectée de manière spécifique dans les différentes régions cérébrales. En effet, même si les niveaux de sérotonine ne sont pas modifiés dans le PFC et le Nacc (Brenes et al. 2008), l'isolement social diminue le turnover de la sérotonine dans le Nacc (Heidbreder et al., 2000), mais

pas dans le PFC et le noyau caudé du putamen. D'autres études semblent indiquer une diminution de la fonction sérotoninergique présynaptique dans le Nacc et l'hippocampe (Muchimapura et al. 2002 et 2003; Fone et Porkess 2008). L'isolement social altère également la fixation de la sérotonine à ses récepteurs. Des études ont observé une augmentation de la fixation de la sérotonine aux récepteurs 5HT2aR dans le PLC, l'ACC et le cortex moteur, alors que la fixation aux 5HT1aR est réduite dans le PLC et augmentée dans le cortex moteur, la cortex somatosensoriel, l'hippocampe et le noyau du raphé dorsal (Preece et al. 2004; Advani et al. 2007; Marsden et al. 2011).

Quelques études ont observé des défauts dans les niveaux et les fonctions de la noradrénaline. Les niveaux de noradrénaline dans le Nacc sont diminués après 12 semaines d'isolement social post-sevrage (Brenes et al. 2008) alors que des mesures réalisées après 6 semaines d'isolement ne détectent aucun effet (Karkhanis et al. 2014). Les concentrations de noradrénaline dans le PFC ne sont pas affectées, même après 12 semaines d'isolement social (Brenes et al. 2008). Par ailleurs, l'isolement social induit une augmentation du turnover de la noradrénaline dans le cortex, le cervelet et l'hippocampe (Miachon et al. 1993) et une hyperfonction des adrénorécepteurs- $\alpha_2$  présynaptiques dans l'hippocampe (Fulford & Marsden 1997).

A ma connaissance, aucune autre étude ne s'est intéressée aux effets de l'isolement social post-sevrage sur les autres neuromodulateurs.

## **5. Dérégulation de l'expression de gènes liés aux maladies psychiatriques**

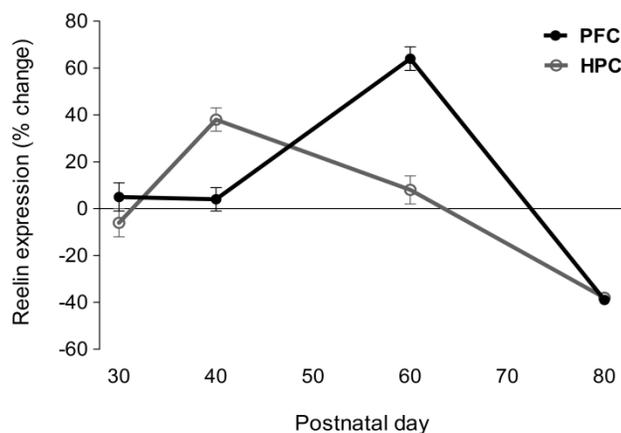
Certains des défauts dus à l'isolement social post-sevrage surviennent très tôt après son initiation, alors que d'autres n'apparaissent qu'après plusieurs semaines d'isolement (Fone et Porkess 2008). Ceci est corrélé à une dérégulation de l'expression de certains gènes. Parmi les premiers gènes à être altérés par l'isolement social post-sevrage chez les rongeurs, on retrouve le cluster des gènes précoces immédiats (ou IEG, pour *immediate early genes*) et le cluster des gènes impliqués dans la signalisation des interférons (Murphy et al. 2010) ; d'autres gènes tels que la reelin ne sont altérés que plus tardivement (a W. Cassidy et al. 2010).

Les IEGs sont une famille de facteurs de transcription impliqués dans la cascade initiale d'expression génique déclenchée par l'activité synaptique excitatrice (Herdegen & Leah 1998; Andreasson & Kaufmann 2002). La famille des IEGs inclue des gènes tels que Fos, Homer1 et Erg1,2 et 4. L'expression d'une grande partie de ces gènes est diminuée dans le mPFC et l'hippocampe dès les premiers jours d'isolement. Les niveaux d'expression de ces gènes continuent à être bas par rapport aux contrôle jusqu'au stade adulte (Ibi et al. 2008; Murphy et al. 2010; Levine et al. 2007). Une hypoactivité de gènes IEG, notamment Egr1 et Egr2 est retrouvée dans le PFC dorsolatéral de patients schizophrènes (Yamada et al. 2007).

Le cluster des gènes impliqués dans la signalisation de l'interféron regroupe des gènes comme Ifit2, Ifi44, Irf7, G1p2, Mx1 et Mx2. Dans la séquence de maturation postnatale du mPFC, ces gènes présentent un pic

d'expression entre P30 et P40 puis revient au niveau de base à P60. Ce pic d'expression est absent chez les rongeurs isolés. De plus, l'expression de ces gènes est augmenté à P80 chez les rongeurs isolés par rapport aux contrôles (Murphy et al. 2010). Une augmentation de l'expression de gènes impliqués dans la signalisation de l'interféron est également observée dans le mPFC de patients schizophrènes (Arion et al. 2007). En fait, la plupart des facteurs de risques environnementaux à la schizophrénie sont associés à une augmentation de la signalisation de l'interféron. Ces facteurs comprennent l'infection virale prénatale, le stress psychologique, les traumatismes et l'hypoxie (Hayley et al. 2005; Schinkel 2003; Matthiesen et al. 2005).

La reelin est une protéine de la matrice extracellulaire qui entoure les dendrites, les épines dendritiques et les boutons axonaux (D'Arcangelo et al. 1995; Alcántara et al. 1998a; Pappas et al. 2002; Tissir et Goffinet 2003). Elle joue un rôle important dans la régulation des réarrangements synaptiques, de la plasticité neuronale et de la mémoire à long terme (Borrell et al. 1999; Weeber et al. 2002; Dong et al. 2003; Niu et al. 2004; Beffert et al. 2005; Krueger et al. 2006; G. C. Campo et al. 2009; Rogers et al. 2011; Gorc et al., 2007; Bogoch et al., 2008). Dans deux études parues en 2010, Cassidy et collaborateurs ont examiné les niveaux de reelin chez des rats ayant subi un isolement social post-sevrage (Figure 19). Les auteurs ont suivi l'évolution des taux de reelin tout au long de la période d'isolement dans deux structures cérébrales : le PFC et l'hippocampe (Cassidy et al. 2010a; Cassidy et al. 2010b). Leurs résultats indiquent, qu'à P30, les niveaux de reelin sont normaux dans les deux structures. L'isolement social augmente l'expression de la reelin dans l'hippocampe à P40. Cette augmentation ne survient qu'à P60 dans le PFC. Après cette phase d'augmentation, les taux de reelin chez les rats isolés diminuent dans les deux structures et finissent par présenter des niveaux significativement plus bas par rapport aux contrôles à P80. Une diminution significative des niveaux de reelin dans des régions cérébrales telles que l'hippocampe et le PFC est observée chez des patients atteints de schizophrénie (Guidotti et al. 2000; Costa et al. 2001; Grayson et al. 2006) suggérant une implication de la reelin dans l'émergence développementale des déficits cognitifs liés à cette maladie psychiatrique (Torrey et al. 2005; Guidotti et al. 2005).



**Figure 19 : Cinétique des taux de reelin durant la période d'isolement social post-sevrage dans le PFC et l'hippocampe (HPC).** Chaque point représente les taux de reelin chez les rats socialement isolés normalisés par les valeurs des contrôles élevés en groupes sociaux.

## 6. Conclusion

L'ensemble de ces données bibliographiques présentées dans ce chapitre, indiquent les effets pléiotropes (Figure 20) de l'isolement social lorsqu'il est initié durant les stades juvéniles et adolescents et démontrent la nécessité des interactions sociales durant cette période de vie au développement des fonctions mnésiques et cognitives, notamment celles dépendantes du PFC.

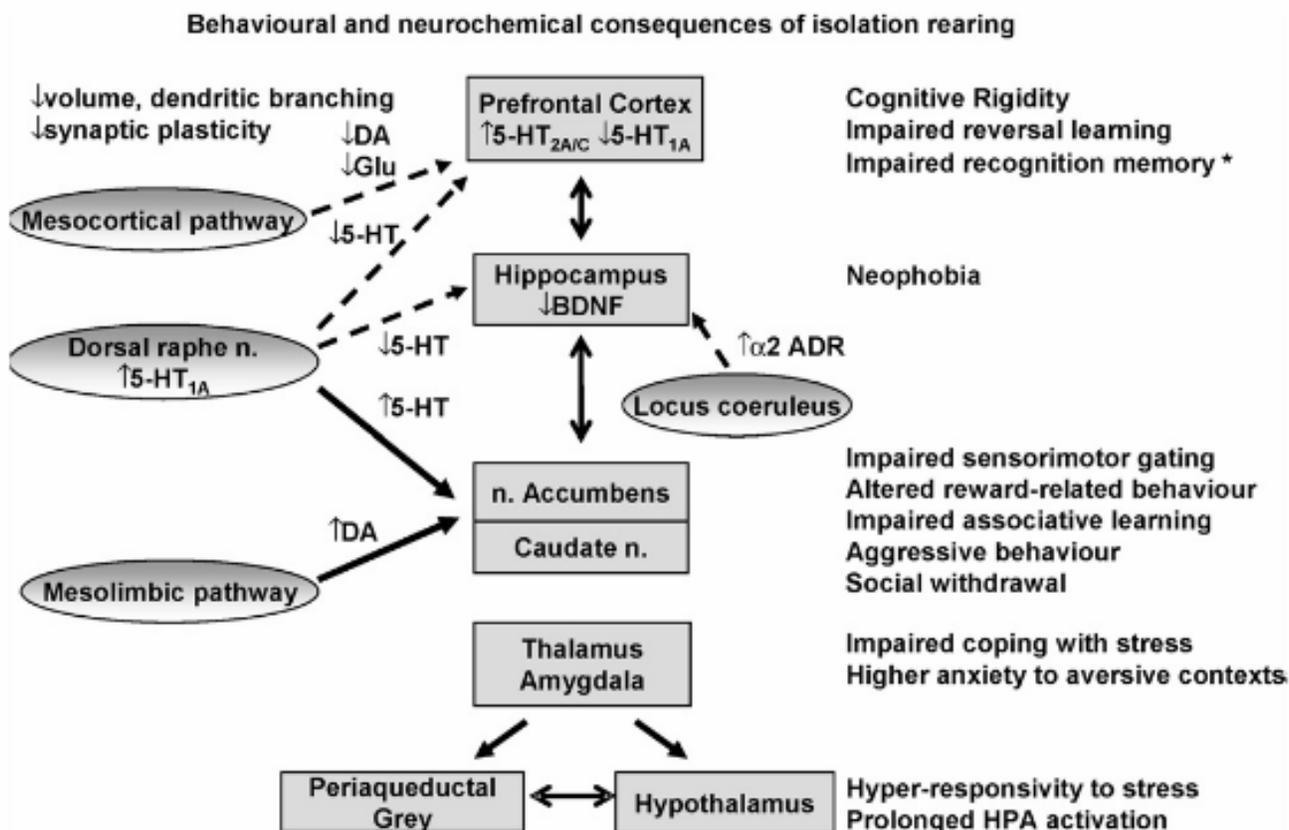


Figure 20 : Représentation schématiques des altérations comportementales et neurochimiques les plus observées chez les rats après une durée d'isolement social post-sevrage d'au moins six semaines. Les flèches continues indiquent une augmentation et les flèches pointillées indiquent une diminution de la fonction des molécules suivantes : Glu, glutamate ; DA, dopamine ; 5-HT, sérotonine ; ADR, α<sub>2</sub> adrénorécepteur ; BDNF : brain derived neurotrophic factor. D'après Fone et Porkess., 2008.

Comme mentionné dans le chapitre précédent, le stade juvénile et l'adolescence sont une période critique de la maturation postnatal du PFC. L'ensemble des données présentées dans ces deux chapitres suggèrent également une forte interaction bidirectionnelle et dynamique entre PFC et environnement social. En effet, d'un côté, le PFC exerce un contrôle top-down sur les interactions sociales, d'un autre côté, la quantité et la qualité des interactions sociales influencent la neurochimie des synapses du PFC et de ce fait affectent les fonctions mnésiques et cognitives dans lesquelles cette région cérébrale est impliquée.

Toutefois, les mécanismes qui sous-tendent les effets de l'environnement social sur le fonctionnement du PFC demeurent inconnus. De plus, même si plusieurs études indiquent que l'isolement social induit des altérations de la neurochimie et la morphologie des synapses, il n'a jamais été clairement démontré que l'isolement social perturbe la transmission et la plasticité synaptiques dans le PFC.

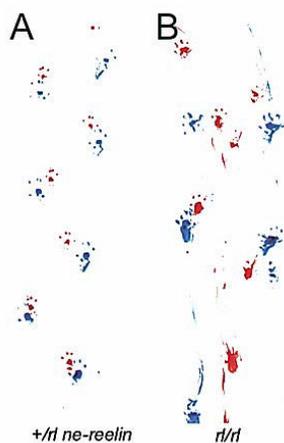
De manière intéressante, l'isolement social affecte une protéine majeure molécules de la matrice extracellulaire, la reelin. Des études indiquent un rôle important de la reelin dans la régulation des réarrangements synaptiques, de la plasticité neuronale et de la mémoire à long terme. Ces données nous ont amené à nous poser la question du rôle de la reelin dans la modulation de la physiologie synaptique dans le PFC. Dans les prochaines pages je vais présenter une revue de l'état actuel des connaissances sur les fonctions physiologiques et des implications pathologiques de la reelin.

### III. REELIN

Depuis l'apparition de la souris mutante reeler, de nombreuses études ont permis de d'isoler le gène et la protéine reelin, de découvrir les fonctions de la protéine dans les conditions physiologique et son implication dans différentes maladies psychiatriques et neuro-développementales telles que la schizophrénie, l'autisme et la dépression.

#### 1. Le mutant reeler : l'histoire d'une découverte

Au printemps 1948, une mutation spontanée apparaît dans une portée de souris issues d'une souche consanguine de l'institut de génétique animale d'Edimbourg. Ces animaux montraient défaut locomoteur identique à une ataxie cérébelleuse. Cette caractéristique qui se traduit par une démarche titubante (Figure 21) est à l'origine du nom de ces mutants reeler (de l'anglais *to reel* = tituber). Cette altération motrice est aussi accompagnée de troubles majeurs tels qu'un retard de croissance. D'autres traits comportementaux plus subtils ont été rapportés tels qu'un isolement social, une diminution de la perception sensorielle, ainsi que des crises de tremblement en présence d'un facteur stressant (Falconer 1945). Ce phénotype présentant de toute évidence des troubles neurologiques fut décrit pour la première fois par Douglas Scott Falconer en 1951 et confirmé ultérieurement par l'observation d'autres mutants reeler et mutants associés.



**Figure 21 : Défaut locomoteur chez les souris reeler.**

(A) Les empreintes des souris sauvages montrent des pas réguliers avec le chevauchement des pattes avant (rouge) et arrière (bleu), ainsi qu'une démarche rectiligne. (B) Chez les souris reeler, les empreintes des pattes avant et arrière ne se chevauchent pas, ce qui indique un glissement plutôt qu'un positionnement précis, ainsi qu'une incapacité de maintenir une stature correcte durant la marche. D'après Magdaleno et al. 2002.

Après croisement de ces animaux, la sélection génétique permis de déterminer qu'une mutation récessive autosomique était à l'origine du phénotype transmis de manière mendélienne (Falconer 1951). En effet, seuls les animaux homozygotes pour le gène muté présentent cette démarche, les souris hétérozygotes ne présentent pas de différence phénotypique majeure par rapport aux animaux sauvages. La mutation de la lignée reeler originale est référencée  $rl^J$  ou  $rl^{ed}$  du fait de ses lieux d'origine et de stockage (Jackson Laboratory ou Edinbourg). Un autre allèle naturel,  $rl^{orl}$ , a été décrit à Orléans, en 1969 par Guenet lors d'une

communication non publiée (Goffinet 1992). Par la suite d'autres allèles reeler ont aussi été découverts (Figure 22) :

- en 1992, deux allèles,  $rl^{Alb1}$  et  $rl^{Alb2}$ , ont été générés à Albany (New York) par mutagenèse induite par le chlorambucil (Flaherty et al. 1992; Royaux et al. 1997).
- une nouvelle mutation spontanée du gène a eu lieu dans le laboratoire Jackson aux Etats-Unis en 1993.
- un nouvel allèle reeler, référencé  $rl^{lg}$ , a été produit à l'institut Roche de Biologie Moléculaire (Nutley, New Jersey) par insertion d'un transgène dans le locus  $rl$ , empêchant la synthèse de la protéine correspondante (Miao et al. 1994).
- enfin, en 2002, un dernier allèle reeler présentant une délétion intragénique, fut mis en évidence à Odense, Danemark, et nommé  $rl^{od}$  (Andersen et al. 2002).

En dehors de quelques variations attribuables aux différents fonds génétiques porteurs de ces mutations, le phénotype de tous ces mutants est identique. Cependant les bases moléculaires à l'origine du phénotype restaient inconnues.

Origin	Symbol	<i>reelin</i> gene mutation	mRNA mutation	Protein mutation
Edinburgh (Jackson 2J)	<i>rl</i>	Spontaneous ~8-kb 3' cDNA deletion ~150-kb genomic deletion	Predicted truncation, but no expression	No expression
Orleans	<i>rl<sup>ort</sup></i>	Spontaneous L1 insertion near 3'	220-bp exon skipping and frameshift	C-terminal truncation
Transgene	<i>rl<sup>lg</sup></i>	<i>supfos</i> transgene insertion intragenic 7- to 10-kb cDNA deletion	No expression	No expression
Albany1	<i>rl<sup>Alb1</sup></i>	Chlorambucil-induced	Unknown	Unknown
Albany2	<i>rl<sup>Alb2</sup></i>	Chlorambucil-induced IAP insertion	85-bp exon skipping and frameshift; reduced expression	Low-level predicted truncated product
Jackson 3J	<i>rl<sup>3J</sup></i>	Spontaneous	Reduced levels; higher-MW transcript	No expression

Figure 22 : Les différents allèles reeler mutés chez la souris. D'après D'Arcangelo et Curran., 1998.

## 2. Le gène reelin et ses régulations

Le gène ne fut cloné que longtemps après la découverte du mutant reeler et l'observation des altérations anatomiques notamment au niveau des structures stratifiées. La découverte du gène reelin et son produit protéique suscitait un grand intérêt pour la compréhension des mécanismes régulant le développement et l'organisation des structures stratifiées.

### 2.1. Clonage et structure

Les études de cartographie génique ont permis de localiser le locus du gène reelin sur la partie proximale du chromosome 5 murin (Goffinet & Dérnoncourt 1991), de déterminer les gènes encadrant le locus (Beckers

et al. 1994) et enfin de cartographier le gène (Bar et al. 1995). Le gène fut cloné en 1995 et le séquençage de la protéine, nommée reelin, permirent de caractériser les différents domaines de la protéine (D'Arcangelo et al. 1995).

Le gène murin codant pour la reelin est situé sur le chromosome 5 et est constitué de 65 exons qui s'étendent sur une région d'approximativement 450 kb (Royaux et al. 1997). Chez l'humain, le gène reelin se situant sur le chromosome 7 et présentant une homologie de 87.2% avec le gène murin, fut cloné en 1997 (DeSilva et al. 1997). Ce gène est conservé dans de nombreuses espèces : mammifères, poissons, oiseaux et reptiles (Bernier et al. 1999; Goffinet et al. 1999; Bernier et al. 2000; Costagli et al. 2002; Tissir & Goffinet 2003).

## **2.2. Régulation transcriptionnelle**

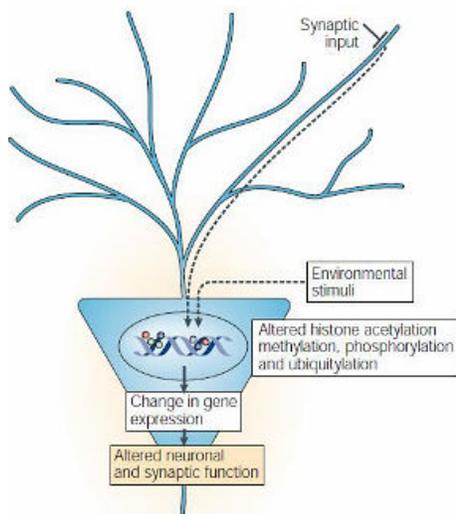
Dans le SNC, l'expression de la reelin est régulée par deux mécanismes de régulation transcriptionnelle mettant en jeu soit des facteurs de transcription soit des régulations épigénétiques.

### **2.2.1. Régulation par des facteurs de transcription**

L'analyse du promoteur du gène reelin chez l'Homme et chez la souris a mis en évidence la présence de plusieurs sites de liaison potentiels pour différents facteurs de transcription. Pourraient se lier au promoteur, des facteurs de transcription impliqués soit dans des processus développementaux comme Pax6, Tbr1 et Sp1, soit dans la translocation de la signalisation cytoplasmique dans le noyau, tels que CREB et NF-kB (Figure 11) (Royaux et al. 1997; Grayson et al. 2006). Ces différents facteurs de transcription participent à l'expression de la reelin dans le cerveau en développement et aux stades adultes. La transcription du gène reelin n'est pas limitée au système nerveux central, l'ARNm est aussi présent dans le système nerveux périphérique (Panteri et al.) et dans différents organes tel que la glande pituitaire, le foie et le sang (Smalheiser et al. 2000; Kobold et al. 2002).

### **2.2.2. Régulation épigénétique**

Outre le mécanisme de régulation classique de l'expression du gène par des facteurs de transcription, le niveau de transcription du gène reelin peut être contrôlé par des mécanismes épigénétiques impliquant des modifications covalentes de l'ADN et/ou de ses protéines associées. Dans le SNC, la régulation épigénétique a été proposée comme un facteur influençant les processus comportementaux tel que l'apprentissage et la mémoire (Figure 23).



**Figure 23 : Illustration schématique de la régulation épigénétique au niveau neuronal.**

Les entrées synaptiques ou des stimuli environnementaux seraient capables de modifier l'expression génique. Au niveau neuronal, ces modifications transcriptionnelles pourraient se répercuter sur les fonctions neuronales.

D'après Levenson & Sweatt 2005.

Deux modifications épigénétiques ont été décrites pour le gène reelin : l'acétylation des protéines histones, composants majeurs de la chromatine, et la méthylation du promoteur de la reelin sur des résidus cytosine (Tremolizzo et al. 2005). L'acétylation des histones a pour conséquence d'augmenter la transcription du gène. A l'opposé, la méthylation des cytosines présentes au niveau des îlots CpG (région enrichie en motifs nucléotidiques Cytosine précédé de Guanine) est associée à une diminution, voire une répression transcriptionnelle à long terme. Dans le cas du gène reelin, deux sites d'initiation transcriptionnelle sont entourés par plusieurs cibles potentielles de méthylation, notamment les îlots CpG (Royaux et al. 1997). Il a été montré que mécanismes épigénétiques gouvernent l'expression de la reelin in vitro et in (Chen et al. 2002; Tremolizzo et al. 2005; Dong et al. 2007; Miller & Sweatt 2007; Levenson et al. 2008).

Plusieurs études montrent qu'une dysfonction de la transcription de la reelin participerait à la physiopathologie de maladies psychiatriques, un aspect que nous développerons dans le chapitre IV.

### 2.3. Régulation post-transcriptionnelle: épissage alternatif

Dans le SNC, outre la forme majoritaire de la reelin, il existe une isoforme alternative minoritaire représentant 10% des ARNm, dans lequel un microexon est épissé, aboutissant à une délétion en position C-terminale (Lambert de Rouvroit & Goffinet 1998). Une autre forme alternative, polyadénylée dans 10 à 25% des ARNm conduit à la sécrétion d'une protéine tronquée. Ces formes alternatives sont conservées chez les rongeurs et l'humain, ce qui suggère une potentielle importance fonctionnelle (Fatemi 2005). Cependant les anticorps disponibles pour détecter la reelin ne permettant pas de les distinguer, le rôle de ces variants d'épissage reste inconnu.

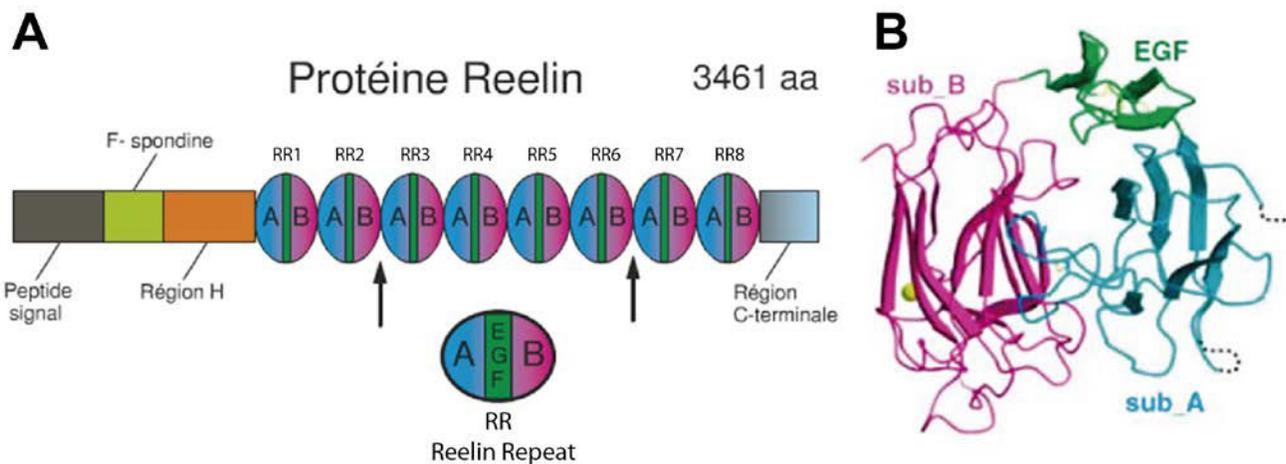
### 3. Caractéristiques de la protéine

#### 3.1. Description structurale de la protéine

L'ARN messager (ARNm) d'une taille de 12 kb est traduit en une grosse protéine de 3461 acides aminés de masse moléculaire théorique de 388 kDa chez la souris (Figure 24) (D'Arcangelo et al. 1995). La protéine reelin humaine est identique à la protéine murine en taille et sa séquence est conservée à 94,2 % entre les deux espèces (DeSilva et al. 1997; Meyer & Goffinet 1998) suggérant une fonction analogue des différents domaines. La protéine reelin est composée de différentes régions (Figures 24) :

- un peptide signal de 27 acides aminés
- un domaine qui révèle 25% d'acides aminés identiques à la séquence de la protéine F-spondin, appelé « F-spondin like »
- une région unique H (Hinge) contenant plusieurs sites potentiels de modifications post-traductionnelles et présentent les épitopes pour différents anticorps tel que CR50 et G10.
- une succession de 8 régions consécutives répétées constituant la partie majoritaire de la protéine. Chacune des 8 régions répétées, d'environ 350 à 390 acides aminés, est composée de deux sous domaines A et B séparés par un motif analogue au facteur de croissance EGF (Hirotsume et al. 1995), appelé EGF-like
- une partie C-terminale courte et fortement basique.

La séquence protéique est dépourvue de domaines transmembranaires indiquant que la reelin est vraisemblablement une protéine sécrétée.



**Figure 24 : Structure de la protéine reelin.**

(A) La protéine est composée d'un peptide signal suivi d'une région homologe à la F-spondin, puis du segment H qui précède une suite de 8 motifs répétitifs « Reelin Repeat » (RR) et enfin la région C-terminale. Les flèches indiquent les sites de clivage de la protéine (B) Structure cristallographique de la répétition 3. Les sous domaines représentés sont : la répétition A (cyan), le motif EGF (vert) et la répétition B (magenta).

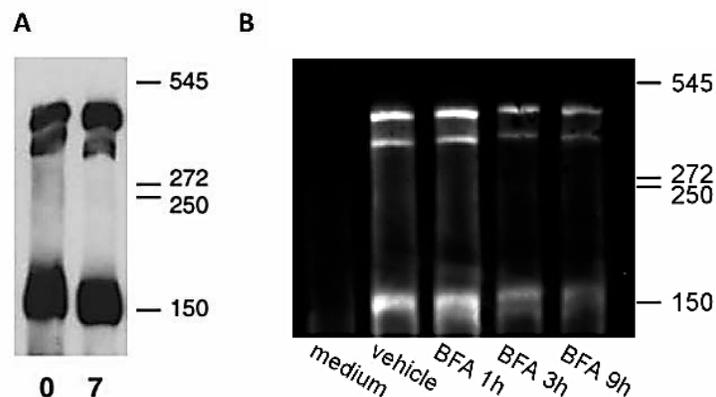
## 3.2. Maturation post-traductionnelle

### 3.2.1. Glycosylations

La protéine reelin subit des modifications post-traductionnelles et notamment des glycosylations. La reelin est effectivement soumise à N-glycosylations et dans une moindre mesure à des O-glycosylations (D'Arcangelo et al. 1997).

### 3.2.2. Clivages protéolytiques

En conditions physiologiques, la reelin subit des clivages protéolytiques. Deux sites deux clivages ont été mis en évidence *in vivo* et *in vitro*, entre les domaines répétés 2 et 3 et entre 6 et 7 (Figure D) pouvant produire cinq fragments de différentes tailles (Lambert de Rouvroit et al. 1999). L'anticorps G10 qui reconnaît un épitope sur la partie N-terminale, permet de détecter les trois formes de la reelin possédant ce domaine dont la protéine totale d'un poids moléculaire d'environ 400 kDa et deux formes de 359 kDa et 180 kDa ayant subi un clivage (Figure 25).



**Figure 25 : Détection des isoformes reelin par western blot.**

(A) Dans le tissu hippocampique à P0 et P7, il est possible d'identifier 3 des isoformes de la reelin à l'aide de l'anticorps G10 dirigé contre la partie N-terminale : la forme entière d'environ 400 kDa, et deux autres formes d'environ 359 kDa et 180 kDa (Sinagra 2005). (B) Les 3 isoformes sont retrouvées dans le surnageant de cultures d'hippocampes à 13 jours de développement *in vitro*. Le blocage de la sécrétion par la brefeldine -A diminue le taux des différentes isoformes. La reelin n'est pas détectée dans le milieu non exposé aux neurones en culture (condition medium) (G. C. Campo et al. 2009).

Le clivage protéolytique serait important pour les fonctions biologiques de la reelin. Par exemple l'inhibition du clivage perturbe le développement du cortex (Jossin & Goffinet 2007). Les mêmes auteurs ont suggéré que le clivage protéolytique faciliterait la diffusion du fragment central dans la MEC pour atteindre ses cibles.

### 3.3. Rôle des domaines de la protéine reelin

**Le domaine N-terminal** intervient dans la liaison aux récepteurs (D’Arcangelo et al. 1999) et son clivage diminue l’action biologique de la reelin (S. Kohno et al. 2009), sans pour autant être nécessaire à l’activation des voies de signalisation intracellulaire (Kubo et al. 2002). L’action du domaine N-terminal n’est pas nécessaire à l’activation des voies de transduction mais son blocage ou mutation altère les fonctions de la reelin (Ogawa et al. 1995; D’Arcangelo et al. 1997; Nakajima et al. 1997; Miyata et al. 1997). Il est donc possible que le domaine N-terminal intervienne dans le recrutement des métalloprotéinases permettant la libération du domaine central (Jossin & Goffinet 2007) ou dans la dimérisation et le regroupement en cluster des récepteurs de la reelin (Bouché et al. 2013).

**Le domaine central** possède les « Reelin Repeat » (RR). Les fragments RR5 et RR6 sont suffisants pour activer la signalisation intracellulaire (Yasui et al. 2007) et sont capables de restaurer un phénotype sauvage sur des tranches organotypiques issues d’animaux reeler (Jossin et al. 2004). Des anticorps dirigés contre un épitope présent dans la région RR3-RR6 bloquent la liaison de la reelin à ses récepteurs, inhibent les voies de signalisation et induisent une désorganisation du cortex (Jossin & Goffinet 2007).

**Le domaine C-terminal** de la reelin qui comprend 33 acides aminés hautement basiques (acides aminés 3429 à 3461), semble essentiel à sa sécrétion (D’Arcangelo et al. 1997; Derer et al. 2001). En effet, le mutant reeler Orleans produit une protéine tronquée dans le domaine C-terminal qui n’est pas sécrétée (de Bergueyck et al. 1997; Derer et al. 2001). Plusieurs études indiquent que la partie C-terminale est impliquée dans la conformation de la protéine afin d’optimiser la sécrétion et l’activation de la signalisation intracellulaire (Nakano et al. 2007; T. Kohno et al. 2009 et 2015).

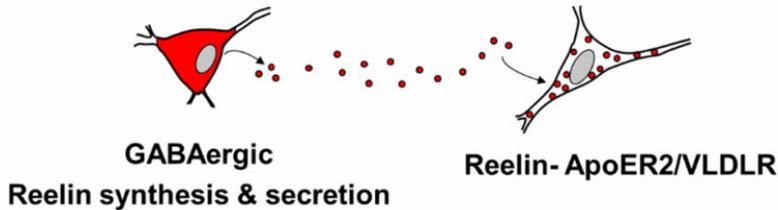
### 3.4. Sécrétion dans le milieu extracellulaire

La reelin possède plusieurs caractéristiques topologiques d’une protéine sécrétée : la présence d’un peptide signal, l’absence de domaine transmembranaire, une séquence similaire à la F-spondin et la présence de motifs EGF-like (D’Arcangelo et al. 1995). Des études indiquent que la reelin pourrait être transportée le long des axones des neurones qui la sécrètent (Pesold et al. 1998; Rodriguez et al. 2000; Derer et al. 2001; Pappas et al. 2001; Ramos-Moreno et al. 2006). Plusieurs études indiquent que la reelin agirait comme messenger transcellulaire. La création d’animaux chimériques par agrégation d’un zygote sauvage et d’un zygote reeler montre pour la première fois un développement normal des cellules de Purkinje lorsque ces dernières étaient exposées à un environnement cérébelleux mixte (Terashima et al. 1986).

De façon similaire, la culture de tranches issues d'animaux reeler en présence de tissu issu d'animaux sauvages, permet de restaurer l'alignement des cellules de Purkinje ainsi que la lamination de la formation hippocampique (Miyata et al. 1997; Zhao et al. 2006).

Parmi tous les mécanismes potentiels de sécrétion qui ont été testés comme l'activité neuronale (Laurent Groc et al. 2007), l'exocytose dépendante du calcium, l'activité des récepteurs du glutamate et GABA (Lacor et al. 2000), seule la bréfeldine A, un inhibiteur du trafic protéique entre le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, bloque la sécrétion de la reelin (Lacor et al. 2000; G. C. Campo et al. 2009) (Figure 25B), suggérant que la reelin est sécrétée de manière constitutive.

Les travaux du laboratoire ont permis de mettre en évidence la présence de deux populations réactives pour le marquage reelin, une population qui synthétise et sécrète la reelin et une population liant la protéine (Figure 26 et 29).



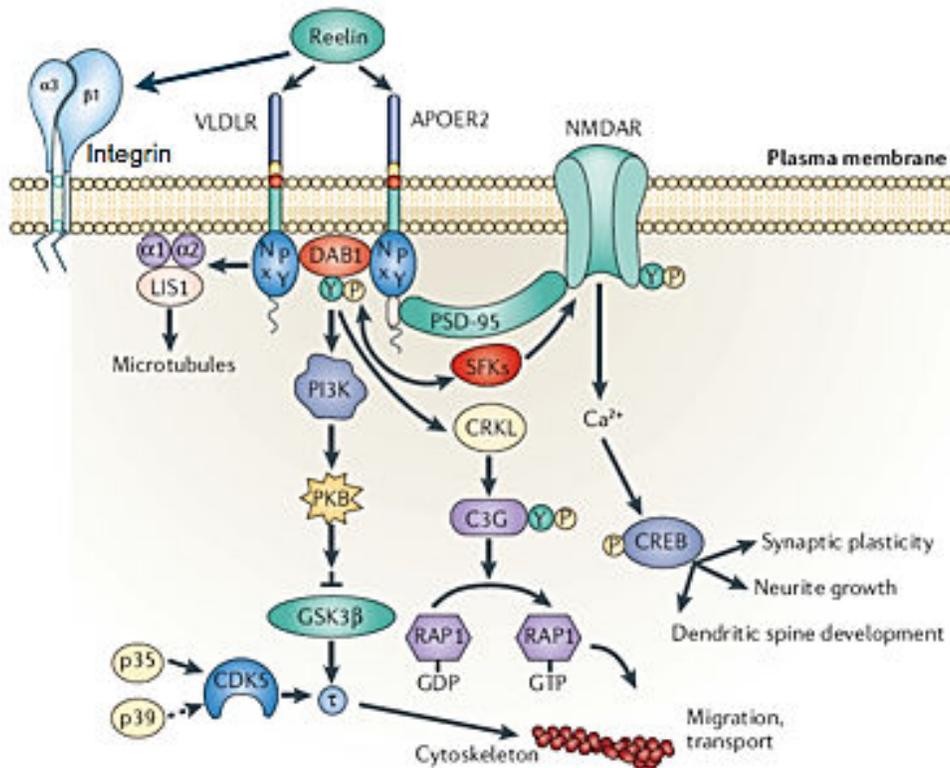
**Figure 26 : Schéma représentant les deux populations positives pour le marquage reelin.** Dans l'hippocampe, la reelin synthétisée par une population uniquement GABAergique (marquage dense) va être sécrétée dans le milieu extracellulaire et être liée par des

neurones GABAergiques et non GABAergiques exprimant les récepteurs ApoER2 et VLDLR (marquage ponctiforme) (Campo et al. 2009).

Une fois sécrétée dans l'environnement extracellulaire, la reelin agit comme une molécule de signalisation en se liant à différentes familles de récepteurs transmembranaires situés à la surface des neurones cibles.

#### 4. Les récepteurs de la reelin et voies de signalisations intracellulaires

La reelin est une protéine sécrétée qui agit comme molécule de signalisation en se liant à différentes familles de récepteurs (Figure 27) : deux membres de la famille des récepteurs aux lipoprotéines, le récepteur de l'apolipoprotéine E de type 2 (Apolipoprotein E receptor 2, ApoER2) et le récepteur des lipoprotéines de très basse densité (very low-density lipoprotein receptor, VLDLR) (D'Arcangelo et al. 1999; Hiesberger et al. 1999) ainsi qu'à un membre de la famille des molécule d'adhérence du type des intégrines, l'intégrine  $\alpha3\beta1$  (Dulabon et al. 2000). La liaison de la reelin a pour conséquence d'induire la dimérisation des récepteurs ApoER2 et VLDLR en homodimère ou hétérodimère (Utsunomiya-Tate et al. 2000; Kubo et al. 2002; Strasser et al. 2004; Nogi et al. 2006) et l'internalisation de la protéine reelin (Jeon & Blacklow 2005).



**Figure 27 : Modèle simplifié de la voie de signalisation reelin.**

L'activation des récepteurs de la reelin induit la phosphorylation de Dab1 ce qui entraîne l'activation de multiples cascades intracellulaires. Adapté de Dityatev & Schachner 2003.

Une fois liée à ses récepteurs, la reelin entraîne une cascade de signalisation intracellulaire, l'activation débutant par la phosphorylation de la protéine adaptatrice Disabled 1 (Dab1) (Sweet et al. 1996; Howell et al. 1997; Sheldon et al. 1997; Hiesberger et al. 1999; Calderwood et al. 2003; Schmid et al. 2005). Ceci résulte en de multiples effets (Figure 27) comme l'activation de la PI3K et de la PKB/AKT (Beffert et al. 2002; Jossin & Goffinet 2007; Chen et al. 2012). Cette dernière inhibe l'activité de la protéine Glycogen synthase kinase 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) qui, en conditions normales phosphoryle la protéine Tau associée aux microtubules (Howell et al. 1999; Beffert et al. 2002; Cantley 2002; Greer & Wynshaw-Boris 2006). La phosphorylation de Dab1 peut aussi induire le recrutement de Lis1 qui est impliquée dans la prolifération et la migration cellulaire, ainsi que dans l'organisation des microtubules (Assadi et al. 2003; Vallee & Tsai 2006; Folsom & Fatemi 2013). La reelin, par l'intermédiaire de Dab1-PI3K-AKT, peut activer la voie mTOR (mammalian target of rapamycin) qui régule les mécanismes de transcription génique et de biosynthèse des protéines nécessaires à la modulation des processus de poussée dendritique et de prolifération, mobilité et survie cellulaires (Hay & Sonenberg 2004; Jossin & Goffinet 2007; Jossin et al. 2007; Ventruti et al. 2011). De plus, le récepteur ApoER2 interagit avec la protéine PSD-95 (postsynaptic density protein 95), ce qui lui permet d'interagir indirectement avec les récepteurs NMDA (Gotthardt et al.

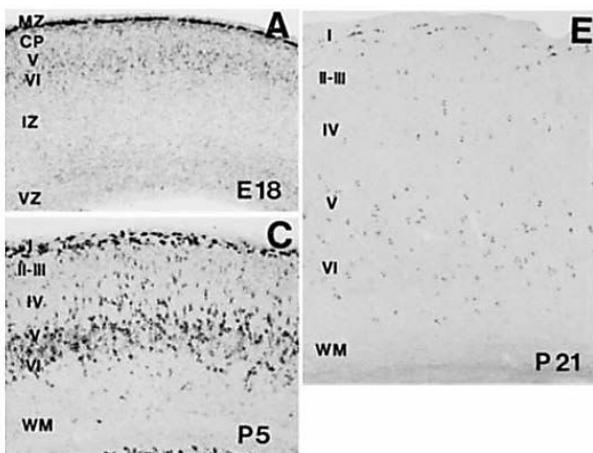
2000; Beffert et al. 2005; Hoe et al. 2006). Du fait de ces interactions, l'altération du récepteur ApoER2 affecte dramatiquement la potentialisation à long terme dans l'hippocampe, ainsi que les performances mnésiques dans différents tests comportementaux (Beffert et al. 2006). Il est intéressant à noter que des souris déficientes pour l'expression des deux récepteurs ApoER2 et VLDLR (Trommsdorff et al. 1999) ou pour l'expression de Dab1 (Sheldon et al. 1997) présentent des altérations morphologiques similaires à celles du mutant reeler.

## 5. Expression et distribution de la reelin

Une dérégulation de l'expression de la reelin serait impliquée dans différents troubles neurodéveloppementaux et psychiatriques tels que l'autisme, la schizophrénie, le trouble bipolaire et la dépression majeure (Folsom & Fatemi 2013). Il est donc pertinent d'étudier les fonctions de la reelin au cours de la maturation pour prendre en compte les pics d'expression puis d'extinction pouvant survenir au cours du développement en conditions physiologiques et pathologiques. Grâce à des approches d'hybridation in situ, d'immunohistochimie et de western blot, l'expression de la reelin a été étudiée de façon systématique ex vivo dans le SNC en développement ainsi que dans le cerveau postnatal et adulte. En effet, l'expression de la reelin débute à partir du 10<sup>ème</sup> jour embryonnaire et persiste tout au long de la vie.

### 5.1. Expression de la reelin dans les différentes structures cérébrales

La reelin est détectée à E10 dans le prosencéphale (bulbe olfactif et néocortex), le mésencéphale et le cortex cérébelleux de souris (Alcántara et al. 1998b). Son expression augmente au cours de la corticogénèse jusqu'à atteindre un maximum entre E14 et le 5<sup>ème</sup> jour de développement postnatal (P5) (Figure 28) (Ikeda & Terashima 1997; Schiffmann et al. 1997; Alcántara et al. 1998).



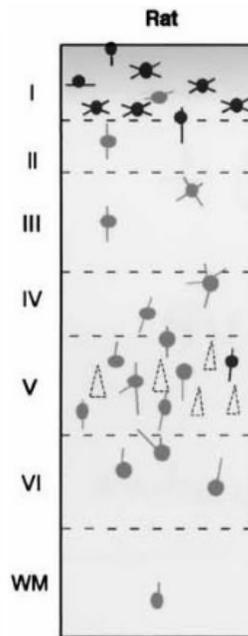
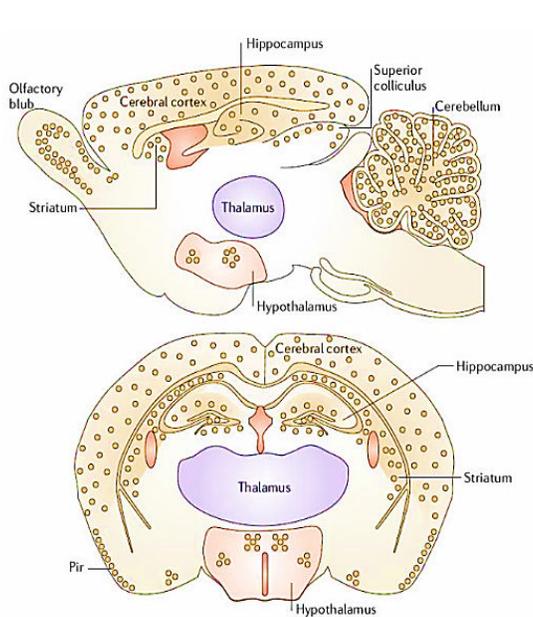
**Figure 28 : Expression de la reelin durant le développement cortical.**

Le patron d'expression de la reelin change au cours du développement. Dans le cortex, l'expression est localisée dans la couche I au stade embryonnaire (A). puis au cinquième jour postnatal, l'expression bascule dans la couche V (C) pour ensuite diminuer fortement après la 3<sup>ème</sup> semaine postnatale (E)

D'après Alcántara et al. 1998.

Elle décline ensuite dans l'ensemble du cerveau mais son expression dans le cortex cérébral, le bulbe olfactif, le cervelet et la formation hippocampique persiste de manière importante à l'âge adulte (Figure 29)

(Ramos-Moreno et al. 2006). A ce stade, d'autres structures l'expriment également en moindre quantité: la rétine, le striatum et le Nacc, l'hypothalamus, l'aire pré-optique et la formation réticulée (Ramos-Moreno et al. 2006; Schiffmann et al. 1997).



**Figure 29 : Expression de la reelin au stade adulte.**

(Gauche) Dans le cerveau adulte des rongeurs, la reelin est fortement exprimée dans le cervelet, le cortex, l'hippocampe et le bulbe olfactif (cercles jaunes). D'après Herz et Chen., 2006. (Droite) Schéma représentant l'immuno-réactivité pour la reelin dans les différentes couches du cortex du rat adulte. L'intensité du signal est importante dans la couche I, plus faible mais abondante dans la couche V. D'après Martínez-Cerdeño & Clascá 2002.

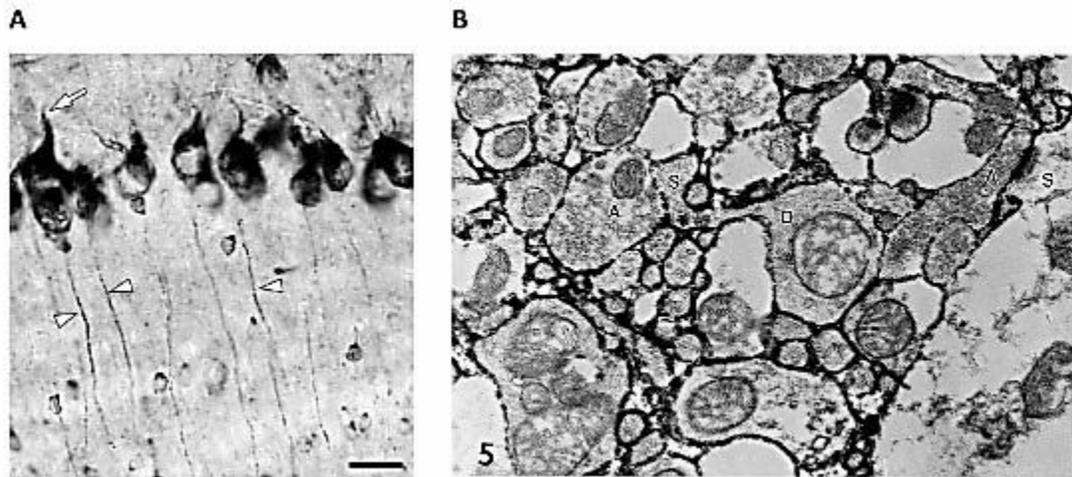
- Intracellularly Reelin neuron (heavily stain)
- Intracellularly Reelin neuron (medium/light stain)
- △○ Pericellularly Reelin neuron

## 5.2. Localisation cellulaire et subcellulaire de la reelin

Au cours du développement embryonnaire, la reelin est synthétisée et sécrétée par les cellules de Cajal-Retzius dans la zone marginale du cortex cérébral et de l'hippocampe (Figure 28) (Ogawa et al. 1995; Schiffmann et al. 1997). Ces neurones sont présents à différents stades embryonnaires, persistent durant les premiers stades de développement postnatal puis dégèrent après les premières semaines de vie postnatale (Soriano & Del Río 2005; Villar-Cerviño & Marín 2012). En effet, l'expression de la protéine reelin est localisée dans la couche I au stade embryonnaire, puis la distribution est décalée dans les couches plus profondes (Figure 28).

Au stade adulte, le marquage de la reelin est préférentiellement associé à des interneurons GABAergique dans l'hippocampe et le néocortex (Pesold et al. 1998). Le co-marquage de la reelin avec des marqueurs des interneurons ont permis de montrer que la plupart des neurones positifs pour la somatostatine et les récepteurs 5HT3aR expriment la reelin dans le néocortex (Lee et al. 2010; Miyoshi et al. 2010). Toutefois, dans le cervelet, l'expression de la reelin est associée aux cellules en grains de nature glutamatergique, alors que dans le cortex entorhinal elle est associée aux cellules pyramidales de la couche II (Pesold et al. 1998; Chin et al. 2007; G. C. Campo et al. 2009; Sinagra et al. 2008).

Au niveau subcellulaire (Figure 30), la reelin a été détectée dans les corps cellulaires des neurones, dans la MEC (Pappas et al. 2001), dans le segment initial axonal des neurones corticaux (Derer et al. 2001; Ramos-Moreno et al. 2006), autour des axones et au niveau des dendrites et des épines dendritiques dans le cortex, l'hippocampe et le cervelet (Pesold et al. 1998; Rodriguez et al. 2000; Pappas et al. 2001). La présence de reelin en périphérie cellulaire dans ces structures pourrait expliquer en partie son rôle dans le remodelage anatomique, la transmission et la plasticité synaptique (Weeber et al. 2002; Dong et al. 2003; Ramos-Moreno et al. 2006; Laurent Groc et al. 2007; Niu et al. 2008).



**Figure 30 : Localisation subcellulaire de la protéine reelin.**

(A) Dans le bulbe olfactif, les cellules mitrales présentent un marquage reelin au niveau somatique mais aussi au niveau des projections axonales. D'après Martínez-Cerdeño et Clascá 2003 (B) Image de microscopie électronique représentant un marquage reelin entourant les boutons synaptiques, les dendrites et les épines dendritiques dans le gyrus denté. D'après Pappas et al. 2001.

## 6. Fonctions physiologiques de la reelin

La mise en place et la maturation des réseaux neuronaux sont savamment orchestrées durant les périodes développementales dont certaines sont cruciales pour les fonctions neuronales. Toutefois ces périodes ne sont pas restreintes dans le temps, certains processus modifient et régulent continuellement les réseaux neuronaux durant la vie d'un individu.

La reelin est un acteur majeur de la physiologie neuronale et son rôle s'étend de la période embryonnaire jusqu'au stade adulte. Au cours du développement embryonnaire, la reelin est essentielle pour la formation correcte des structures cérébrales par ses actions sur la neurogénèse, la migration, la différenciation, la morphologie neuronale. La reelin joue par la suite un rôle très différent dans le SNC postnatal et adulte en régulant la maturation des réseaux neuronaux et la plasticité synaptique.

## 6.1. Modèles d'études des rôles de la reelin

Différents modèles animaux présentant soit une augmentation soit une réduction des taux de reelin sont disponibles pour étudier le rôle de la reelin. En plus des mutants reeler homozygotes présentés dans la figure 22 (D'Arcangelo & Curran 1998), deux souris, *scrambler* et *yotari*, mutantes pour le gène *Dab1* et présentant un phénotype reeler sont couramment utilisées. Les souris haploinsuffisantes pour la reelin (HRM) présentent une réduction de 50% des taux de reelin équivalente à celle trouvée chez des patients atteints de schizophrénie ou de troubles bipolaires. Récemment, l'insertion d'un transgène reelin sous le contrôle du promoteur *CAMKII $\alpha$*  permet d'évaluer les effets de la surexpression de la reelin (Pujadas et al. 2010; Teixeira & Martí 2011). L'étude de l'impact de la reelin à une période développementale déterminée dans une structure cérébrale spécifique, est rendu possible par injection de reelin recombinante ou d'une séquence reelin antisens interférente visant à supplémenter ou éteindre la reelin respectivement (Brosda et al. 2011; Rogers, Rusiana, Trotter, Zhao, Donaldson, Pak, Babus, Peters, Banko, Chavis, G. W. Rebeck, et al. 2011; Rogers et al. 2013). Enfin, la manipulation des régulations épigénétiques permet entre autre d'augmenter ou de diminuer les taux de reelin de façon non spécifique (Tremolizzo et al. 2002 et 2005).

## 6.2. Rôle dans le cycle cellulaire

Plusieurs études ont impliqué la reelin dans la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire.

La reelin favoriserait la prolifération cellulaire au stade embryonnaire mais aussi au stade adulte (Pujadas et al. 2010; Lakomá et al. 2011). Le taux de prolifération des neurones progéniteurs et le nombre de neurones corticaux générés entre le E13 et E15 est réduit chez les animaux reeler (Polleux et al. 1998; Lakomá et al. 2011). A ce stade, la surexpression de reelin augmente le taux de mitose dans la zone sous ventriculaire du cortex, alors qu'au stade adulte, l'effet de la reelin sur la prolifération dépend de la structure observée. La surexpression de reelin augmente clairement la neurogenèse dans la zone sous granulaire de l'hippocampe, mais n'affecterait pas le taux de neurogenèse dans la zone sous ventriculaire à proximité du bulbe olfactif (Won et al. 2006; Zhao et al. 2007; Pujadas et al. 2010; Lakomá et al. 2011). Toutefois, les animaux reeler présentent une diminution du nombre de neurones nouvellement formés au niveau de la voie de migration rostrale du bulbe olfactif (Won et al. 2006).

La voie de signalisation de la reelin influencerait la différenciation cellulaire dans le SNC. La délétion de la protéine adaptatrice *Dab1* induit une augmentation de la différenciation des cellules souches neuronales en astrocyte *in vitro* (Kwon et al. 2009). De même *in vivo*, la proportion de cellules se différenciant en cellules gliales est supérieure chez le mutant reeler (Zhao et al. 2007), ainsi que chez les animaux *yotari* (Kwon et al. 2009). Ces résultats suggèrent que la signalisation reelin via *Dab1* est nécessaire pour maintenir une balance entre neurogenèse et gliogenèse.

La reelin peut activer des cascades de signalisation impliquées dans la survie cellulaire comme les Src kinases et de la voie Akt (Beffert et al. 2002; Ohkubo et al. 2007; Simó et al. 2007). Il a été suggéré que la signalisation reelin favorise aussi la survie des neurones générés au stade adulte (Pujadas et al. 2010). De plus, les animaux hétérozygotes reeler présentent une réduction du nombre de cellule de Purkinje à un âge avancé (Hadj-Sahraoui et al. 2009). Ces différentes données suggèrent un rôle de la reelin dans la survie neuronale.

### 6.3. Rôle dans la migration

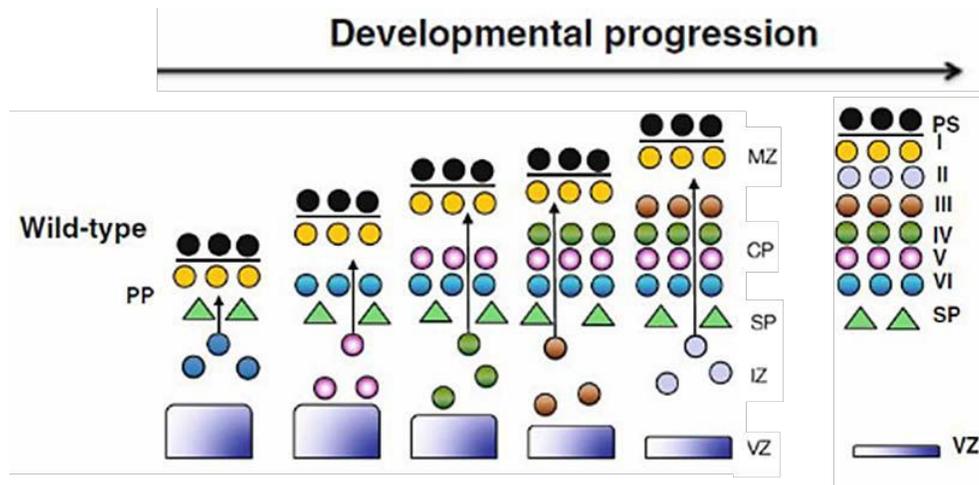
Les premières observations du mutant reeler suggérèrent que la reelin était un acteur indispensable de la migration et du positionnement des neurones lors du développement des structures cérébrales laminées. Les désordres comportementaux chez la souris reeler sont accompagnés d'une ectopie neuronale et d'anomalies de migration aboutissant à l'absence d'organisation en différentes couches cellulaires dans le cortex et l'hippocampe, ainsi qu'à l'hypoplasie sévère du cervelet dont la foliation disparaît. Chez les mutants reeler, le bulbe olfactif, ainsi que des structures non stratifiées telles que certains noyaux du tronc cérébral, le striatum et la substance noire présentent aussi des défauts de cytoarchitecture (Katsuyama & Terashima 2009; Sekine et al. 2014).

#### 6.3.1. Défauts de la migration corticale chez les mutants reeler

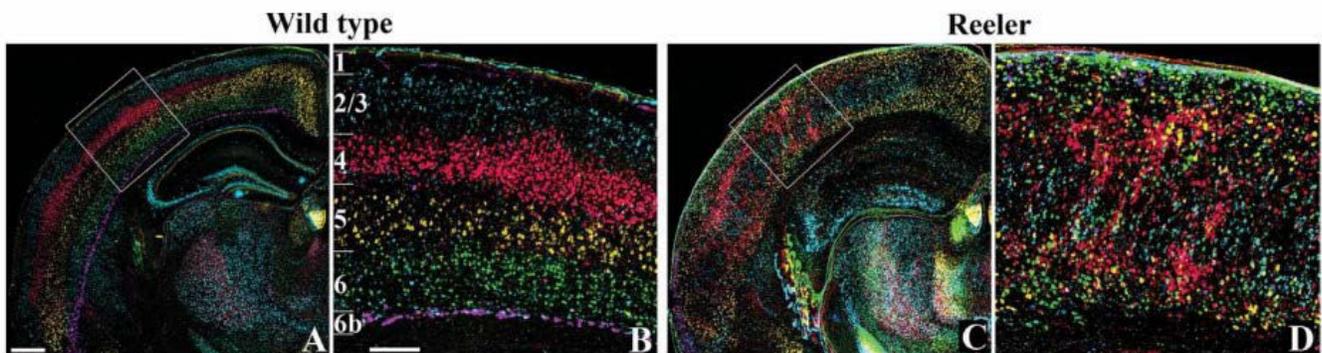
Dans le cortex cérébral, la corticogénèse débute au stade embryonnaire E11 avec l'apparition de la pré-plaque (PP) localisée au-dessus des neurones en prolifération de la zone ventriculaire (VZ). A E13, une vague de neurones migre depuis la VZ envahit la PP, aboutissant à la division de cette dernière en deux couches distinctes : la sous-plaque (SP) située en profondeur et la zone marginale (MZ) située en superficie où sont localisées les cellules de Cajal-Retzius sécrétant la reelin. Entre E14 et E18, les neurones nouvellement formés migrent, traversent la zone intermédiaire (IZ) et la SP et s'arrêtent sous la MZ pour former la plaque corticale (CP) (Figure 31). Les neurones générés ultérieurement vont alors migrer par vagues successives au-delà des neurones générés plus tôt au cours du développement et commencent à se différencier. Les neurones générés tôt sont situés dans les couches profondes et les neurones les plus récents sont positionnés dans les couches les plus superficielles induisant une organisation «inside-out» (Figure 24).

#### Figure 31: Migration des neurones pyramidaux durant la corticogénèse.

La première vague de neurones sépare la pré- plaque (PP) en sous-plaque (SP) et en MZ (future couche I). La vague suivante donne les neurones de la future couche VI. Les vagues d'après traversent les ces derniers neurones induisant une lamination dite inside-out. Les neurones générés le plus tardivement résident dans les couches les plus superficielles. PS: surface piale. Adapté de Gao et Godbout 2013.



Chez les souris reeler certaines étapes de ce mode de développement inside-out sont altérées. (Pour revue Rakic & Caviness 1995). Les observations initiales ont mis en évidence que la MZ, normalement clairsemée de neurones, était colonisée lors de la migration chez les mutants reeler et que le gradient de maturation du cortex était inversé selon le mode outside-out (Caviness 1982). Cependant, des études ultérieures ont montré que l'organisation inside-out n'est pas réellement inversée chez les mutants reeler, il semble plutôt que les neurones normalement assignés à une couche donnée, se séparent en une population superficielle et une population profonde (Figure 32) (Boyle et al. 2011).



**Figure 32 : L'architecture laminaire du cortex somatosensoriel chez les animaux contrôles et les mutants homozygotes reeler.**

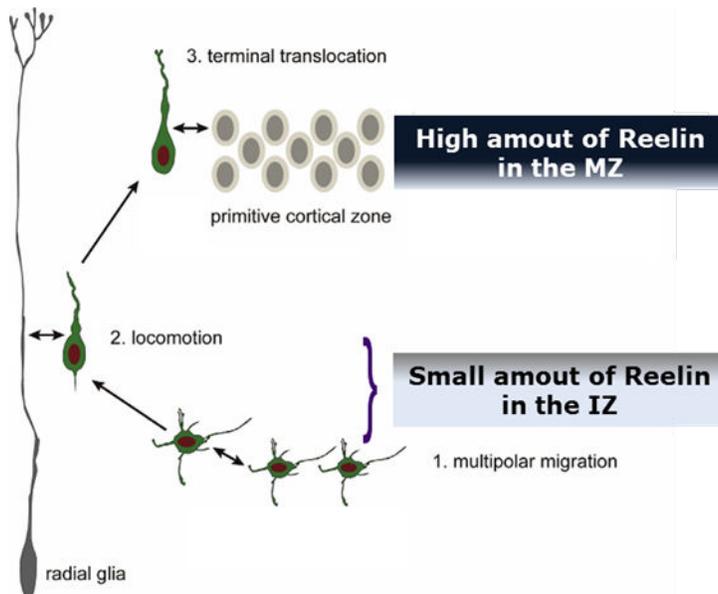
La ségrégation laminaire des marqueurs de couche est distincte chez les animaux sauvages (A et B) alors que l'organisation est fortement désorganisée dans le néocortex des animaux reeler (C et D). Les neurones normalement assignés à une couche donnée chez les contrôles sont largement dispersés à travers les couches chez les reeler. Chez ces derniers, la couche II/III (marquage bleu) est située au milieu du cortex et les neurones des autres couches sont divisés symétriquement en une population superficielle et une population profonde. Ces observations vont à l'encontre du modèle d'inversion des couches chez les mutants reeler. On peut remarquer que les structures sous-corticales comme l'hippocampe ou le thalamus sont aussi désorganisées chez les mutants reeler (C). Adapté de Boyle et al. 2011.

Après la découverte de la protéine, de ses récepteurs et de la voie de signalisation, la dissection moléculaire a permis d'expliquer ces observations cytoarchitectoniques en proposant un modèle d'action de la reelin.

### 6.3.2. Modèle d'action de la reelin

La reelin semble nécessaire à différentes étapes de la migration des neurones pyramidaux néocorticaux (Figure 33) (Sekine et al. 2014). Au cours de la corticogénèse, la reelin sécrétée par les cellules de Cajal-Retzius présentes dans la MZ (Figure 19) (Ogawa et al. 1995; Schiffmann et al. 1997) diffuse en gradient de concentration (Jossin & Cooper 2011) :

- Les forts taux de reelin dans la MZ et la CP agissent :
  - en stimulant la migration indépendante de la glie radiaire des neurones générés précocement, permettant ainsi la séparation de la PP en SP et MZ.
  - comme signal d'arrêt de migration et en provoquant le détachement des neurones de la glie radiaire.
  - en régulant les changements morphologiques et de polarité durant l'étape de translocation terminale des corps cellulaires qui permet aux neurones d'atteindre leur position finale.
- Les faibles taux de reelin dans la IZ stimulent la migration radiaire (ou locomotion) en régulant l'orientation cellulaire. Ces changements de polarité permettent aux neurones multipolaires de la IZ d'adopter une morphologie bipolaire qui leur confère la capacité d'interagir avec les fibres de la glie radiaire.



**Figure 33 : Modèle hypothétique du rôle de la reelin dans la migration des neurones pyramidaux corticaux.**

Les neurones immatures adoptent d'abord une migration multipolaire. Puis, ils adoptent une morphologie bipolaire, acquièrent la capacité d'interagir avec les fibres de la glie radiaire et migrent par locomotion. Les faibles taux de Reelin dans la IZ seraient impliqués dans ce processus. Quand les neurones atteignent la CP, les taux élevés de Reelin dans le MZ poussent les neurones à se détacher de la glie radiaire et à migrer par translocation terminale afin d'atteindre leur localisation finale dans la CP. Adapté de Sekine et al. 2014.

### 6.3.3. Migration postnatale

La neurogénèse et la migration neuronale ne s'arrêtent pas au stade embryonnaire. Une production de neurones nouvellement formés s'effectue au stade adulte au sein de certaines structures du SNC, notamment dans le bulbe olfactif (Kaplan & Hinds 1977). Les neurones néoformés s'intègrent dans les circuits existants et participent aux rôles fonctionnels de la structure (Gheusi et al. 2000). Leur mode de migration semble être d'abord tangentiel puis radiaire.

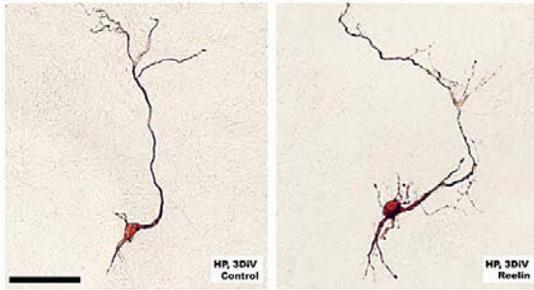
Le rôle de la signalisation reelin dans la neurogénèse au stade adulte a été étudié dans des structures telles que le gyrus dentelé de l'hippocampe et le bulbe olfactif. Dans le gyrus dentelé, une perte de fonction de la protéine Dab1 induite au stade adulte au niveau de cellules individuelles par la technique d'ARN interférence, provoque une localisation ectopique des neurones nouvellement formés. Dans le bulbe olfactif, la reelin favoriserait la dispersion de ces neurones nouvellement formés hors de la zone sous ventriculaire puis participerait au passage d'une migration tangentielle des neurones en chaîne vers une migration radiaire des neurones individuels (Hack et al. 2002). Le récepteur à la reelin ApoER2 serait nécessaire au détachement et à la migration correcte des neurones dans le bulbe olfactif (S. Hellwig et al. 2011).

Ces résultats mettent en évidence l'importance de la signalisation intracellulaire induite par la reelin durant la migration postnatale et suggèrent que la reelin intervient dans différentes étapes de l'intégration des neurones nouvellement formés dans les circuits préexistants et que la modification des niveaux de reelin perturbe ce processus (Teixeira et al. 2012).

### 6.4. Rôle dans le guidage des projections axonales

L'action de la reelin pourrait aussi intervenir dans le guidage et l'attraction des projections axonales, comme illustré ci-dessous par l'établissement des connexions neuronales entre le cortex entorhinal et l'hippocampe. Les fibres de la voie perforante en provenance du cortex entorhinal projettent dans la couche moléculaire du gyrus dentelé (Tamamaki 1997). L'ablation des cellules de Cajal-Retzius et l'utilisation de l'anticorps CR50 bloqueur de fonction de la reelin, diminuent tous les deux la densité des innervations et l'embranchement des axones en provenance du cortex entorhinal dans la couche moléculaire, suggérant que la reelin a une action attractive pour le guidage axonal (Del Río et al. 1997). Le nombre de contacts synaptiques formé par ces projections est diminué dans différentes couches du gyrus denté chez les animaux reeler (Borrell et al. 1999).

La signalisation reelin peut s'effectuer localement au sein de l'axone : ApoER2 est exprimé au niveau du cône de croissance (Beffert et al. 2002) et la protéine Dab1 dans l'axone en croissance (Borrell et al. 2007). Le traitement des cultures neuronales à l'aide de reelin recombinante promeut effectivement la pousse axonale (Figure 34) (Borrell et al. 2007).



**Figure 34 : La reelin recombinante favorise la croissance axonale.**

Après marquage de la tubuline, on observe une élongation et une ramification axonale plus importante dans la condition supplémentée en reelin (à droite).

Adapté de Borrell et al. 2007.

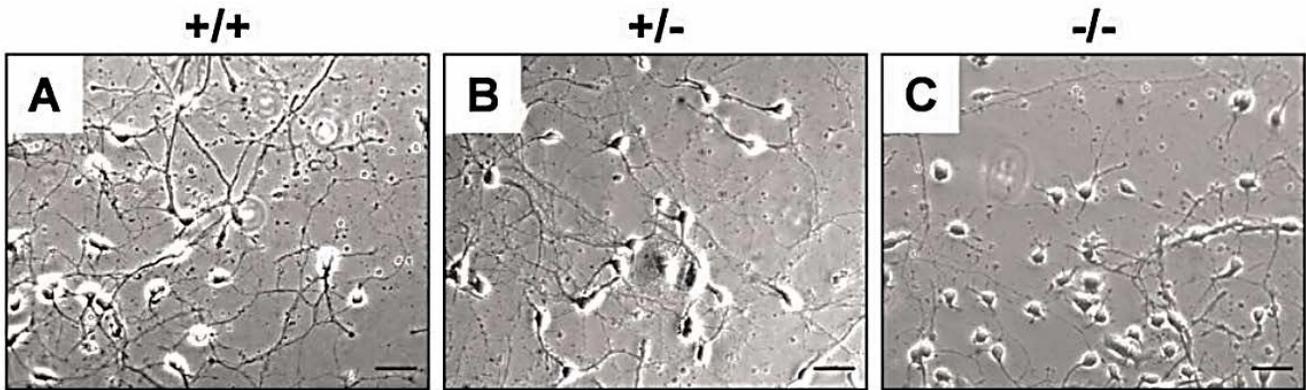
Le rôle facilitateur de la reelin n'est pas spécifique du compartiment axonal mais la reelin agit aussi au niveau du compartiment dendritique.

### 6.5. Rôle dans la croissance dendritique

La croissance dendritique est un processus influencé par l'environnement extracellulaire et les facteurs intrinsèques. Ce processus commence durant la phase embryonnaire et se termine durant la période postnatale. La reelin sécrétée durant la période embryonnaire et la période postnatale intervient dans la croissance des prolongements dendritiques.

De multiples études *in vitro* démontrent l'implication de la reelin dans la croissance dendritique. En effet, les cultures d'hippocampe issu d'animaux homozygotes présentent une diminution dramatique de la longueur totale et de l'embranchement des prolongements dendritiques entre 2 et 6 jours de développement *in vitro* (Niu et al. 2004). Une réduction plus modérée des prolongements dendritiques est également observée sur les cultures neuronales issus d'animaux hétérozygotes suggérant un effet dose de la reelin (Figure 35). Ces défauts sont restaurés par l'application de reelin recombinante (Niu et al. 2004). On peut noter que ces études *in vitro* en s'affranchissant du défaut de migration observé *in vivo* chez les mutants reeler homozygotes, démontrent spécifiquement l'implication de la reelin dans la croissance dendritique.

Les observations *ex vivo* confirment l'action positive de la reelin sur la croissance dendritique. La surexpression de la reelin dans le gyrus dentelé accélère la croissance dendritique des cellules granulaires formées au stade adulte (Teixeira et al. 2012). Au contraire, les cellules granulaires et les neurones pyramidaux de l'hippocampe ont une arborisation nettement réduite chez les animaux homozygotes reeler (Niu et al. 2004; Niu et al. 2008). La délétion de la protéine Dab1 au niveau du neurone individuel induit un retard de la croissance dendritique des neurones générés au stade adulte comparés aux contrôles (Teixeira et al. 2012). De plus, ces déficits sont associés à une orientation anormale des dendrites qui s'étendent dans les sous divisions du gyrus et établissent des contacts synaptiques aberrants avec des afférences atypiques en absence de Dab1 (Teixeira et al. 2012). De même, l'orientation et l'arborisation dendritique des neurones corticaux de la couche VI chez les mutants reeler et scrambler est perturbée lors du développement embryonnaire (O'Dell et al. 2012).



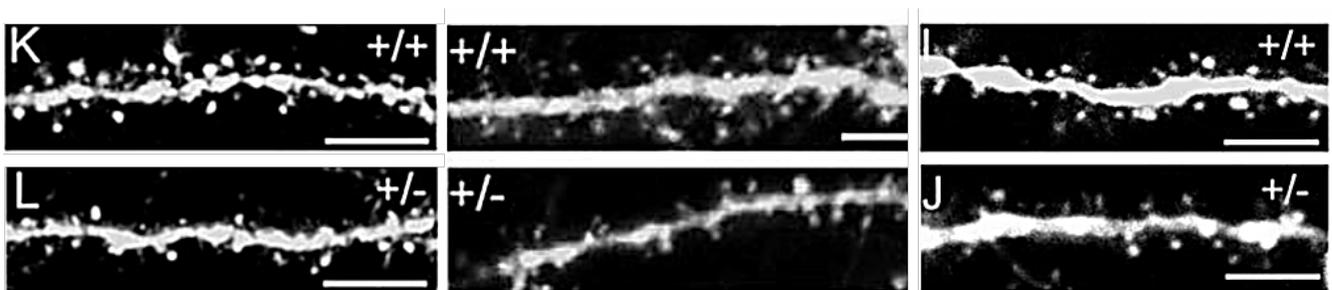
**Figure 35: L'insuffisance en reelin retarde la croissance neuritique in vitro.**

Après 5 jours de mise en culture, les images en contraste de phase montrent une réduction des prolongements dendritiques des neurones d'hippocampe issus d'animaux hétérozygotes (B) et homozygotes reeler (C) comparés aux animaux sauvages (A). Calibration: 50µm. Modifié d'après Niu et al. 2004.

La reelin serait donc nécessaire pour la mise en place des prolongements dendritiques et des projections axonales et est par conséquent impliquée dans la connectivité synaptique.

### 6.6. Rôle dans la morphologie des épines dendritiques

Le principal locus des synapses excitatrices est situé au niveau des épines dendritiques. De façon intéressante, la reelin entoure et adhère aux troncs et épines dendritiques des neurones pyramidaux corticaux (Rodriguez et al. 2000; Pappas et al. 2001) suggérant qu'elle puisse réguler la structure des épines. La première observation d'un déficit de la densité des épines a été observée sur les neurones pyramidaux des souris hétérozygotes pour la reelin (HRM) dans l'aire motrice du cortex frontal (Liu et al. 2001).

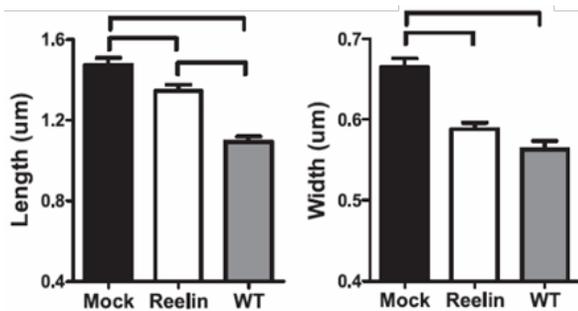


**Figure 36 : Rôle de la reelin et de la protéine Dab1 sur la densité et la morphologie des épines dendritiques des neurones pyramidaux de l'hippocampe.**

L'haploinsuffisance en protéine reelin induit une diminution de la densité des épines dendritiques sur les neurones pyramidaux issus de tranches ex-vivo entre P21-32 (gauche) et en culture organotypique (milieu). Un effet similaire est observé sur des cultures organotypiques issus d'animaux hétérozygotes pour Dab1 (droite). Adapté de Niu et al. 2008.

Durant le stade juvénile, la densité des épines dendritiques est diminuée sur tranches d'hippocampe issus d'animaux HRM (Niu et al. 2008). Un effet comparable est observé sur des tranches organotypiques issus d'animaux hétérozygotes pour *Dab1* (Figure 36).

Cependant, les neurones pyramidaux de CA1 présentent une densité d'épines dendritiques identique chez les HRM âgés de 4 mois par rapport aux souris sauvages du même âge. La longueur et l'épaisseur moyenne de ces épines seraient néanmoins augmentées chez les HRM (Rogers et al. 2013). Une autre étude montre une faible diminution de la densité des épines dendritiques dans l'hippocampe d'animaux HRM adultes (Ventruti et al. 2011). Une supplémentation in vivo de la protéine reelin par injection stéréotaxique répétée durant 5 jours dans les ventricules cérébraux des souris HRM adultes restaure partiellement les différences morphologiques sans modifier la densité au stade adulte (Figure 37).



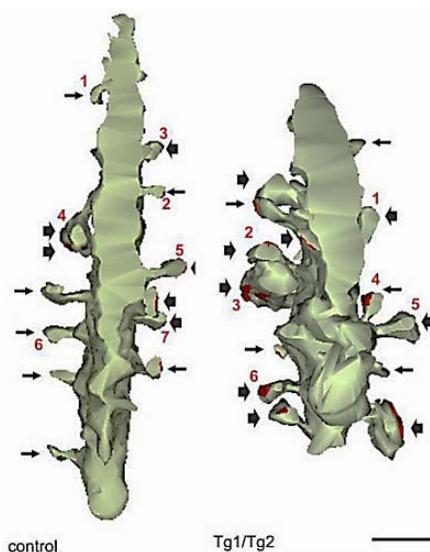
**Figure 37: Rôle de la reelin sur la morphologie des épines dendritiques.**

La longueur et la largeur des épines dendritiques sont supérieures en moyenne chez les animaux HRM (noir) comparés aux animaux sauvages (gris) dans la région CA1. Un traitement à la reelin diminue ces différences chez les animaux HRM (blanc).

Adapté de Rogers et al. 2013.

Paradoxalement, ce même protocole d'injection de protéine reelin sur des souris sauvages de 4 mois induit une augmentation de la densité des épines dendritiques (Rogers, Rusiana, Trotter, Zhao, Donaldson, Pak, Babus, Peters, Banko, Chavis, W. G. Rebeck, et al. 2011). Ces données indiquent que la supplémentation en reelin recombinante a des effets différents sur les animaux HRM et sauvages. Ainsi, l'insuffisance en reelin induirait une diminution des épines dendritiques chez les animaux juvéniles alors qu'elle induirait plutôt des changements morphologiques au stade adulte (Rogers et al. 2013; Ventruti et al. 2011).

Il a également été montré que la surexpression de la reelin sous le contrôle du promoteur *CAMKII $\alpha$*  augmente la taille des épines et le nombre d'épines à multiple contact (Figure 38) (Pujadas et al. 2010). De façon surprenante, ces effets sont inversés une semaine après l'arrêt de la surexpression de reelin. La reelin pourrait donc induire des changements morphologiques transitoires et interviendrait dans la genèse et le maintien des synapses.



**Figure 38 : La surexpression de reelin dans l'hippocampe induit un élargissement des épines dendritiques.**

Après reconstruction tridimensionnelle des images acquises en microscopie électronique, les analyses montrent que les dendrites de CA1 présentent un élargissement des épines et une augmentation des contacts synaptiques (rouge) lors de la surexpression de reelin (droite) comparé aux souris contrôles (gauche).

Calibration : 1µm. Adapté de Pujadas et al. 2010.

En conclusion, ces modifications observées suggèrent qu'un niveau constitutif de reelin endogène est nécessaire pour le maintien morphologique et la stabilisation des épines dendritiques.

La localisation et les effets de la reelin au niveau synaptique (Rodriguez et al. 2000), ainsi que l'interaction entre les récepteurs de la reelin et le récepteur au glutamate de type NMDA indiquent l'existence d'une régulation fonctionnelle des synapses excitatrices par la reelin (Herz & Chen 2006).

### 6.7. Rôle dans la physiologie synaptique

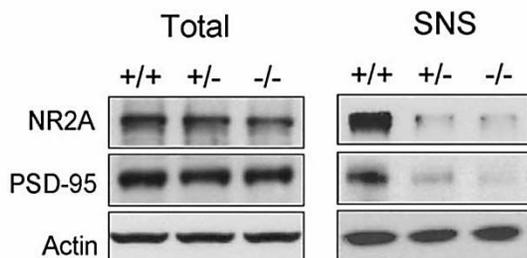
Bien que les taux d'expression de la protéine reelin diminuent après la première semaine postnatale chez le rongeur (Alcántara et al. 1998; Sinagra et al. 2005), son expression persistante aux stades postnatal précoce et adulte laisse penser qu'elle joue un rôle dans l'activité des réseaux neuronaux (Lakatosova & Ostatnikova 2012; Folsom & Fatemi 2013; Stranahan et al. 2013). Les principaux effecteurs de la reelin tels que les récepteurs ApoER2 et VLDLR ainsi que la protéine d'adaptation Dab1 sont eux aussi conservés au cours du développement et impliqués dans les réarrangements morphologiques et fonctionnels durant le développement postnatal (Herz & Chen 2006).

Outre le rôle de la reelin au niveau de la morphologie synaptique, ses fonctions s'étendent à la physiologie synaptique. Une étude récente montre que la reelin est essentiel pour établir et maintenir l'identité moléculaire des compartiments dendritiques distaux de neurones pyramidaux corticaux. Cette étude montre que la signalisation reelin est requise pour l'enrichissement en canaux HCN1 et GIRK1 dans les dendrites touffes distales des neurones pyramidaux de CA1 dans l'hippocampe et de la couche V du néocortex, où ces canaux filtrent activement les entrées ciblant ces domaines dendritiques. La reelin régulerait donc les propriétés d'intégrations synaptiques des épines dendritiques selon leur localisation dans le comportement proximal ou distal des dendrites (Kupferman et al. 2014). De plus, la reelin régule l'expression des

NMDAR et AMPAR à la synapse, modifie la composition en sous-unités des NMDAR, influence l'activité des NMDAR via des phosphorylations et module la plasticité synaptique.

### 6.7.1. Régulation de la transmission glutamatergique

La supplémentation en protéine reelin favorise la réduction du nombre de synapses silencieuses en augmentant l'amplitude des réponses spontanées de type AMPA. De plus, le ratio des courants AMPA/NMDA est augmenté en présence de reelin (Qiu & Weeber 2007). Au contraire, le blocage des récepteurs à la reelin induit une augmentation de synapses silencieuses (Qiu & Weeber 2007). Une insuffisance en reelin endogène chez les animaux HRM induit une altération de l'expression des protéines synaptiques mesurée par western blot à des stades précoces (P21-P32). Le taux de la sous-unité GluN2A est diminué uniquement au niveau des synaptoneurosomes alors qu'il reste inchangé dans le tissu hippocampique total (Figure 39) (Niu et al. 2008). Entre 6 à 16 semaines de vie postnatale, l'expression totale des sous-unités des NMDAR et des sous-unités des AMPAR restent inchangée dans la région CA1 des animaux HRM comparés aux animaux sauvages (Qiu, Zhao, et al. 2006). Au contraire, une autre étude montre une diminution drastique des protéines synaptiques au stade adulte chez les animaux HRM (Ventruti et al. 2011). La protéine PSD95 serait diminuée de 50% dans l'hippocampe des animaux HRM adultes comparé aux animaux contrôles. La diminution de cette protéine de la densité post-synaptique est corrélée avec une réduction dramatique de la sous-unité GluN2A et plus modérée pour la sous-unité GluN2B au niveau des fractions post-synaptique (Ventruti et al. 2011). Enfin, une dernière étude chez les animaux HRM montre une surexpression des GluN2A et GluN2B au stade juvénile et au stade adulte dans l'hippocampe total sans modification de la transcription des ARNm des différentes sous-unités (Isosaka et al. 2006). L'ensemble de ces données montre des résultats opposés mais indique tout de même que l'insuffisance en reelin induit des modifications de la composition et de l'expression des NMDAR au cours du développement.



**Figure 39: Impact de la reelin sur l'expression des protéines synaptiques.**

L'insuffisance en reelin réduit l'expression synaptique (droite) de la sous unités GluN2A et de la protéine PSD95 dans l'hippocampe. Adapté de Niu et al., 2008.

Au laboratoire, nous avons apporté la première preuve du rôle de la reelin dans le contrôle de la composition en sous-unités des NMDAR au cours de la maturation in vitro des neurones d'hippocampe (Sinagra et al. 2005; C. G. Campo et al. 2009). Grâce à des enregistrements de courants évoqués par

l'application de NMDA, nous avons montré que la reelin régule la proportion de récepteurs contenant la sous-unité GluN2B au niveau des courants somatiques NMDA. Cette régulation par la reelin s'effectue au cours de la maturation *in vitro* de manière bidirectionnelle. En effet, l'inhibition de l'activité de la reelin, soit par traitement chronique avec CR50 soit avec un antisens anti-reelin, bloque la diminution de la sensibilité des courants NMDA à l'ifenprodil. A l'inverse, un traitement chronique avec de la reelin recombinante ou naturellement sécrétée accélère la maturation des NMDAR. Le traitement chronique de neurones d'hippocampe avec des inhibiteurs de la voie classique de signalisation reelin bloque le changement de composition et montre que l'effet de la reelin passe par les récepteurs ApoER2 et VLDLR et des SFK au niveau somatique (Sinagra et al. 2005). Le contrôle de la maturation des NMDAR par la reelin est également observé au niveau du compartiment synaptique sur des neurones d'hippocampe *in vitro* (Laurent Groc et al. 2007) et en tranches (Qiu & Weeber 2007). Contrairement aux effets somatiques, nous avons montré que l'effet de la reelin sur les NMDAR synaptiques passe par l'intermédiaire des récepteurs de la famille des intégrines contenant la sous-unité  $\beta 1$  (Laurent Groc et al. 2007). Nous avons montré que la reelin met en jeu un mécanisme original et contrôle la mobilité de surface des GluN2B-NMDAR dans l'hippocampe *in vitro*. La mobilité latérale des récepteurs du glutamate modulerait le nombre de récepteurs synaptiques (Borgdorff & Choquet 2002; Tovar & Westbrook 2002; Groc et al. 2004), ainsi que leur composition en sous-unités (Groc et al. 2006). L'inhibition de l'activité de la reelin provoque une diminution de la mobilité de surface des GluN2B-NMDAR, tandis que leur temps de résidence à la synapse augmente. Inversement, l'application de reelin recombinante réduit considérablement le temps passé par les sous-unités GluN2B dans les synapses (Laurent Groc et al. 2007).

D'autres groupes ont montré que la reelin induit une diminution de la sous-unité GluN2B au niveau synaptique. La supplémentation chronique en reelin recombinante induit une diminution de l'expression des GluN2B évaluée par et il a été montré que la reelin induit en parallèle une augmentation de la sous-unité GluN2A au niveau des synapses glutamatergiques de CA1 (Qiu & Weeber 2007). Un autre groupe a récemment montré que la surexpression *in vivo* de la reelin induit une diminution de la proportion de la sous-unité GluN2B au niveau des synapses de CA1 chez des animaux adultes comparés aux animaux contrôles et prévient l'augmentation des réponses de type GluN2B-NMDAR induite par l'injection de corticostérone (Teixeira et al. 2011).

La reelin agirait donc au cours du développement pour modifier la composition des NMDAR et de façon plus générale pour favoriser la maturation synaptique.

### **6.7.2. Régulation de la phosphorylation des iGluR**

L'application de reelin sur des courants évoqués excitateurs augmente de manière rapide et prolongée l'amplitude des réponses de type NMDA puis avec un certain délai augmente les réponses de type AMPA (Qiu et al. 2006b). Les effets de la reelin sur les AMPAR et NMDAR mettent en jeu différentes voies de signalisation. L'augmentation de l'amplitude des courants NMDA par la reelin serait due à la phosphorylation des sous-unités GluN2A et GluN2B par les SFK, sans insertion de récepteurs à la synapse. L'augmentation des réponses AMPA serait due à une augmentation de l'insertion des AMPAR au niveau postsynaptique induit par la voie PI3K (Qiu, Zhao, et al. 2006).

La reelin stimule l'activité des SFK via ses récepteurs et Dab1. En effet, la reelin induit la phosphorylation des NMDAR et potentialise les entrées calciques (Chen et al. 2005). Les réponses de type NMDA sont augmentées après application de la reelin et cet effet est annulé en absence de l'exon 19 d'ApoER2 (Beffert et al. 2005; Laurent Groc et al. 2007). L'interaction entre ApoER2 et les NMDAR permettrait donc la phosphorylation de ces derniers.

Après l'application de reelin, les taux d'expression des sous-unités GluN2A et GluN2B à l'état phosphorylé sont augmentés (Qiu et al. 2006b). Cette synthèse protéique serait due à la translocation nucléaire du facteur de transcription CREB (cAMP response element-binding protein) activée par l'augmentation du calcium intracellulaire résultante de l'activation des NMDAR (Chen et al. 2005). Une étude récente montre que l'activation conjointe des NMDAR et des récepteurs à la reelin ApoER2 déclenche le clivage protéolytique du domaine intracellulaire d'ApoER2 (ApoER2-ICD). Ce domaine est libéré de la membrane et transloqué vers le noyau où il prend part à la régulation de l'expression génique, en interagissant avec des facteurs de transcription tels que CREB et d'autres gènes impliqués dans les processus d'apprentissage et de mémoire (Telese et al. 2015).

L'ensemble de ces études montre que la reelin favorise la probabilité d'ouverture des NMDAR et permet l'insertion des AMPA-R à la membrane.

### **6.7.3. Reelin et modifications pré-synaptiques**

Le reelin joue un rôle indéniable dans la maturation au niveau post-synaptique sur la croissance dendritique, la morphologie des épines dendritiques et l'expression des AMPAR et NMDAR. Récemment, il a été montré qu'elle interviendrait aussi au niveau pré-synaptique sur la libération de neurotransmetteur. Le nombre de boutons synaptiques dans la région CA1 de l'hippocampe n'est pas modifié chez les animaux reeler mais le nombre de vésicules par bouton est significativement augmenté (Hellwig et al. 2011). De même, l'incubation de l'anticorps CR-50 bloqueur de fonction de la reelin, induit une augmentation du

nombre de vésicules par bouton axonal chez les animaux sauvages. A l'inverse, l'incubation de reelin sur des tranches organotypiques d'hippocampe issus de souris reeler diminue le nombre de vésicules par bouton présynaptique. Lors de la perte de fonction reelin, l'accumulation de vésicules synaptiques serait dû à une perturbation de la machinerie de fusion des vésicules impliquant les intégrines et une protéine de fusion membranaire, SNAP25 (Hellwig et al. 2011). Lors de stimulations pairées à forte intensité séparées par un laps de temps très court, une dépression est causée par une exocytose massive lors du premier pulse et une fatigue de la machinerie lors du deuxième pulse. La surexpression de reelin empêche l'induction de cette dépression en permettant de répondre plus efficacement à des stimulations répétées de forte intensité. La reelin favoriserait la fusion des vésicules mais les mécanismes impliqués dans ce phénomène restent cependant inexplicables (Pujadas et al. 2010).

#### **6.7.4. Rôles de la reelin dans la plasticité synaptique**

Dès 1894, Cajal proposa que «les associations déjà établies parmi certains groupes de cellules seraient significativement renforcées par la multiplication des petites branches terminales de l'arborisation dendritique et des collatérales axonales». Le concept de plasticité morphologique était alors énoncé. Après l'émergence du concept de synapses par Charles Scott Sherrington en 1897, Donald Hebb proposa la théorie du renforcement synaptique lors de l'activation synchrone du neurone présynaptique et de l'élément postsynaptique (Morris 1999). Lorsque le renforcement augmente la force de la connexion, on parle de potentialisation de la transmission synaptique. Au contraire si le renforcement est négatif on parle de dépression synaptique. Cette plasticité hebbienne fut prouvée par Bliss et Lomo en 1973 par stimulation de la voie perforante induisant in vivo dans l'hippocampe une potentialisation à long terme (LTP) de la transmission synaptique.

Depuis, les différentes formes de plasticité synaptique ont été extensivement étudiées (pour revue Citri & Malenka 2007). Nous avons par exemple, étudié la plasticité dépendante des NMDAR dans le PFC des animaux HRM. Cette forme de plasticité synaptique a premièrement été étudiée en relation aux récepteurs aux lipoprotéines qui lient la reelin. L'incubation de reelin ne modifie pas la transmission excitatrice basale mais favorise la LTP après un tétanus électrique. Plusieurs études suggèrent que l'action positive de la reelin sur la LTP intervient grâce l'interaction entre les récepteurs ApoER2 et NMDA-R (Weeber et al. 2002; Beffert et al. 2005). Cette incubation aigue durant le protocole de stimulation indique que la reelin et le tétanus agissent en synergie pour promouvoir la LTP. Cette LTP est dépendante des récepteurs NMDA activés durant le tétanus et nous avons vu précédemment que la reelin module l'activité des récepteurs NMDA (Morris et al.; Chen et al. 2005). L'induction de la LTP a aussi été testée dans l'hippocampe des animaux HRM. Après induction de stimulations à haute fréquence (HFS), aucune différence n'est observée sur la magnitude des réponses et le déclin de la LTP entre les animaux sauvages et HRM. Cependant après

stimulations thêta burst (TBS), une réduction de la potentialisation est observée (Qiu et al. 2006). A l'inverse, la surexpression ou la supplémentation de reelin favorise la magnitude de la LTP induite dans l'hippocampe ex vivo et in vivo (Pujadas et al. 2010; Rogers et al. 2011; Rogers et al. 2013). Le protocole de stimulation téτανique utilisé semble influencer sur les différences observées. Un protocole à haute fréquence induit de faibles changements alors qu'un protocole de TBS induit une différence significative de la LTP en présence de reelin exogène ou en cas d'insuffisance de reelin (Weeber et al. 2002; Qiu et al. 2006). Le protocole TBS induit aussi une diminution plus prononcée en cas de blocage ou de délétion des récepteurs. Le patron de stimulation serait donc déterminant pour l'action de la reelin dans ces processus. La plasticité synaptique dépendante des NMDAR est bidirectionnelle. Des stimulations à basse fréquence dans l'hippocampe peuvent induire une dépression de la transmission synaptique (Mulkey et al. 1993). Cette dépression dépendante des NMDAR est complètement abolie chez les animaux hétérozygotes dans l'hippocampe (Qiu et al. 2006b) et la supplémentation de reelin permet de restaurer cette plasticité (Rogers et al. 2013).

En conclusion, la reelin influence la gamme de la plasticité synaptique dépendante des NMDAR dans l'hippocampe. Cependant, le rôle de la reelin dans la plasticité des synapses GABAergiques ou les synapses d'autres structures cérébrales telles que le PFC, est jusqu'à présent inconnu.

## **6.8. Comportements liés à la reelin**

Le rôle physiologique de la reelin au cours du développement postnatal est principalement centré au niveau synaptique. La manipulation des taux de reelin induit des modifications de la morphologie des épines dendritiques (Liu et al. 2001; Niu et al. 2004 et 2008; Pujadas et al. 2010; Ventruti et al. 2011b; Rogers et al. 2011; Rogers et al. 2013), des récepteurs glutamatergiques excitateurs (Qiu, Zhao, et al. 2006; Qiu & Weeber 2007; Ventruti et al. 2011b), particulièrement des récepteurs de type NMDA (Chen et al. 2005; Beffert et al. 2005; Sinagra et al. 2005; Isosaka et al. 2006; Laurent Groc et al. 2007; G. C. Campo et al. 2009; Teixeira et al. 2011). Le compartiment présynaptique est lui aussi modifié en fonction des taux de reelin (Pujadas et al. 2010; Sabine Hellwig et al. 2011). Ces cibles cellulaires pourraient contribuer au rôle facilitateur de la reelin sur la plasticité synaptique (Weeber et al. 2002; Beffert et al. 2006; Qiu & Weeber 2007; Pujadas et al. 2010; Rogers et al. 2011 et 2013).

Le contrôle précis de la force synaptique est indispensable pour les fonctions physiologiques du cerveau. La plasticité synaptique semble être le principal substrat cellulaire à la base des processus mnésiques (Pour revue Kandel 2001). De plus, l'apprentissage et l'expérience ont la capacité de modifier les réponses comportementales. Il semblerait également qu'une altération de la plasticité des synapses pourrait participer aux troubles du comportement. En effet, une réduction de la gamme de plasticité synaptique a été retrouvée

dans différents modèles murins d'autisme ou de retard mental (Sidorov et al. 2013; Cramer & Galdzicki 2012).

Nous avons vu que la reelin est indispensable à la maturation correcte des synapses ainsi qu'à la plasticité des réseaux neuronaux. Quelle est par conséquent son action au niveau de la cognition et du comportement ?

### **6.8.1. Evaluation des paramètres généraux et de l'anxiété**

Les animaux hétérozygotes reeler (HRM) ne présentent pas de perturbation de l'activité locomotrice évaluée par le test rotarod ou par la distance parcourue en open-field (Qiu et al. 2006; Krueger et al. 2006; Teixeira et al. 2011). La sensibilité à la douleur des animaux HRM semble inchangée par rapport aux animaux contrôles (Qiu et al. 2006). Les comportements anxieux et dépressifs évalués par mesure du temps passé dans un compartiment sombre ou éclairé et dans le test de nage forcée, respectivement, semblent être identique entre les animaux HRM et contrôles (Qiu et al. 2006; Teixeira et al. 2011). Plusieurs études ont observé une diminution non significative du nombre d'entrée et du temps passé dans les bras ouverts d'un labyrinthe en croix surélevé chez les HRM (Tueting et al. 1999; Qiu et al. 2006; Krueger et al. 2006). Ces données suggèrent une susceptibilité à l'anxiété chez les HRM entre 7 semaines et 3 mois d'âge. Il est à noter qu'avant 7 semaines, les HRM passent significativement plus de temps dans les bras ouverts comparé aux souris sauvages (Ognibene et al. 2007).

La surexpression de reelin prévient les comportements anxieux et de résignation. Les animaux transgéniques surexprimant la reelin passent plus de temps dans le compartiment éclairé comparés aux souris sauvages. Après injection de corticostérone, les souris sauvages présentent une immobilité accrue dans le test de nage forcée synonyme de résignation alors que les animaux surexprimant la reelin sont comparables aux animaux non injectés dans ce test. Cependant, le modèle de supplémentation par injection de reelin dans les ventricules cérébraux chez des animaux sauvages âgés de 4 mois ne montre pas de modification du temps passé dans les différents compartiments de l'open field ou d'un labyrinthe en croix surélevé (Rogers et al. 2011).

### **6.8.2. Adaptations des réponses sensorimotrices**

Les réponses réflexes nécessitent un traitement rapide des informations sensorielles pour déclencher une réponse motrice. Pour évaluer cette capacité de traitement, des réponses réflexes sont induites par un stimulus auditif violent et inattendu qui déclenche une réaction réflexe de sursaut. Des déficits d'adaptation de ces réponses réflexes est une caractéristique de diverses pathologies psychiatriques affectant les structures limbiques et le circuit cortico-striato-thalamique notamment impliqué dans la schizophrénie. Pour

évaluer les capacités d'adaptation de ces réponses, un son d'intensité moindre est induit précédemment au premier stimulus avec un délai de l'ordre d'une centaine de millisecondes, la réponse de sursaut est normalement diminuée chez un sujet sain, ce phénomène d'adaptation est appelé pre-pulse inhibition (PPI). Ce test constitue donc une lecture comportementale du filtrage, de l'intégration et du traitement des informations sensorielles utilisé aussi bien chez l'humain (Braff et al. 2001) que chez les modèles animaux (Geyer et al. 2002).

La magnitude du PPI n'est pas modifiée chez les HRM. Cependant les souris HRM ne semblent pas adapter leurs réponses comportementales dans le test de PPI car la diminution du sursaut est moindre comparé à celle des animaux contrôles (Tueting et al. 1999; Costa et al. 2002; Qiu et al. 2006; Barr et al. 2008). Un traitement méthionine induisant une hyperméthylation du promoteur reelin et donc une réduction de l'expression protéique, diminue aussi l'inhibition de la réponse (Tremolizzo et al. 2005). Ces multiples études démontrent que les souris HRM présentent un déficit d'adaptation des réponses sensorimotrices. Une étude a remis en cause la validité des résultats obtenus sur la diminution de l'adaptation sensorimotrice chez les animaux HRM. Ce groupe n'a observé aucune différence dans le test de PPI (Podhorna & Didriksen 2004).

### **6.8.3. Mémoire, apprentissage et cognition**

Les souris hétérozygotes reeler ne présentent pas d'altération de la mémoire spatiale évaluée par leur performances à atteindre et retrouver la plate-forme dans le test de la piscine de Morris (Qiu et al. 2006; Krueger et al. 2006). Cependant, la supplémentation de reelin chez des souris sauvages âgées de 4 mois favorise la mémoire spatiale dans cette tâche (Rogers et al. 2011).

Dans un paradigme de conditionnement de peur, les souris hétérozygotes reelin expriment des réponses similaires aux animaux contrôles durant l'acquisition. Cependant lors du test de rétention 24h plus tard dans le même contexte que l'acquisition, les HRM expriment des réponses d'immobilisation inférieures comparés aux souris sauvages (Qiu et al. 2006). Les déficits observés dans lors du rappel de la mémoire de peur chez les HRM impliqueraient les récepteurs ApoER2 et VLDLR. En effet, la délétion d'un des deux récepteurs ApoER2 ou VLDLR induit une rétention diminuée 24h après l'acquisition (Weeber et al. 2002). Un effet similaire est observé en absence de l'exon 19 du récepteur ApoER2 (Beffert et al. 2006). La supplémentation de reelin chez des souris sauvages augmente les réponses de peur contextuelle lors du test de rappel 24h et 72h après l'acquisition (Rogers et al. 2011). De façon remarquable, les taux d'ARNm reelin augmentent de 70% seulement une heure après un conditionnement de peur chez des animaux contrôles (Miller & Sweatt 2007). La reelin pourrait donc être exprimée transitoirement via des mécanismes de régulation épigénétiques et permettrait de soutenir les processus mnésiques.

Dans un autre test d'apprentissage associatif, la surexpression de la reelin induit une augmentation des réponses comportementales durant l'acquisition d'un conditionnement pavlovien de reflexe palpébral. Cette augmentation des réponses conditionnées est corrélée avec une potentialisation accrue des réponses synaptiques enregistrées dans CA1 in vivo durant le test comportemental (Pujadas et al. 2010). Les réponses synaptiques et comportementales restent élevées plusieurs jours malgré les sessions d'extinction chez les animaux surexprimant la reelin suggérant un rôle de la reelin dans la stabilité de la mémoire (Pujadas et al. 2010).

Différents paradigmes permettent d'évaluer les fonctions exécutives chez les rongeurs. Par exemple, un apprentissage inverse permet d'évaluer l'adaptation comportementale et le contrôle cognitif. Les HRM présentent des performances plus faibles lors d'un apprentissage inversé (Brigman et al. 2006). Cependant, les HRM ne présentent pas d'altérations majeures dans la plupart des tests de mémoire de travail, d'attention et de contrôle inhibiteur (Krueger et al. 2006; Ognibene et al. 2007). On peut tout de même remarquer que l'apprentissage préalable des HRM est légèrement diminué dans plusieurs de (Krueger et al. 2006). Par exemple, ces souris présentent une acquisition plus lente pour une tâche de discrimination olfactive sans perturbation lors du rappel de la mémoire (Larson et al. 2003).

Les performances des actions dirigées vers une récompense sont diminuées chez les HRM (Krueger et al. 2006). De même, l'exploration d'un nouvel objet est diminuée chez ces animaux (Salinger et al. 2003; Ognibene et al. 2007). Ces résultats comportementaux peuvent être expliqués par une altération du circuit de récompense chez les souris HRM (Ballmaier et al. 2002). L'administration répétée de cocaïne induit un phénomène de sensibilisation locomotrice qui est réduit chez les animaux surexprimant la reelin (Teixeira et al. 2011).

De nombreuses études ont porté sur le rôle de la reelin dans l'hippocampe et ses comportements associés. Cependant, le rôle de la reelin sur le développement fonctionnel du PFC n'a été que peu exploré par des approches comportementales. Une seule étude a évalué les performances cognitives après extinction de la protéine par interférence dans le PFC de rat (Brosda et al. 2011). L'extinction de la reelin au stade pubertaire (P50-60) ou adulte (P100-110) induit une forte diminution du test de PPI. Des déficits de la mémoire de travail et de la reconnaissance d'objet sont aussi observés chez les rats au stade pubertaire (Brosda et al. 2011).

L'ensemble de données bibliographiques présentées dans ce chapitre donne un aperçu sur les rôles physiologiques pléiotropes de la reelin. Dans le prochain chapitre, je parlerai des études qui ont permis d'établir un lien entre reelin et étiologie de certaines maladies psychiatriques. Je discuterai également de l'implication du PFC et du l'isolement social dans la physiopathologie de ces maladies.

## IV. MALADIES PSYCHIATRIQUES

La présence d'anomalies au niveau des synapses du PFC est une constante dans les maladies psychiatriques (Casanova 1997; Drevets 2000; Glantz & Lewis 2000). En parallèle, un retrait social et une réduction des taux de reelin sont observés chez des patients atteints de maladies psychiatriques. D'autres pathologies sont liées à la perturbation de la signalisation reelin et/ou des interactions sociales, on peut notamment citer la lissencéphalie (Hong et al. 2000) et la maladie d'Alzheimer (Tissir et Goffinet 2003; Knuesel 2010) et l'épilepsie (Dazzo et al. 2015).

Nous allons succinctement décrire l'étiologie et certains symptômes de l'autisme, la dépression et la schizophrénie en donnant quelques arguments en faveur d'une implication du PFC, la reelin et l'isolement social dans le développement de ces maladies psychiatriques.

### 1. L'autisme

L'autisme est un désordre neurodéveloppemental caractérisé par une altération de la cognition sociale, de faibles capacités de communication, des comportements répétitifs et des intérêts restreints et focalisés (Geschwind et Levitt 2007). Les patients atteints d'autisme ont une réduction importante de leurs interactions sociales et une incapacité à détecter les intentions d'autrui (Yoshida et al. 2010).

Bien que l'étiologie des troubles autistiques est hétérogène, l'altération des connexions corticales est une hypothèse majeure (pour revue Geschwind Levitt 2007). Une diminution de la connectivité évaluée par IRM fonctionnelle entre différentes structures dont le PFC est corrélée avec la sévérité des déficits de communication et la réduction des interactions sociales (Assaf et al. 2010). De plus, certaines protéines impliquées dans les troubles autistiques pourraient altérer ces connexions. Ces protéines interviennent majoritairement dans la morphologie des épines dendritiques, la transmission et la plasticité synaptique (Durand et al., 2012 ; Raynaud et al., 2013 ; Houbaert et al., 2013 ; Penzes et al., 2012).

La réduction de l'expression de la reelin dans les structures corticales est une constante moléculaire trouvée chez les patients atteints d'autisme (Fatemi 2001 et 2005). De plus, la voie de signalisation reelin serait aussi altérée ; l'ARNm *Dab1* est significativement réduit chez les sujets autistes (Fatemi 2005). L'origine de l'insuffisance en reelin dans l'autisme peut être due à une régulation épigénétique (Persico et al. 2001; Zhang et al. 2002) ou à des mutations génétiques (Aldinger et al. 2011).

## 2. La dépression

La dépression majeure est l'une des maladies psychiatriques les plus fréquentes, elle touche environ 5% de la population globale (OMS., 2012). Le diagnostic de la dépression est caractérisé par des états d'humeur négative, une diminution des émotions positives et une anhédonie (une réduction de la capacité à ressentir du plaisir) qui persistent dans le temps (American Psychiatric Association., 2013). Une caractéristique de la pathologie est le rappel constant d'expériences négatives (Nolen-Hoeksema 2000) et un comportement de retrait social (Cacioppo et al. 2015a). Elle présente également une forte comorbidité avec les troubles anxieux (Mineka et al. 1998). De plus, les patients dépressifs présentent des déficits des fonctions exécutives notamment une perturbation de l'attention, de la mémoire de travail et de la prise de décision (Southwick et al. 2005; Fales et al. 2008; Beevers et al. 2010; Disner et al. 2011; Murrough et al. 2011).

La mPFC est impliqué dans ces fonctions cognitives supérieures et fournit un contrôle « top-down » sur les circuits émotionnels et sociaux (Clarke & Currie 2009; Murrough et al. 2011; Treadway & Zald 2011). Ceci suggère que le mPFC joue un rôle crucial dans les déficits affectifs, cognitifs et sociaux associés à la dépression. En effet, les états dépressifs sont liés à des perturbations de morpho-fonctionnelles dans le mPFC (Riga et al. 2014). Les patients dépressifs présentent des altérations de la morphologie neuronale au niveau des structures reliées au mPFC telles que le lobe temporal, le striatum, le thalamus (Price & Drevets 2010) et l'amygdale (Murray et al. 2011).

Les principaux antidépresseurs régulent la recapture et la dégradation des monoamines telles que la sérotonine, la noradrénaline et la dopamine ce qui suggère une altération des systèmes neuromodulateurs dans la dépression. Par exemple, la capacité de fixation de la sérotonine serait diminuée dans le PFC de patients dépressifs (Savitz et al. 2009). Au cours des dernières années, le panel de thérapies utilisées dans le traitement de la dépression a été élargi avec la stimulation cérébrale profonde (DBS) de la PFC. Ces études récentes ont montré que la stimulation chronique de l'ACC (l'équivalent humain du PLC et ILC rongeurs) (Hamani et al. 2010), corrige les déficits fonctionnels liés à la dépression et réduit les symptômes chez les patients déprimés pharmacorésistants (Mayberg et al. 2005). Les études transrationnelles inverses ultérieures ont confirmé la participation du mPFC dans les réponses de type antidépresseur ; en effet, la stimulation électrique à haute fréquence ou optogénétique dans le PLC de rat atténue la résignation comportementale modélisée dans le test de la nage forcée de Porslt (Hamani et al. 2010). Les performances dans ce test sont censées corrélérer avec les capacités de motivation et d'adaptation active à des environnements difficiles. Le bon fonctionnement du mPFC est nécessaire à la régulation des adaptations comportementales induites par le stress en exerçant un contrôle sur les régions sous-corticales activées par le stress (Amat et al. 2005; Arnsten 2009; Dias-Ferreira et al. 2009; Treadway & Zald 2011).

L'exposition au stress est étroitement associée à l'apparition et le développement de l'état dépressif, et est considéré comme néfaste pour le fonctionnement mPFC. Chez l'Homme comme chez la majorité des vertébrés, les interactions sociales sont la principale source de stress (Backström & Winberg 2013). Les souris ayant subi un stress de défaite sociale chronique par exemple, présentent une augmentation du comportement d'évitement social corrigée que la DBS chronique dans le PLC (Veerakumar et al. 2014). Un stress sévère chez l'Homme peut conduire aux symptômes dépressifs et induire un comportement de retrait social et une réduction de la densité synaptique dans le PFC (Figure 69) (Cacioppo et al. 2015a; McEwen & Morrison 2013).

L'hypothèse neurotrophique de l'étiologie de la dépression repose sur l'atrophie dendritique observée dans le PFC et l'hippocampe, sur les effets des traitements antidépresseurs régulant la neurogénèse et les taux de BDNF ainsi que sur la réduction des taux de BDNF chez des patients dépressifs (pour revue Duman et Li 2012). Depuis un certain nombre d'années, on sait que le BDNF régule l'expression de la reelin (Ringstedt et al. 1998). Une réduction des taux de reelin a été observée chez des patients atteints de dépression (Fatemi et al. 2001b; Torrey et al. 2005) et serait due à une perturbation de la régulation épigénétique (Folsom & Fatemi 2013). Cette hypothèse neurotrophique a aussi été impliquée dans la schizophrénie (pour revue Bellon et al. 2011).

### **3. La schizophrénie**

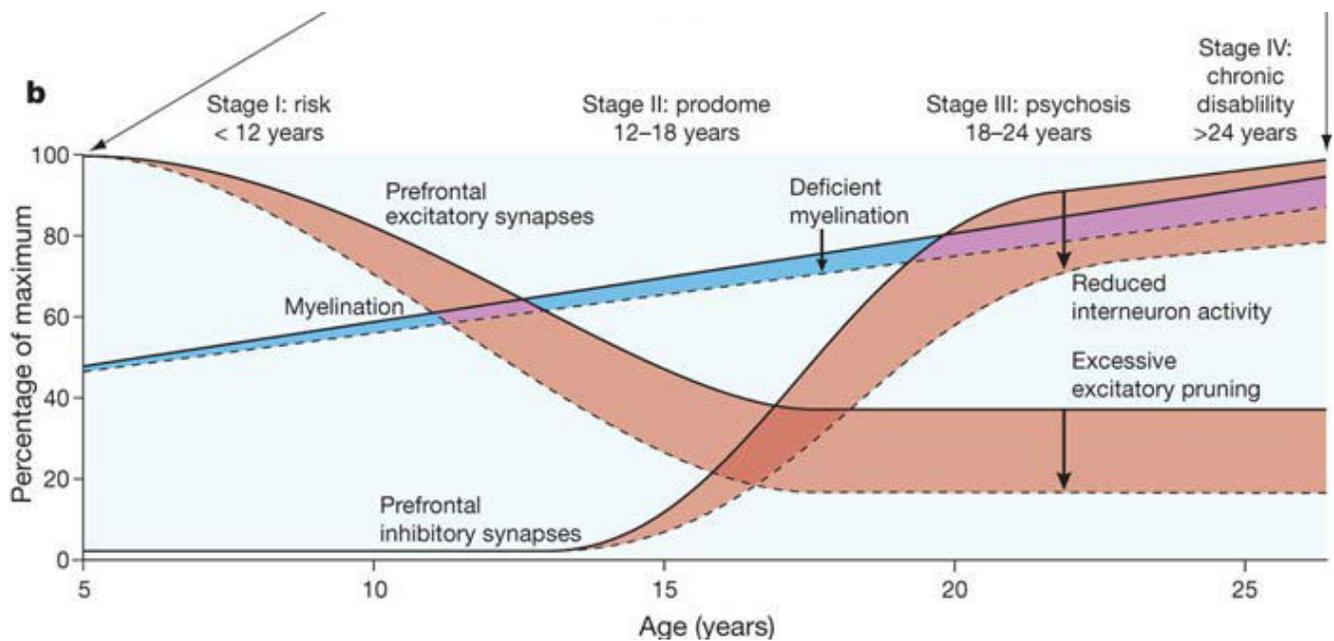
La schizophrénie est un trouble mental sévère et chronique qui touche environ 1% de la population mondiale. Plusieurs formes de schizophrénie peuvent être distinguées ; le manuel de diagnostic et de statistiques des troubles mentaux (DSM) répertorie quatre types de schizophrénie : paranoïde, désorganisée, catatonique et indifférenciée. Cette classification découle du fait que cette maladie psychiatrique est caractérisée par un spectre de symptômes interindividuels très hétérogène.

Malgré leur grande variabilité, les symptômes des schizophrénies peuvent être tout de même classés en : symptômes positifs (psychose, hallucinations, délires...), symptômes négatifs (affect émoussé, perte de plaisir, manque de motivation...) et déficits cognitifs. Ces derniers peuvent inclure un discours incohérent, une désorganisation du comportement, une catatonie, un manque de motivation pour la réalisation d'actions dirigées vers un but et des altérations de la mémoire de travail, de l'attention, de l'inhibition comportementales, et des interactions sociales (American Psychiatric Association., 2013 ; Walker et al. 2004). Les premiers symptômes de cette maladie psychiatrique apparaissent généralement entre la fin de l'adolescence et le début de l'âge adulte (entre 15 et 25 ans). Il semblerait que les déficits cognitifs précèdent l'apparition des épisodes psychotiques (Cannon et al. 2000). Les symptômes psychotiques

s'accroissent et leur fréquence augmente tout au long de la vie ce qui fait de la schizophrénie une maladie chronique progressive très handicapante.

L'étiologie de la maladie serait aussi diverse que les symptômes. Elle impliquerait la conjonction de facteurs de prédisposition génétiques et/ou environnementaux qui favorisent un terrain de vulnérabilité à d'autres facteurs de risque survenant plus tard dans la vie. La schizophrénie est classée dans les maladies multigéniques. En effet, différentes régions chromosomiques et polymorphismes d'ADN ont été associées à la schizophrénie, et ont permis d'identifier des gènes candidats (Kukshal et al. 2012). Il a été proposé que les différents gènes impliqués convergent vers un rôle fonctionnel commun, à savoir, le développement et la stabilisation des circuits corticaux en relation avec différents systèmes de neurotransmission tels que les transmissions glutamatergique et GABAergique et la neuromodulation dopaminergique (Harrison & Weinberger 2005). Certains de ces gènes sont impliqués dans le développement cérébral comme DISC1 et la reelin (Miyoshi et al. 2003; Jossin et Cooper 2011). Ces indices et l'apparition tardive des symptômes ont amené les chercheurs à repenser la schizophrénie comme étant un désordre neurodéveloppemental (Lewis & Levitt 2002; Insel 2010). De plus, plusieurs symptômes semblent être liés à des altérations de fonctions dépendantes du PFC (Lewis 2009), l'une des structures cérébrales qui mûrit le plus tardivement (Gogtay et al. 2004).

L'apparition des symptômes coïncide avec deux des derniers processus neurobiologiques de la maturation postnatale du PFC (Figure 40) : l'élimination des synapses glutamatergiques surnuméraires et l'augmentation de la force de la transmission GABAergique (de Graaf-Peters et Hadders-Algra 2006; Insel 2010). L'élimination synaptique serait excessive dans la schizophrénie (Figure 40) (Pezzes & Remmers 2012). En effet, les études post-mortem chez des patients schizophrènes ont révélé une diminution du nombre d'épines dendritiques des neurones pyramidaux du PFC (Glantz & Lewis 2000). Par ailleurs, une diminution généralisée des acteurs du système GABAergique a été décrite dans le PFC de patients schizophrènes (Pour revue Gonzalez-Burgos et Lewis 2008; Volk et al. 2000). En particulier, trois gènes exprimés dans les neurones GABAergiques ont une transcription et une expression protéique fortement diminuées dans la schizophrénie : l'enzyme GAD67, la parvalbumine et la reelin (Torrey et al. 2005; Knable et al. 2001).



**Figure 40 : Le modèle neurodéveloppemental de la schizophrénie.**

Les déficits chez les enfants qui développeront plus tard une schizophrénie pourraient inclure une réduction de la force des synapses inhibitrices et l'élimination excessive des synapses excitatrices, modifiant ainsi la balance excitation-inhibition dans le PFC. Une myélinisation réduite modifierait la connectivité. Bien que des données appuient chacun de ces mécanismes neurodéveloppementaux possibles pour la schizophrénie, un lien direct de cause à effet n'a jamais été établi. La détection des changements neurodéveloppementaux prodromaux pourrait permettre une intervention précoce. D'après Insel., 2010.

L'expression de la reelin est réduite d'approximativement 50% dans le PFC, le cortex temporal, l'hippocampe et le cervelet de patients schizophrènes (Impagnatiello et al. 1998; Fatemi et al. 2000; Fatemi 2005; Costa et al. 2001; Guidotti et al. 2000). Dans le PFC, cette diminution est spécifiquement retrouvée dans les couches superficielles (Impagnatiello et al. 1998). Une altération des taux de reelin a également été révélée dans les troubles bipolaires et les troubles schizo-affectifs associant des symptômes d'un trouble bipolaire (caractérisée par la présence simultanée d'épisodes dépressifs et maniaques) et d'une schizophrénie (Guidotti et al. 2000 ; Fatemi et al. 2000 ; Fatemi. 2001). Les souris HRM qui reproduisent la réduction de 50% des taux d'ARNm et de protéine reelin dans différentes structures du cerveau, incluant le PFC (Tueting et al. 1999), possèdent des caractéristiques anatomiques et fonctionnelles similaires à celles présentes de patients atteints de schizophrénie (Figure 41) (Costa et al. 2001).

Schizophrenia patients	Heterozygote reeler mouse
↑ Dilation of lateral cerebral ventricles (Johnstone <i>et al.</i> 1976; Weinberger <i>et al.</i> , 1995)	Not yet quantified
↑ Cell packing density in frontal cortex (Selomon & Goldman-Rakic, 1999)	↑ Cortical neuronal packing density (Pesold <i>et al.</i> , 1999a)
↓ Neuropil density in frontal cortex (Selomon & Goldman-Rakic, 1999)	↓ Cortical neuropil density (Pesold <i>et al.</i> , 1999a)
↓ Dendritic spine density on layer III pyramidal cells (Glantz & Lewis, 2000)	↓ Dendritic spine density on layer III pyramidal cells (Costa <i>et al.</i> , 2000)
Altered distribution of NADPH-diaphorase positive cells (Akbarian <i>et al.</i> , 1993)	Altered distribution of NADPH-diaphorase cells (Tueting <i>et al.</i> , 1999)
↓ GAD <sub>67</sub> mRNA and protein in frontal cortex (Impagnatiello <i>et al.</i> 1998; Guidotti <i>et al.</i> , 2000)	↓ GAD <sub>67</sub> mRNA and protein levels (Pesold <i>et al.</i> , 1999a)
↓ GAD <sub>67</sub> mRNA positive cells in frontal cortex (Akbarian <i>et al.</i> , 1995; Volk <i>et al.</i> , 2000)	↓ Number of GAD <sub>67</sub> -positive cells in frontal cortex (Pesold <i>et al.</i> , 1999a)
↓ Reelin mRNA and protein in frontal cortex (Impagnatiello <i>et al.</i> , 1998; Guidotti <i>et al.</i> , 2000)	↓ Reelin protein and mRNA levels (Tueting <i>et al.</i> , 1999)
↓ Number of reelin-positive cells (Impagnatiello <i>et al.</i> , 1998; Guidotti <i>et al.</i> , 2000)	↓ Number of reelin-positive cells (Pesold <i>et al.</i> , 1999a)
Disruption of physiological correlation between reelin and GAD <sub>67</sub> (Guidotti <i>et al.</i> , 2000)	Loss of correlation between reelin and GAD <sub>67</sub> levels (Carbonni <i>et al.</i> , 2000)

**Figure 41: Comparaison des altérations anatomiques des patients schizophrènes et des souris HRM.**

D'après Costa *et al.*, 2001

Comme mentionné ci-dessus, l'étiologie de la schizophrénie serait liée à l'interaction de facteurs génétiques et environnementaux. Ce modèle dit de double atteinte stipule que des facteurs génétiques ou environnementaux altèrent le développement du PFC et/ou sa maturation postnatale, ces atteintes précoces produisent une période de vulnérabilité à long terme durant laquelle une seconde atteinte environnementale déclenche la maladie. Les facteurs de risques environnementaux à la schizophrénie incluent les infections virales prénatales, les traumatismes, l'hypoxie, le stress psychologique, l'isolement social ou le sentiment de solitude (Hayley *et al.* 2005; Schinkel 2003; Matthiesen *et al.* 2005).

Les déficits dans le fonctionnement social constituent un marqueur de vulnérabilité à la psychose relativement fiable (Cannon *et al.* 2007). Une étude a trouvé, par exemple, que les adultes atteints de schizophrénie se confiaient rarement quand ils étaient enfants (Matheson *et al.*, 2013). Le retrait social durant l'enfance en particulier, est considéré comme un robuste facteur de risque à la schizophrénie (Olin *et al.* 1995; Cannon *et al.* 2001; Miller *et al.* 2002; Johnstone *et al.* 2005). Il fait partie des symptômes négatifs inhérents de la schizophrénie, et plusieurs chercheurs le considère comme l'un des premiers symptômes à se manifester (Strous *et al.* 2004). De plus, le retrait social contribuerait à l'élaboration de certains symptômes de cette maladie tels que les hallucinations et les délires qui portent une valence sociale ; en effet, un retrait social sévère chez les personnes vulnérables peut conduire à l'attribution de fausses significations aux événements et contextes sociaux (Hoffman 2007).

Une étude a également examiné les répercussions à long terme d'un comportement de retrait social chez des jeunes qui plus tard ont développé ou non une schizophrénie ; elle suggère une forte association entre le retrait social durant la période de maturation du PFC et la schizophrénie (Tarbox & Pogue-Geile 2008). Durant la petite et moyenne enfance (4 à 9 ans) cette association est modeste ; toutefois, le retrait social constitue un prédicteur de schizophrénie plus efficace chez les enfants plus âgés (10 à 12 ans) et plus encore chez les adolescents (13 à 17 ans). Une méta-analyse récente a montré que chez des enfants à risque âgés de 9 à 14 ans, le retrait social était un puissant indicateur de vulnérabilité à la schizophrénie quand il est combiné à l'un des facteurs de risques suivant : un épisode psychotique, un retard dans le développement moteur, un retard dans le développement de la parole, des déficits cognitifs, émotionnels, sociaux ou comportementaux ainsi que des antécédents familiaux de schizophrénie (Matheson et al. 2013). Ces résultats combinés aux observations d'autres études suggèrent que le retrait social peut contribuer à, ou être exacerbé par, le développement d'autres symptômes précoces (Hoffman 2007).

Le comportement de retrait social n'est pas la seule cause de diminution d'interactions sociales associée à l'étiologie de la schizophrénie ; l'isolement social constitue une autre variante de ce facteur de risque (Cacioppo et al. 2015a). Chez l'Homme deux formes d'isolement social existent : l'isolement social perçu (ou sentiment de solitude) et l'isolement social objectif (ou réel).

Même si l'isolement social perçu n'est pas un isolement effectif, il est ressenti par les individus qui l'expérimentent comme tel et est définie dans leur psyché en termes de caractéristiques objectives de l'environnement social, tels que l'absence d'un conjoint, des pauvres interactions avec la famille ou les amis proches, et/ou inappartenance à des groupes sociaux (Maison et al., 1988). Des études longitudinales indiquent que le sentiment de solitude est un facteur de risque de morbidité et de mortalité indépendant de l'isolement social objectif et l'état de santé (Heinrich & Gullone 2006; Lasgaard et al. 2011; Meltzer 2013). Alors que le retrait social est souvent considéré comme un symptôme prodromique de la psychose (Cannon et al. 2007; Matheson et al. 2013), il y a un nombre croissant de publications qui suggère que le sentiment de solitude précéderait le retrait social et promouvoir son développement (Shevlin et al. 2014; Hawkey & Cacioppo 2010). Dans une tentative d'expliquer les mécanismes par lesquels le sentiment de solitude impacte la santé mentale, Hawkey et Cacioppo posent le modèle de «boucle de la solitude» qui suggère que les sentiments de solitude déclenchent chez les individus à risque une hyper-vigilance qui à son tour produit des biais cognitifs (par exemple, voir les interactions sociales plus négativement). Ces biais créent dans la psyché de ces individus solitaires des prophéties auto-réalisatrices qui poussent ces individus à se distancer des autres, mais reprochent à leurs potentiels partenaires sociaux leur propre retrait social. De ce fait, ils perçoivent leur isolement social comme étant hors de leur contrôle. Cette «boucle de la solitude» d'auto-renforcement conduit à une augmentation des sentiments d'hostilité, de stress, de pessimisme, et de

faible estime de soi, ce qui peut à son tour activer les mécanismes neurobiologiques et comportementales qui mènent au développement de troubles psychiatriques (Hawkley et Cacioppo 2010).

L'isolement social objectif est un terme utilisé pour décrire une réelle et totale absence d'interactions sociales imposée à des individus durant une durée de temps supérieure à un mois (Cacioppo et al. 2015a). Plusieurs études se sont intéressées à l'effet d'un isolement social objectif chez des prisonniers, et les résultats indiquent que ces individus présentent de graves séquelles psychologiques et que la majorité d'entre eux développent des troubles psychiatriques, tels que la dépression et la schizophrénie (Andersen et al. 2000; Andersen et al. 2003; Arrigo & Bullock 2008; Grassian 1983). Une étude montre que l'incidence de la schizophrénie est deux fois plus élevée chez les prisonniers ayant subi un confinement en solitude par rapport aux prisonniers qui n'ont pas subi cette forme d'isolement social objectif (Andersen et al. 2002). Des études récentes s'intéressant à des personnes maintenues dans des cellules de prisons en détention solitaire pour plus de 10 ans, indiquent qu'après leur sortie, un grand nombre de ces prisonniers présentaient des pensées intrusives et délirantes, des colères et irritabilités irrationnelles, des difficultés d'attention et de mémoire, et une tendance à se retirer socialement. Une minorité non négligeable de ces prisonniers ont développé des symptômes qui sont généralement associés uniquement aux formes les plus extrêmes de schizophrénie, à savoir des hallucinations, des distorsions de la perception et des pensées suicidaires (McCarthy 2015; Cloud et al. 2015). La sévérité des symptômes générés par l'isolement social objectif semble dépendre principalement de la durée de l'isolement et de l'âge des prisonniers au moment de l'isolement ; les effets sont plus graves chez les mineurs (Crook., 2006 ; Arrigo & Bullock 2008, Walker et al., 2013).

Comme je l'ai décrit dans le chapitre II, le modèle d'isolement social post-sevrage chez les rongeurs reproduit plusieurs des symptômes de la schizophrénie, positifs (néophobie...), négatifs (retrait social... ) et déficits cognitifs (réduction du PPI...). De plus, le syndrome d'isolement chez les rongeurs est accompagné de défauts neuroanatomiques (réductions du volume du PFC et de sa myélination...) et neurochimique (systèmes dopaminergique, glutamatergique, GABAergique, reelin, axe HPA...) qui ressemblent également aux défauts observés chez des patients schizophrènes (Figure) (Kevin C.F. Fone & Porkess 2008).

Toutefois, il est inapproprié de décrire l'isolement social ou l'haplo-insuffisance en reelin comme un modèle de schizophrénie. Un modèle unique ne peut pas reproduire à lui seul toute la myriade de symptômes associés à la schizophrénie, qui en soi, est une pathologie hétérogène et multigénique, influencée par des divers facteurs environnementaux survenant durant la maturation postnatal du PFC (Gainetdinov et al. 2001; Lipska & Weinberger 2000; C. A. Jones et al. 2011). Ceci est valable pour les autres maladies psychiatriques ou mentales dans lesquelles les altérations des interactions sociales et ou de signalisation reelin jouent très probablement un rôle important.

# **PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS**

## Problématique et Objectifs

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, la maturation du PFC se poursuit jusqu'à la fin de l'adolescence et est associée au développement des fonctions exécutives et mnésiques qui améliorent l'adaptabilité de l'animal à son environnement. Pour preuve, des expériences lésionnelles ont montré qu'une dysfonction du PFC produit des déficits comportementaux dans des tâches nécessitant une flexibilité comportementale ou une rétention d'informations à court ou à long terme (Delatour & Gisquet-Verrier 1996; Delatour & Gisquet-Verrier 1999; Dalley et al. 2004). La phase de maturation postnatale du PFC est une période critique du développement cérébral, durant laquelle des atteintes environnementales contribueraient à l'étiologie de certains troubles psychiatriques comme la dépression et la schizophrénie (Raedler et al. 1998; Lewis & Levitt 2002). Plusieurs études suggèrent que ces atteintes environnementales ont d'autant plus d'effets lorsqu'elles surviennent chez un individu avec une vulnérabilité génétique (Tsuang & Faraone 2000; C. Jones et al. 2011). Durant ma thèse, je me suis intéressé à deux facteurs qui participeraient à l'étiologie des maladies psychiatriques neurodéveloppementales : un facteur environnemental, l'isolement social (K C F Fone & Porkess 2008) et un facteur génétique, l'haplo-insuffisance en reelin (Folsom & Fatemi 2013).

Chez l'humain comme chez le rongeur, les stades juvéniles et adolescents correspondent à la période de vie la plus intense en interactions sociales (Panksepp 1981; Tomtin 2012). Les interactions sociales durant cette période sont indispensables au développement cognitif (Vanderschuren & Niesink 1997; Spinka et al. 2001; Pellis et al. 2010). Des études indiquent qu'un isolement social ou un comportement de retrait social durant l'enfance et l'adolescence chez l'humain sont associés à l'étiologie de plusieurs maladies psychiatriques, notamment la dépression et la schizophrénie (Matheson et al. 2013; Cacioppo et al. 2015b). Chez les rongeurs, un isolement social post-sevrage produit des défauts cognitifs, comportementaux et neurochimiques durables qui ne sont pas corrigés par une resocialisation ultérieure (van den Berg et al. 1999; Lapiz et al. 2003; Pascual et al. 2006; K C F Fone & Porkess 2008; Baarendse et al. 2013). Un grand nombre de ces défauts comportementaux et neurochimiques rappellent les symptômes positifs ou négatifs de la schizophrénie (Powell & Miyakawa 2006; P Ratajczak et al. 2013). En parallèle, plusieurs études indiquent que les maladies psychiatriques sont accompagnées de profondes modifications structurales et fonctionnelles des synapses, et que des changements de la transmission et/ou de la plasticité synaptique, notamment au niveau du PFC, sont à l'origine de nombreuses neuropathologies (Garey et al. 1998; Malenka & Bear 2004). Toutefois, l'effet d'une atteinte environnementale comme l'isolement social sur la transmission et la plasticité synaptique dans le PFC demeure inconnu.

Les données bibliographiques présentées dans l'introduction de cette thèse montrent que la reelin, une glycoprotéine majeure de la matrice extracellulaire, joue un rôle fondamental dans le développement neuronal et la physiologie synaptique postnatale (Pappas et al. 2001; Sinagra et al. 2005; Laurent Groc et al. 2007; G. C. Campo et al. 2009). De plus, il a été montré que des patients souffrant de ces troubles psychiatriques présentent des taux de reelin réduits de moitié dans plusieurs structures cérébrales, particulièrement dans le PFC (Impagnatiello et al. 1998; Fatemi 2005; Folsom & Fatemi 2013). Les souris haplo-insuffisantes en reelin (ou HRM) sont donc un modèle murin pathologique pertinent pour la compréhension des mécanismes qui régissent la maturation postnatale du PFC dans les conditions physiologiques et pathologiques. Les données reliant la reelin aux maladies psychiatriques, permettent de poser l'hypothèse qu'une diminution de l'expression de la reelin, notamment dans le PFC, aurait un impact fonctionnel négatif sur les systèmes glutamatergiques et GABAergiques et la dynamique de stabilisation des connexions synaptiques. Durant ma thèse, j'ai participé à une étude dont l'objectif a été de comprendre le rôle de la reelin dans la maturation postnatale du PFC (Articles n° 1 et 2). Nous avons découvert qu'une haplo-insuffisance en reelin entraîne des défauts majeurs de structure et de fonction des neurones pyramidaux des couches profondes du PFC aux stades juvénile et adolescent et que ceci perturbe la rétention mnésique à long terme. Cependant, la majorité de ces défauts se rétablissent au niveau normal au stade adulte. Ces résultats suggèrent l'existence chez les souris HRM d'une période de vulnérabilité étendue, durant laquelle les effets d'une atteinte supplémentaire tel que l'isolement social peuvent être exacerbés. Toutefois, l'impact de l'interaction de l'haplo-insuffisance en reelin et l'isolement social sur les propriétés fonctionnelles des synapses du PFC reste inconnu.

L'objectif de mon travail de thèse a été de :

1. déterminer l'impact de l'isolement social sur la physiologie du PFC chez les souris sauvages
2. déterminer si le circuit préfrontal appauvri en reelin réagit différemment à l'isolement social
3. tester une pharmacothérapie afin de réparer les déficits préfrontaux dans le modèle d'interaction gène-environnement

Nous avons répondu à ces questions :

- En établissant un portrait morpho-fonctionnel détaillé des synapses excitatrices et inhibitrices des couches profondes du PFC chez les souris sauvages et HRM ayant subi un isolement social
- En déterminant les effets de l'isolement social sur des comportements dépendants du PFC chez les souris sauvages et HRM ayant subi un isolement social
- En appliquant avec succès une pharmacothérapie afin de corriger les défauts observés chez les souris HRM socialement isolées.

La description phénotypique de nos trois modèles de maladies psychiatriques : l'haplo-insuffisance en reelin, l'isolement social de souris sauvages et l'isolement social de souris HRM, nous a permis d'identifier à l'âge adulte les défauts uniquement dus à l'haplo-insuffisance en reelin ou à l'isolement social, et ceux dus à l'interaction de ces deux atteintes. L'ensemble de ces données renforce le lien entre reelin et étiologie de certaines maladies psychiatriques en déterminant que des taux réduits de reelin aggravent les effets néfastes de l'isolement social.

Les résultats de ces travaux sont présentés sous la forme de publications :

**Article n°1 :** Reelin, an extracellular matrix protein linked to early onset psychiatric diseases, drives postnatal development of the prefrontal cortex via GluN2B-NMDARs and the mTOR pathway

J Iafrati, MJ Orejarena, O Lassalle, L Bouamrane, and P Chavis

Molecular Psychiatry (2014)

**Articles n°2 :** Prefrontal endophenotypes linked to the psychiatric disorders susceptibility gene RELN are amenable to mechanism-based therapy.

Iafrati J., Malvache A, Gonzalez-Campo C., Orejarena J., Lassalle O., Bouamrane L. and Chavis P.

Soumis à Biological Psychiatry

**Article n°3 :** Pathophysiological maturation of GABAergic synapses in mice haploinsufficient for the extracellular matrix protein reelin.

Bouamrane L., Lassalle O. and Chavis P.

Soumis à Frontiers in Cellular Neuroscience

**Article n°4 :** Pathological prefrontal plasticity and cognition in prepubertal mice subjected to social isolation.

Bouamrane L., Lassalle O., Manduca A., Stambouljian-Platel S. and Chavis P.

Manuscrit en préparation.

# **RESULTATS**

**I. Article n°1: Reelin, an extracellular matrix protein linked to early onset psychiatric diseases, drives postnatal development of the prefrontal cortex via GluN2B-NMDARs and the mTOR pathway.**

J Iafrati, MJ Orejarena, O Lassalle, L Bouamrane, and P Chavis  
Molecular Psychiatry (2014)

## Article n°1

### **Reelin, an extracellular matrix protein linked to early onset psychiatric diseases, drives postnatal development of the prefrontal cortex via GluN2B-NMDARs and the mTOR pathway.**

#### **1/ Contexte et buts de l'étude**

Les dysfonctionnements du PFC ainsi que des taux modifiés de reelin sont des traits caractéristiques de certaines maladies psychiatriques comme la dépression, les troubles bipolaires et la schizophrénie. Le dysfonctionnement des voies glutamatergiques, notamment des récepteurs NMDA, est l'une des théories neuropharmacologiques principales de cette maladie psychiatrique. Malgré les multiples preuves en faveur d'un rôle majeur des récepteurs NMDA et de la reelin dans les pathologies du PFC, les mécanismes par lesquels la reelin gouverne les fonctions synaptiques dépendantes des NMDAR dans la maturation du PFC restent à déterminer. Le fait que ces maladies psychiatriques se déclarent précocement au cours de la vie (durant adolescence ou chez le jeune adulte), nous a incité à étudier les effets fonctionnels et comportementaux d'une réduction des taux de reelin durant la période juvénile de la maturation du PFC.

#### **2/ Approches**

##### **Modèle murin:**

Afin d'aborder cette question, nous avons pris avantage de la souris hétérozygote reeler (HRM) dont la mutation d'un seul allèle résulte en une diminution partielle (50%) des quantités de reelin endogène par rapport aux animaux sauvages. Nous avons comparé des HRM aux souris sauvages au stade juvénile après sevrage (P22-28).

##### **Electrophysiologie sur tranches aiguës de cerveau :**

Nous avons étudié la transmission et la plasticité des synapses glutamatergiques des neurones pyramidaux des couches V du PFC, qui constituent la source majeure de sortie d'information.

Nous avons utilisé des techniques classiques d'électrophysiologie :  
des enregistrements de patch-clamp en configuration de cellule entière (voltage et current clamp)  
des enregistrements extracellulaires (potentiel de champ)

##### **Morphologie tridimensionnelle :**

Lors des enregistrements en cellule entière, les neurones sont chargés par l'intermédiaire de l'électrode avec un traceur pour analyse post-hoc en imagerie confocale. Nous procédons après reconstruction tridimensionnelle des signaux fluorescents, à l'analyse morphologique et spatiale des épines dendritiques.

##### **Tests comportementaux : apprentissage associatif aversif, extinction et réactivation**

Nous avons utilisé un paradigme classique d'apprentissage pavlovien de peur conditionnée auditive et d'extinction. Nous mesurons le comportement d'immobilisation, une réaction de peur classique chez le rongeur. Après le conditionnement, la présentation répétée du stimulus conditionnel seul induit une diminution progressive de la réponse de peur : c'est la phase d'extinction. Plusieurs jours après l'extinction, l'animal est exposé au stimulus conditionnel dans l'environnement utilisé pour l'apprentissage afin de tester la réactivation du comportement de peur conditionnelle.

### **3/ Résultats:**

Au stage juvénile (P22-28), les HRM présentent un effacement anormal de la mémoire contextuelle de peur associé à une réduction de la densité des épines dendritiques des neurones pyramidaux des couches V et une abolition de la LTP dans le PFC. Dans le but de réparer ces défauts, nous avons utilisé la kétamine, un antagoniste des récepteurs NMDA, et le Ro25-6981, un antagoniste des récepteurs NMDA de type GluN2B. De manière remarquable, nous montrons qu'une injection unique de kétamine ou de Ro25-6981 chez les HRM, restaure non seulement les défauts morpho-fonctionnels observés dans le PFC juvénile mais aussi rend la trace mnésique de peur résistante à l'effacement. Ces effets sont bloqués par la rapamycine, un inhibiteur de la voie mTORC1.

En conclusion, ces travaux montrent que la reelin est essentielle durant la période juvénile pour la maturation structurale et fonctionnelle des circuits du PFC, ainsi que pour la maturation des traces mnésique de peur, et que cette période développementale constitue une fenêtre critique pour une thérapie pharmacologique.



## ORIGINAL ARTICLE

## Reelin, an extracellular matrix protein linked to early onset psychiatric diseases, drives postnatal development of the prefrontal cortex via GluN2B-NMDARs and the mTOR pathway

J Iafrati<sup>1,2,3,4</sup>, MJ Orejarena<sup>1,2,3,4</sup>, O Lassalle<sup>1,2,3</sup>, L Bouamrane<sup>1,2,3</sup> and P Chavis<sup>1,2,3</sup>

Defective brain extracellular matrix (ECM) is a factor of vulnerability in various psychiatric diseases such as schizophrenia, depression and autism. The glycoprotein reelin is an essential building block of the brain ECM that modulates neuronal development and participates to the functions of adult central synapses. The reelin gene (*RELN*) is a strong candidate in psychiatric diseases of early onset, but its synaptic and behavioral functions in juvenile brain circuits remain unresolved. Here, we found that in juvenile reelin-haploinsufficient heterozygous reeler mice (HRM), abnormal fear memory erasure is concomitant to reduced dendritic spine density and anomalous long-term potentiation in the prefrontal cortex. In juvenile HRM, a single *in vivo* injection with ketamine or Ro25-6981 to inhibit GluN2B-N-methyl-D-aspartate receptors (NMDARs) restored normal spine density, synaptic plasticity and converted fear memory to an erasure-resilient state typical of adult rodents. The functional and behavioral rescue by ketamine was prevented by rapamycin, an inhibitor of the mammalian target of rapamycin pathway. Finally, we show that fear memory erasure persists until adolescence in HRM and that a single exposure to ketamine during the juvenile period reinstates normal fear memory in adolescent mice. Our results show that reelin is essential for successful structural, functional and behavioral development of juvenile prefrontal circuits and that this developmental period provides a critical window for therapeutic rehabilitation with GluN2B-NMDAR antagonists.

*Molecular Psychiatry* (2014) 19, 417–426; doi:10.1038/mp.2013.66; published online 11 June 2013

**Keywords:** early onset psychiatric diseases; fear memory; ketamine; prefrontal cortex; reelin; synaptic plasticity

## INTRODUCTION

The brain extracellular matrix (ECM) is a complex assembly of different types of molecules including glycoproteins and proteoglycans, the functions of which extend far beyond its classical roles in structural scaffolding. The brain ECM is of considerable importance to the physiology of central synapses<sup>1</sup> and numerous evidences point to its involvement in the etiology of several psychiatric disorders such as schizophrenia, bipolar disorders, major depression and autism.<sup>2,3</sup>

Reelin is a prominent ECM glycoprotein<sup>4</sup> linked to an extensive signaling complex,<sup>5</sup> which perfectly illustrates this duality. Reelin modulates several aspects of synaptic function and plasticity as well as neuronal morphology and development. In the adult brain, reelin supplementation increases hippocampal long-term potentiation (LTP)<sup>6</sup> and synaptic activity,<sup>7</sup> promotes hippocampal dendrite and spine development<sup>8,9</sup> and enhances cognitive ability.<sup>9</sup> Reelin has been proposed to participate to the etiology of several psychiatric disorders. The reelin gene (*RELN*) is a strong candidate in diverse psychiatric diseases of early onset such as depression, schizophrenia and in neurodevelopmental disorders including autism.<sup>10–13</sup> Impairment in reelin signaling has been hypothesized to increase susceptibility to psychiatric disorders.<sup>2,14,15</sup> Despite multiple lines of evidence in supporting a link between *RELN* and psychiatric disorders, it has proven very difficult to show a direct causal evidence of the involvement of the protein in early onset disorders. Indeed, behavioral studies

modeling some endophenotypes of schizophrenia or depression gave conflicting results in reelin-haploinsufficient murine models at adult stages.<sup>16,17</sup>

The prefrontal cortex (PFC) is instrumental to higher cognitive and executive tasks and is implicated in emotional behavior.<sup>18,19</sup> Dysfunctions of the PFC are a hallmark feature of numerous neuropsychiatric diseases including depression, schizophrenia and autism.<sup>20–22</sup> A prominent hypothesis suggests that many symptoms of schizophrenia arise from the hypofunction of N-methyl-D-aspartate receptors (NMDARs)<sup>23,24</sup> and significant reductions in the expression of NMDAR subunits were reported in the PFC of patients with major depressive disorder.<sup>25</sup> It is worth noting that our previous work has fueled the concept that in the postnatal brain, reelin is required for maintaining the mature subunit composition of NMDARs.<sup>26–28</sup> Thus, despite multiple lines of evidence supporting a major role for NMDARs and reelin in PFC-related pathologies, how the ECM and specifically reelin governs NMDAR-mediated synaptic functions and plasticity during the early postnatal development of the PFC is unknown.

The early onset of psychiatric disorders implicating the ECM and specifically reelin and the PFC prompted us to study the functional and behavioral effects of impoverishment of extracellular reelin during the juvenile period of brain development. We found that juvenile reelin-haploinsufficient heterozygous reeler mice are characterized by fear memory sensitive to erasure by extinction accompanied by abnormal synaptic plasticity and dendritic spine

<sup>1</sup>INSERM UMR 901, Marseille, France; <sup>2</sup>Aix-Marseille Université, Unité Mixte de Recherche 901, Marseille, France and <sup>3</sup>INMED, Marseille, France. Correspondence: Dr P Chavis, INMED INSERM U901, Parc Scientifique de Luminy BP 13, 163 avenue de Luminy, 13273 Marseille, France.  
E-mail: pascale.chavis@inserm.fr

<sup>4</sup>The first two authors contributed equally to this work.

Received 20 January 2012; revised 10 April 2013; accepted 15 April 2013; published online 11 June 2013

density in the PFC. We then showed that a single *in vivo* injection of the NMDAR antagonists, ketamine or Ro25-6981, restored not only normal synaptic function and morphology but also fear memory to an erasure-resistant state. We also present evidence that the rehabilitation of synaptic signaling and plasticity and behavior by ketamine involves the mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. Finally, we show that fear erasure extends to adolescence in heterozygous reeler mice (HRM) and that a single *in vivo* exposure to ketamine during the juvenile period is able to convert fear memory to an erasure-resistant mode at the adolescent stage. The data reveal that behavioral and cellular dysfunctions linked to reelin deficiency are amenable to pharmacological intervention during a precise temporal window of early postnatal development.

## MATERIALS AND METHODS

### Animals

The heterozygous reeler mouse (B6C3Fe *a/a-Reelin<sup>f/f</sup>*) strain breeding pairs were purchased from the Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). Postweaning juvenile littermates (P22–28), males and females, were used in electrophysiological and morphological studies and no significant sex-dependent differences were observed. All mice were weaned at 21 days. After weaning, they were caged socially in same-sex groups. The offspring were genotyped by polymerase chain reaction using tail genomic DNA as described previously.<sup>8</sup> The polymerase chain reaction primer sequences were: forward, 5'-TAATCTGTCTCACTCTGCC-3'; reverse wild-type, 5'-ACAGTTGACATACCTTAATC-3' and reverse mutated 5'-TGCATTAATGTGCAGTGTTG-3'. Polymerase chain reaction conditions were as follows: 1 cycle, 3 min at 95 °C; 40 cycles, 45 s at 95 °C, 45 s at 53 °C, 45 s 72 °C; and 1 cycle, 5 min at 72 °C.

All experiments were conducted in strict compliance with European directives and French laws on animal experimentation (authorization number: 3307016).

### Drug administration

Drugs were administered intraperitoneally to juvenile mice after weaning. For electrophysiological experiments, animals received a single intraperitoneal (i.p.) injection of ketamine (30 or 100 mg kg<sup>-1</sup>) 24 h or Ro25-6981 (10 mg kg<sup>-1</sup>) 6 h before preliminary area of the PFC (PrPFC) slice preparation. Rapamycin was administered two times intraperitoneally at 3 mg kg<sup>-1</sup>, 24 and 3 h before ketamine injection (100 mg kg<sup>-1</sup>) and PrPFC slices were prepared 24 h after ketamine administration. For behavioral training performed during the juvenile period, ketamine (100 mg kg<sup>-1</sup>) was administered 24 h before and Ro25-6981 (10 mg kg<sup>-1</sup>) 6 h before fear conditioning in a volume of 10 ml kg<sup>-1</sup> of body weight. For fear conditioning performed in adolescent mice, animals received a single intraperitoneal injection of ketamine (100 mg kg<sup>-1</sup>) during the juvenile period between P22 and P26.

### Electrophysiology

Coronal PrPFC slices were prepared as described previously.<sup>29</sup> All experiments were carried out at 30–32 °C. Picrotoxin (100 μM) was added to the artificial cerebrospinal fluid to block GABA<sub>A</sub> synaptic transmission. Drugs were added at the final concentration to the artificial cerebrospinal fluid. Field potentials and whole-cell patch-clamp recordings were made in layer V/VI, collected using an Axopatch-1D amplifier (Axon Instruments, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) and acquired with Clampex 10.2 acquisition Software via a Digidata 1440A (Axon Instruments).

For extracellular fields, a stimulating glass electrode filled with recording artificial cerebrospinal fluid was placed in layer II/III and the recording pipette was filled with artificial cerebrospinal fluid.<sup>29</sup> Field excitatory postsynaptic potentials (fEPSP) were evoked at 0.1 Hz and the glutamatergic nature of the fEPSP was confirmed at the end of each experiment by perfusing the non-NMDA ionotropic glutamate receptor antagonist DNQX (20 μM), which specifically blocked the synaptic component without altering the non-synaptic component (not shown). LTP was induced using a theta-burst stimulation protocol consisting of five trains of burst with four pulses at 100 Hz, at 200-ms interval, repeated four times at intervals of 10 s. Analysis of both area and amplitude of fEPSP was performed with Clampfit 10.0.0.61 (Axon Instruments). For fEPSP, the non-synaptic component was systematically subtracted to fEPSP before

analysis. The magnitude of LTP was calculated 20–30 min after theta-burst stimulation as a percentage of baseline responses.

Pyramidal neurons in PrPFC layer V/VI were visualized using an infrared illuminated upright microscope (Olympus BX51WI, Olympus France, Rungis, France). Spontaneous AMPA (2-amino-3-(3-hydroxy-5-methyl-isoxazol-4-yl)propanoic acid) receptor-mediated excitatory postsynaptic currents (AMPA-spEPSCs) were recorded at -70 mV with internal solution containing (mM): 145 K-gluconate, 5 NaCl, 1 MgCl<sub>2</sub>, 1 EGTA, 0.3 CaCl<sub>2</sub>, 10 HEPES, 2 Na<sub>2</sub>ATP, 0.3 NaGTP and 0.2 cAMP (pH 7.3 and 290 mOsm). Whole-cell recording electrodes had resistances of 4–6 MΩ. Access resistance was continuously monitored (<25 MΩ) and recordings were rejected if there was a >20% change during the course of the experiment. spEPSCs were filtered at 2 kHz and digitized at 10 kHz. AMPAR-spEPSCs amplitude and inter-interval time were analyzed with Axograph X using a double exponential template:  $f(t) = \exp(-t/\text{rise}) + \exp(-t/\text{decay})$ , rise = 0.5 ms and decay = 3 ms. The threshold of amplitude detection was set at 7 pA.<sup>26</sup>

### Dendritic spine reconstruction and quantification

All whole-cell recorded neurons were loaded with neurobiotin through patch pipettes. Slices were then fixed overnight in 4% paraformaldehyde and revealed with Texas Red-conjugated avidin for subsequent confocal imaging. Only pyramidal neurons within layer V/VI of the PrPFC showing proper filling of the distal dendritic tree were included in the analysis. Oblique dendrites extending in layer II/III were analyzed. Stack images were acquired using an Olympus Fluoview FV500 confocal microscope equipped with a ×60 oil-immersion objective. Laser power and photomultiplier gain were adjusted to obtain few pixels with maximum intensity on dendrite shaft and the offset range was tuned to cutoff background noise. Tri-dimensional deconvolution of each stack was performed with AutoQuantX2 to compensate the spherical aberration and to correct the z-smear for reliable spine morphology. The tri-dimensional reconstruction and blind semiautomated analysis were performed with Imaris (Bitplane, Zurich, Switzerland).

### Behavioral training and measurements

Juvenile male HRM and littermate controls were aged between P22 and P25 at the beginning of the training. Adolescent males were aged between P30 and P42 at the beginning of the training. Mice were trained in three phases, fear conditioning, extinction and renewal training,<sup>30</sup> using an ABA paradigm. Fear conditioning was conducted in context A, extinction in context B and renewal in context A. Contexts A and B differ in visual cues on the inside wall, floor texture and in odor. The conditioning phase (day 1) consisted of 1-min baseline monitoring, followed by five paired tones (conditioned stimuli, CS) co-terminated with foot shocks (unconditioned stimuli, US). Cue presentations were separated by 1 min. The CS consisted of an 80 db 2.5 kHz tone lasting 20 s. The US consisted of 0.5 mA foot shock lasting 1 s. On days 2 and 3, conditioned mice were subjected to two extinction sessions of auditory fear in which each mouse was placed in context B during 2 min for baseline monitoring, followed by 12 presentations of the CS on each day. Context-dependent fear renewal was tested 7 days after the last extinction session (day 10) in the conditioning context (context A) using five presentations of the CS. For the non-extinction group, the animals underwent the same experimental conditions without the extinction sessions.

An automated photo sensor-beam activity tracking system was used to measure and score mouse freezing (TruScan 2.0; Coulbourn Instruments, Allentown, PA, USA). A freezing event was registered only when inactivity was recorded for a minimum of 2 consecutive seconds. The system was validated against blind manual registration. Results are expressed as a percentage of freezing time of 1 min duration bins.

### Statistical analysis

All values are given as mean ± s.e.m. and statistical significance was set at  $P < 0.05$ .

Statistical analysis of electrophysiological and morphological data was performed with GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Multiple comparisons were made using a one-way analysis of variance (ANOVA), followed by a *post hoc* Tukey's test if significant. Two sample comparisons were made with the Mann-Whitney test. Kolmogorov-Smirnov tests were used for comparing the cumulative distributions of amplitudes and interevent intervals of AMPAR-spEPSCs.

Behavioral data were analyzed using either one- or two-way repeated-measures ANOVA, followed by the corresponding *post hoc* analysis when required, or one-way ANOVA between subjects for each time point as explained in the text. All the analyses were conducted using GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software).

**RESULTS**

**Long-term fear memories are unstable in juvenile HRM**

To evaluate the effects of an extracellular neuronal environment impoverished in reelin, we submitted wild-type and HRM to a classical form of robust associative learning, called fear conditioning. Postweaning juvenile mice were trained to the pairing of an aversive stimulus (US; mild foot shock) with an auditory component (CS; tone). During the associative conditioned learning, both animal groups exhibited similar fear responses assessed by their levels of freezing behavior (Figure 1a), showing that reduced levels of reelin do not impair the acquisition of fear memory during the postweaning juvenile period. One day after acquisition, conditioned mice were exposed to the CS alone (that is, without the reinforcing US) to test a form of inhibitory learning called extinction. In this paradigm, the CS progressively loses harm prediction, resulting in a gradual diminution of fear responses. Such training induced similar extinction of learned fear in wild-type and HRM groups (Figure 1b) and in both groups extinction was not achieved before the last CS presentations on the second day of extinction (data not shown). Thus, acquisition and extinction of associative fear memory in juvenile mice are not affected by impoverished reelin levels.

To test whether reelin haploinsufficiency affects the renewal of the original memory, mice were re-exposed to the CS in the acquisition context 7 days after extinction. Wild-type mice

exhibited a significant context-dependent renewal of fear memory, as shown by the increase of the freezing levels compared with those measured at the end of extinction training (Figure 1c). In stark contrast, there was a highly significant reduction in the freezing behavior of HRM mice compared with wild-type littermates. Altogether, these experiments show a deficit in the long-term retention of associative fear-conditioned memory in juvenile HRM.

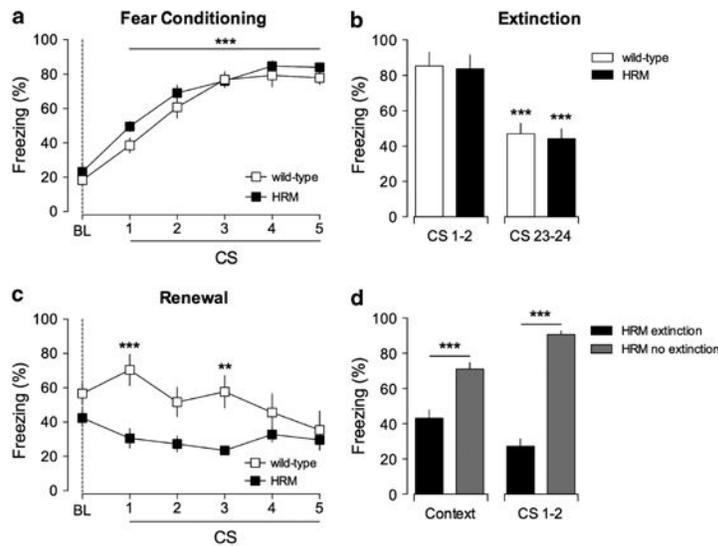
The deficit in memory renewal could be due to a deficit in the retention of cue and contextual components of fear conditioning learning. To control for this possibility, HRMs were treated identically to renewal subjects, but the extinction was omitted. In this condition, HRM maintained elevated levels of freezing and exhibited a stable retention of fear memory for 10 days (Figure 1d).

Previous studies have shown the existence of a developmental switch of fear memory, during the juvenile period, from erasure-prone to erasure-resistant by extinction.<sup>31,32</sup> The simplest interpretation of our data is that extinction leads to fear memory erasure in juvenile HRM in contrast to age-matched wild-type, where extinction induces inhibitory learning. Thus, the ECM protein reelin protects fear memory from erasure by extinction.

**Reelin haploinsufficiency disrupts LTP in juvenile PFC synapses**

In post-weaning rodents, cortical prefrontal circuits exert control on the acquisition, expression and extinction of associative fear memories.<sup>33,34</sup> To evaluate the effects of an extracellular neuronal environment impoverished in reelin on the synaptic physiology of the PFC, we prepared slices containing the PrPFC<sup>29</sup> from postweaning juvenile wild-type or HRM.

In wild-type mice, theta-burst stimulation induced a robust LTP of field excitatory postsynaptic potentials (fEPSP) measured at the



**Figure 1.** Extinction erased fear memories in juvenile heterozygous reeler mice (HRM). (a) Freezing behavior of HRM ( $n = 9$ ; black squares) and wild-type ( $n = 8$ ; white squares) during fear conditioning. Freezing levels after each five pairs of tone-shock presentations were significantly different when compared with baseline (BL) measured before paired conditioned stimuli–unconditioned stimuli (CS–US) presentation ( $***P < 0.001$ ). (b) Freezing behavior evoked by the first (CS 1 and 2) and last pair (CS 23 and 24) of CS presentation during extinction. At the end of extinction training, both groups exhibited a significant auditory fear extinction compared with the initial two trials of extinction session ( $***P < 0.001$ ). (c) CS-evoked freezing showing a significant context-dependent renewal in wild-type (white squares;  $n = 8$ ) but not in HRM (black squares,  $n = 9$ ;  $***P < 0.001$  and  $**P < 0.01$ , wild-type versus HRM for each CS presentation). (d) In the absence of extinction training (gray bars), HRM exhibited stable fear memories 10 days after conditioning when presented to the conditioning context (context) and the CS (CS 1 and 2).  $***P < 0.001$  extinction HRM (black bars;  $n = 9$ ) versus no extinction HRM (gray bars;  $n = 8$ ; analysis of variance (ANOVA)). Data are expressed as mean  $\pm$  s.e.m. percentage of time spent freezing and  $n$  is the number of animals. Statistical analysis is shown in the Supplementary Information.

excitatory synapses onto layer V/VI pyramidal neurons (Figure 2a). LTP was blocked by DL-AP5, confirming that it was mediated by NMDARs (not shown).<sup>35</sup> Thus, NMDAR-dependent LTP is an early attribute of postnatal PrPFC synapses. We found that in marked contrast to wild-type mice, LTP was absent in juvenile HRM mice (Figure 2a). Taken together, these data reveal that normal levels of reelin are necessary to the expression of NMDAR-dependent LTP in the PrPFC during early postnatal development.

Prefrontal dendritic spine density is reduced in juvenile HRM  
Structural deficits often underlie or correlate with functional aberrations of synaptic plasticity.<sup>36</sup> Furthermore, dendritic arbors and spines, the physical substrates of excitatory transmission and the principal loci of activity-dependent synaptic rearrangements, are subject to intense maturational processes in the postnatal PFC.<sup>37,38</sup> In this context, we examined whether structural abnormalities correlated with retarded functional maturation of HRM PrPFC synapses. We performed a *post hoc* three-dimensional reconstruction following confocal imaging of deep layer PrPFC pyramidal neurons filled with neurobiotin during the physiological experiments. Quantitative analysis of spine density on layer II/III oblique dendrites revealed a reduction in the density of spines in juvenile HRM compared with their wild-type littermates (Figure 2b). Morphological analysis showed that the overall decrease of spines in HRM seen in Figure 2b is due to a selective

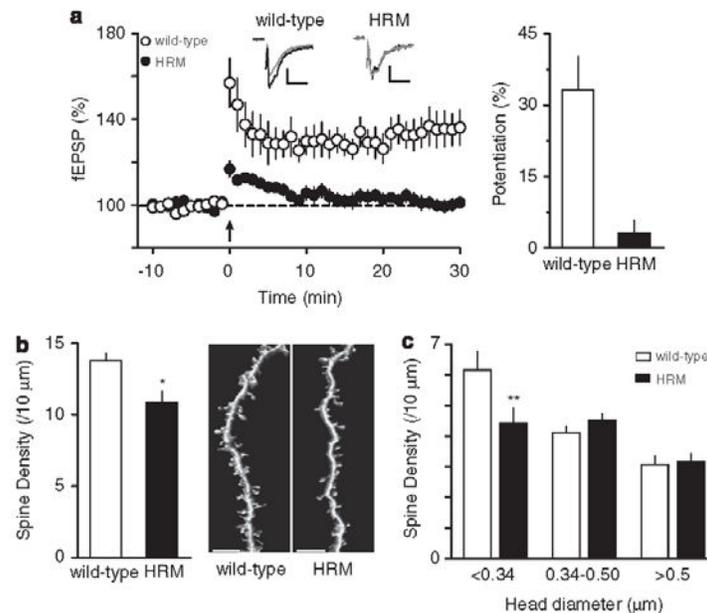
loss of spines with small head diameter (Figure 2c). No differences were observed in spine length between genotypes (Supplementary Figure 1). Thus, our data indicate that reelin is necessary to the correct functional and structural maturation of PrPFC excitatory synapses during juvenile postnatal development.

Altogether, the data reveal the leading role of reelin in PrPFC long-term synaptic plasticity, spinogenesis and inhibitory learning during a specific period of postnatal PFC development.

Ketamine restores the morphofunctional plasticity of juvenile HRM synapses

Anesthetics such as ketamine, an NMDAR antagonist, have emerged as potent modulators of postnatal synaptogenesis and dendritic spine density in many limbic structures including the hippocampus and the PrPFC<sup>38-41</sup> where they promote synapse formation during critical temporal windows.<sup>40</sup> In this context, we reasoned that structural and functional deficits that cripple HRM could be amenable to pharmacological rescue and specifically that ketamine may prove a viable strategy to restore normal spine complexity and perhaps synaptic plasticity and behavior.<sup>41,42</sup> in HRM.

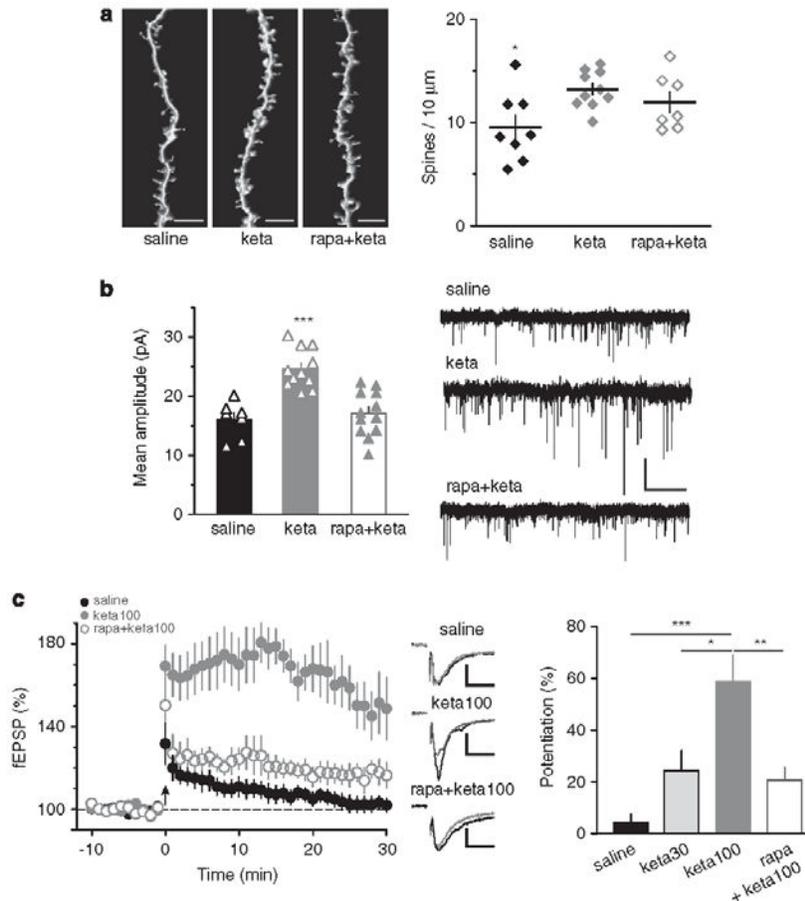
Juvenile HRM were injected with subanesthetic (30 mg kg<sup>-1</sup>) or anesthetic (100 mg kg<sup>-1</sup>) doses of ketamine, 24 h before PrPFC slices preparation. We discovered that a single administration of ketamine (30 or 100 mg kg<sup>-1</sup> intraperitoneally) was sufficient to



**Figure 2.** Functional and structural deficits at the prefrontal cortex synapses of juvenile heterozygous reeler mice (HRM). (a) Left: Theta-burst stimulation (TBS) induces long-term potentiation at layer II/III–V/VI prelimbic area of the prefrontal cortex synapses in juvenile wild-type (white circles), whereas no long-term potentiation was observed in age-matched HRM (black circles). Grouped time courses of field excitatory postsynaptic potential (fEPSP) responses expressed as the percentage of baseline before and after TBS (indicated by arrow). Representative traces averaged from 10 fEPSP responses before (gray) and 30 min after plasticity induction (black) in mice from both genotype. Calibration: 0.1 mV, 10 ms. Right: The percentage of potentiation measured between 20 and 30 min after TBS was  $33.2 \pm 7.0\%$  in wild-type ( $n = 10$ ) and  $1.9 \pm 2.7\%$  in HRM ( $n = 9$ ). Error bars represent s.e.m. (b) Left: The average spine density per oblique dendritic length of layer V/VI prelimbic area of the prefrontal cortex pyramidal neurons was reduced in juvenile HRM compared with wild-type ( $10.9 \pm 0.8$  spines per  $10 \mu\text{m}$ ,  $n = 15$  cells from 7 HRM versus  $13.8 \pm 0.5$  spines per  $10 \mu\text{m}$ ,  $n = 11$  cells from 5 wild-type;  $*P = 0.026$ , Mann–Whitney  $t$ -test). Error bars represent s.e.m. Right: Representative three-dimensional volume rendering of reconstructed spines and shafts from juvenile wild-type mice and HRM. Calibration bars:  $5 \mu\text{m}$ . (c) The classification of spine density by head diameter show a selective decrease in spines with head diameter  $< 0.34 \mu\text{m}$  in HRM ( $6.1 \pm 0.6$  spines per  $10 \mu\text{m}$ ,  $n = 11$  cells in wild-type versus  $4.4 \pm 0.5$  spines per  $10 \mu\text{m}$ ,  $n = 15$  cells in HRM). The density of spines with larger head diameter ( $\geq 0.34 \mu\text{m}$ ) is not different between both genotypes ( $F_{(5,72)} = 8.72$ ,  $**P < 0.01$  analysis of variance (ANOVA)).

restore normal spine density in oblique dendrites of deep layer pyramidal neurons of HRM (Figure 3a). In the same cells, the ketamine-induced spine recovery was accompanied by an increase in the amplitude of AMPAR-spEPSCs (Figure 3b and Supplementary Figure 2), suggesting that ketamine promotes the formation of functional excitatory synapses in juvenile HRM. NMDAR-spEPSCs were not affected by ketamine administration in HRM (Supplementary Figure 3).

We next tested if the restoration of spine density by *in vivo* ketamine was paralleled by a recuperation of LTP in juvenile HRM. Indeed, 24 h after a single injection of ketamine, juvenile HRM expressed LTP (Figure 3c). Interestingly, the magnitude of the ketamine effect was dose-dependent: subanesthetic doses (30 mg kg<sup>-1</sup>) induced levels of theta-burst LTP similar to those of age-matched wild-type, while injection of higher doses of ketamine (100 mg kg<sup>-1</sup>) markedly enhanced LTP compared with



**Figure 3.** Ketamine restored normal spine density and synaptic plasticity in juvenile haploinsufficient reelin mice. **(a)** Left: Representative images of three-dimensional-reconstructed z-stack projections of the oblique dendrites from neurobiotin-labeled layer V/VI pyramidal neurons. Calibration bars: 5 μm. Right: Average spine density per dendritic length (± s.e.m.) is shown with individual values. *In vivo* ketamine (keta; 30 or 100 mg kg<sup>-1</sup>) increased spine density to 13.2 ± 0.6 spines per 10 μm (n = 10 cells from nine mice, keta) in juvenile haploinsufficient reelin mice compared with age-matched saline-injected haploinsufficient reelin mice (9.5 ± 1.2 spines per 10 μm, n = 8 cells from four mice, saline). This effect of ketamine was not prevented by the mammalian target of rapamycin inhibitor rapamycin (rapa, 3 mg kg<sup>-1</sup>; 12.0 ± 1.0 spines per 10 μm, n = 7 cells from 5 mice, rapa + keta; F<sub>(2,22)</sub> = 4.406, \*P < 0.05 analysis of variance (ANOVA)). **(b)** Left: *In vivo* ketamine increased the mean amplitude of AMPA (2-amino-3-(3-hydroxy-5-methyl-isoxazol-4-yl)propanoic acid) receptor-mediated spontaneous excitatory postsynaptic currents (AMPA-spEPSCs) of haploinsufficient reelin mice from 16.1 ± 1.2 pA (n = 7, saline) to 24.6 ± 1.0 pA (keta, n = 11). This effect of ketamine was prevented by rapamycin (rapa + keta, 17.1 ± 1.1 pA, n = 12; F<sub>(2,27)</sub> = 18.17, \*\*\*P < 0.001 ANOVA). Error bars represent s.e.m. and n is the number of cells. Right: Representative recordings of AMPAR-spEPSCs taken from the different conditions. Calibration: 20 pA, 2 s. **(c)** Left: Average time courses of theta-burst long-term potentiation in haploinsufficient reelin mice injected with saline (saline, n = 9), ketamine 100 mg kg<sup>-1</sup> (keta100, n = 8) and rapamycin before ketamine 100 mg kg<sup>-1</sup> (rapa + keta100, n = 6). Middle: Representative traces averaged from 10 field excitatory postsynaptic potential (fEPSP) responses before (gray) and 30 min after TBS (black) in the different conditions. Calibration: 0.1 mV, 10 ms. Right: Ketamine restored long-term potentiation in a dose-dependent manner. The percentages of long-term potentiation were 4.4 ± 3.1% in heterozygous reeler mice (HRM) injected with saline (n = 10) and increased to 24.4 ± 7.9% (n = 5) and to 58.8 ± 10.4% (n = 8, \*\*\*P < 0.001) in HRM after injection with ketamine 30 mg kg<sup>-1</sup> (keta30) or 100 mg kg<sup>-1</sup> (keta100) respectively. Rapamycin inhibited the action of 100 mg kg<sup>-1</sup> ketamine (20.7 ± 5.0%; n = 6; F<sub>(3,24)</sub> = 11.64, \*\*P < 0.01 ANOVA). Error bars represent s.e.m. and n is the number of animals.

wild-type littermates (Figure 3c). Ketamine treatment did not modify theta-burst LTP in wild-type mice (Supplementary Figure 4). Taken together, the data show for the first time how it is possible to rescue the structural and functional abnormalities in HRM with ketamine during a restricted time window of postnatal development.

In the PrPFC, activation of the mTOR pathway by ketamine underlies both its stimulatory effects on spine growth, synaptic transmission and behavioral signs of depression.<sup>41</sup> In HRM, rapamycin prevented from the ketamine-induced augmentation of synaptic AMPAR content and restoration of theta-burst LTP (Figures 3b and c). Rapamycin pretreatment had no effect on NMDAR-spEPSCs in ketamine-injected HRM (Supplementary Figure 3). Administration of rapamycin had no effect on theta-burst LTP in wild-type juvenile mice (Supplementary Figure 4). Thus, the mTOR pathway underlies the restoration of functional synapses by ketamine. However, rapamycin did not prevent the effects of ketamine on spine growth (Figure 3a), a result compatible with the involvement of 'the rapamycin-insensitive' mTORC2 pathway in the control of the actin cytoskeleton.<sup>43</sup>

#### Ketamine restores adult fear memories in juvenile HRM via the mTOR pathway

In juvenile wild-type rodents, fear memories become resilient to erasure by extinction during the third postnatal week.<sup>31,32</sup> Our previous experiments show that this feature is lost in post-weaning juvenile HRM and that extinction training leads to fear

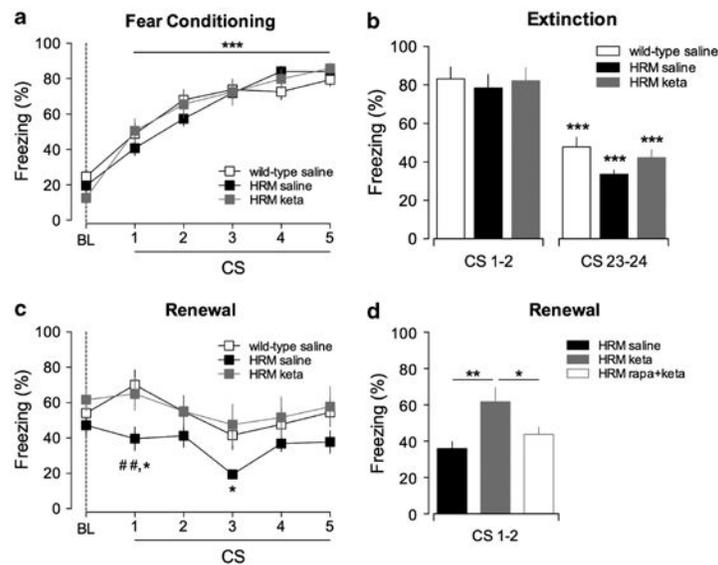
memory erasure. As ketamine restores mature PrPFC structural and functional properties in HRM, can treatment with ketamine also reinstate the long-term retention of associative fear-conditioned memory?

To address this question, HRM were injected with ketamine or saline 24 h before acquisition of fear memory. Ketamine-treated HRM displayed normal fear acquisition and extinction compared with saline-injected HRM and wild-type mice (Figures 4a and b). In marked contrast with their saline counterparts, ketamine-injected HRM exhibited a return of fear during renewal and displayed freezing levels restored to those of wild-type littermates (Figure 4c). Our data demonstrate that in HRM, ketamine pretreatment prevents extinction from erasing fear memory. These data suggest a link between the beneficial actions of ketamine on synaptic plasticity and dendritic density and the reinstatement of erasure-resistant memories, typical of mature mice.<sup>31,32</sup>

In HRM, pretreatment with rapamycin before ketamine administration had no effect either on acquisition or extinction (Supplementary Figure 5), but prevented the rescue of fear memory renewal by ketamine (Figure 4d). Thus, similar to the restoration of functional synapses, the behavioral actions of ketamine in HRM require mTOR signaling.

#### Pharmacological inhibition of GluN2B reinstates plasticity and adult fear memories in juvenile HRM

Administration of the selective GluN2B-containing NMDARs antagonist, Ro25-6981, induces effects similar to ketamine on



**Figure 4.** Ketamine prevents fear memory erasure by extinction in juvenile heterozygous reeler mice (HRM) via the mammalian target of rapamycin pathway. (a) Similar freezing levels were measured during fear conditioning of saline-injected wild-type (open squares;  $n = 11$ ), saline-injected HRM (black squares,  $n = 9$ ) and ketamine (keta)-injected HRM (gray squares,  $n = 9$ ). All groups showed a significant increase in the percentage of freezing time after each paired conditioned stimulus–unconditioned stimulus (CS–US) presentation compared with their respective baseline (BL;  $***P < 0.001$ ). (b) All groups exhibited a significant decrease of freezing levels between the first 2 (CS 1 and 2) and the last 2 (CS 23 and 24) trials of extinction sessions ( $***P < 0.001$ ). (c) Ketamine rescued context-dependent renewal in HRM. During context-dependent renewal, the freezing levels of ketamine-injected HRM were significantly different to that of saline-injected HRM and similar to those of saline-injected wild-type littermates ( $*P < 0.05$  HRM saline versus HRM keta and  $**P < 0.01$  HRM saline versus wild-type saline). (d) Blockade of mammalian target of rapamycin signaling prevents the behavioral effects of ketamine in juvenile HRM. During context-dependent renewal, pretreatment with rapamycin (rapa) decreased the freezing levels of ketamine-injected HRM to those of saline-injected HRM ( $**P < 0.01$  saline versus keta and  $*P < 0.05$  rapa + keta versus keta). Data are the average of freezing responses to the first two CS presentations. Data are expressed as mean  $\pm$  s.e.m. percentage of time spent freezing and  $n$  is the number of animals. Statistical analysis is shown in the Supplementary Information.

PFC synaptic signaling and behavior.<sup>41</sup> Moreover, we previously showed that blockade of reelin signaling increases the fraction of GluN2B-NMDARs by failing to convert immature GluN2B-NMDARs to adult GluN2A-NMDARs.<sup>26–28</sup> In this context, we hypothesized that selective inhibition of GluN2B-NMDARs could promote the implementation of normal functional plasticity and adult fear memories in HRM.

Juvenile HRM were injected with the GluN2B antagonist Ro25-6981 (10 mg kg<sup>-1</sup> intraperitoneally) 6 h before experiments.<sup>41</sup> A single injection was sufficient to restore normal spine density (Figure 5a) and increase AMPAR-spEPSC amplitude (Figure 5b). Ro25-6981 administration also reinstated LTP in juvenile HRM (Figure 5c). Finally, similar to ketamine, Ro25-6981 restored normal freezing levels during context-dependent renewal (Figure 5d). Fear acquisition and extinction were not perturbed by Ro25-6981 (Supplementary Figure 6).

Ketamine injected during the juvenile period switches fear memory to an erasure-resistant state in adolescent HRM

We dissected the age dependency of the fear erasure phenotype. HRM were trained for auditory fear conditioning at later stages of postnatal development. Adolescent HRM displayed normal fear acquisition and extinction compared with age-matched wild-type mice (Figures 6a and b). Thus, reduced levels of reelin do not impair acquisition and extinction of associative fear memory in more mature HRM.

In contrast to wild-type mice, which present a significant context-dependent renewal of fear memory, adolescent HRM exhibits a significant reduction of freezing levels when re-exposed to the CS in the acquisition context (Figure 6c). To examine whether extinction leads to fear memory erasure, HRM were tested for context-dependent renewal without extinction. In these

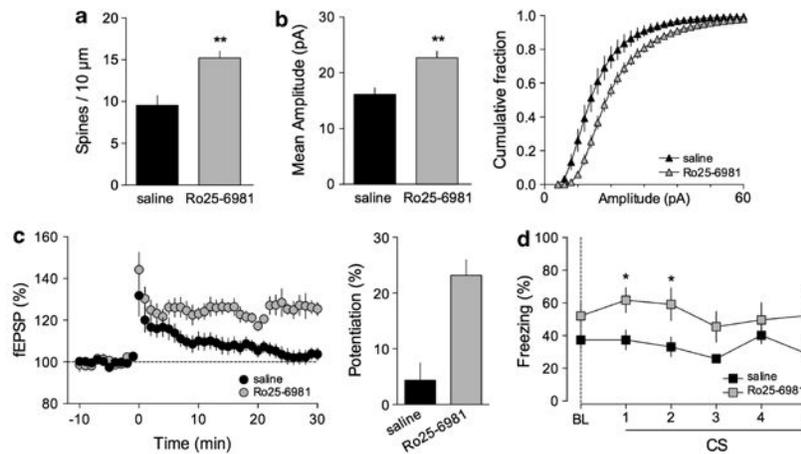
conditions, HRM maintained elevated levels of freezing compared with HRM submitted to extinction (Figure 6d). Thus, when extinction is omitted, adolescent HRM exhibit a stable retention of fear memory for 10 days. Altogether, these results show that the immature phenotype of fear memory characterized by extinction erasure persists in adolescent HRM.

We then examined whether ketamine could restore adult fear memory in adolescent HRM and whether a single exposure at the juvenile period was able to rescue the deficits observed in renewal at adolescent stages. HRM were injected once with ketamine (100 mg kg<sup>-1</sup> intraperitoneally) during the juvenile period and trained at the adolescent stage. In these conditions, ketamine-injected HRM showed normal fear acquisition and extinction compared with age-matched HRM (Supplementary Figure 7). Remarkably, the freezing behavior of ketamine-injected HRM was restored to wild-type levels during fear renewal (Figure 6c), showing that ketamine converted fear memory to an erasure-resistant state typical of mature mice.

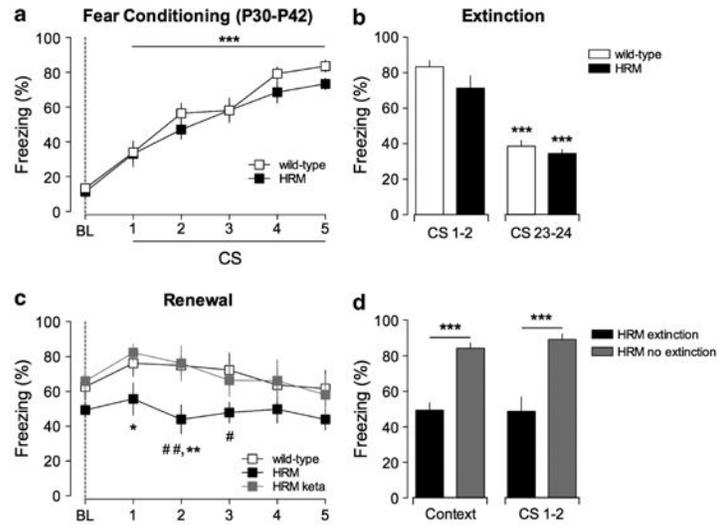
Altogether, our data indicate that reelin is necessary to the correct maturation of fear memory during postnatal development, and that behavioral dysfunctions during the adolescent period are rehabilitated by therapeutic intervention during the juvenile period.

## DISCUSSION

A salient feature of the mammalian PFC is that its neuronal networks undergo postnatal maturation and refinement until late into the adolescence. Evidence comes mostly from functional studies showing that via its integration in the neuronal network of the basal ganglia, the PFC participates in the organization and planning of goal-directed tasks.<sup>18,19</sup> On the whole, the molecular



**Figure 5.** The selective GluN2B antagonist Ro25-6981 rescues functional and behavioral deficits of juvenile heterozygous reeler mice (HRM). (a) The average spine density per dendritic length ( $\pm$  s.e.m.) was increased to  $15.2 \pm 0.8$  spines per  $10 \mu\text{m}$  ( $n=8$  cells from 4 mice) in Ro25-6981-injected HRM compared with age-matched saline-injected HRM (\*\* $P=0.002$ , Mann-Whitney  $t$ -test). (b) Left: *In vivo* injection of Ro25-6981 ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) increased the mean amplitude of AMPA (2-amino-3-(3-hydroxy-5-methyl-isoxazol-4-yl)propanoic acid) receptor-mediated spontaneous excitatory postsynaptic currents (AMPA-spEPSCs) of HRM from  $16.1 \pm 1.2 \text{ pA}$  ( $n=7$ , saline) to  $22.7 \pm 1.2 \text{ pA}$  ( $n=14$ , Ro25-6981; \*\* $P=0.0008$ , Mann-Whitney  $t$ -test). Right: Cumulative histograms of the distribution of AMPAR-spEPSCs amplitudes showing that Ro25-6981 caused a significant shift towards larger amplitudes compared with saline-injected HRM. Error bars represent s.e.m. and  $n$  is the number of cells. (c) Left: Average time courses of theta burst long-term potentiation showing that injection of Ro25-6981 ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ), 6 h before experiments, restored long-term potentiation in juvenile HRM. Right: Potentiation was  $4.4 \pm 3.1\%$  ( $n=10$ ) in saline-injected HRM and  $23.2 \pm 2.8\%$  ( $n=7$ ) after Ro25-6981 injection ( $n=7$ ). Error bars represent s.e.m. and  $n$  is the number of animals. (d) HRM exposed to Ro25-6981 ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) showed enhanced freezing (gray squares;  $n=8$ ) during context-dependent renewal in contrast to saline-treated HRM littermates (black squares;  $n=9$ ; \* $P<0.05$  HRM injected with Ro25-6981 versus saline-injected HRM). Data are expressed as mean  $\pm$  s.e.m. percentage of time spent freezing and  $n$  is the number of animals. Statistical analysis is shown in the Supplementary Information.



**Figure 6.** Injection of ketamine at juvenile stages suppresses fear memory erasure in older heterozygous reeler mice (HRM). (a) Adolescent wild-type ( $n=8$ ) and HRM ( $n=8$ ) aged between P30 and P42 showed comparable freezing levels during fear conditioning. Freezing progressively increases in both groups after each paired conditioned stimulus–unconditioned stimulus (CS–US) presentation compared with their respective baseline (BL; \*\*\* $P < 0.001$ ). (b) During extinction, both groups showed significant decrease in freezing percentage in the last pair of CS presentation when compared with the initial two trials of extinction session (\*\*\* $P < 0.001$ ). (c) CS-evoked freezing showing a significant context-dependent renewal in wild-type ( $n=8$ ) but not in HRM ( $n=8$ ; \* $P < 0.05$  and \*\* $P < 0.01$  HRM versus wild-type for each CS presentation). A single injection of ketamine (keta), during the juvenile period, rescued context-dependent renewal in adolescent HRM. The freezing levels of ketamine-injected HRM (gray squares;  $n=7$ ) were significantly different to that of age-matched HRM and similar to those of age-matched wild-type mice (\* $P < 0.05$  and \*\* $P < 0.01$  HRM versus HRM keta for each CS presentation). (d) In the absence of extinction training (gray bars), adolescent HRM exhibited stable fear memories 10 days after conditioning when presented to the conditioning context (context) and the CS (CS 1 and 2). \*\*\* $P < 0.001$  HRM extinction (black bars;  $n=8$ ) versus HRM no extinction (gray bars;  $n=9$ ). Data are expressed as mean  $\pm$  s.e.m. percentage of time spent freezing and  $n$  is the number of animals. Statistical analysis is shown in the Supplementary Information.

underpinning of this postnatal maturation remains largely unknown.<sup>44,45</sup>

We show for the first time that the morphofunctional properties of layer II/III–V/VI PFC excitatory synapses are affected during the early stages of postnatal development in HRM. In parallel to a lack of NMDAR-dependent LTP, we observed a decrease in the spine density in the oblique dendrites of principal pyramidal neurons. Our results show that during a precise temporal window of postnatal development, the juvenile period, long-term synaptic plasticity and spinogenesis in the PFC, as well as the stability of long-term fear memory, are under the control of reelin. Earlier studies suggested a prominent role of the extracellular environment, particularly reelin in various functions of the postnatal brain. Reelin downregulation impaired cortical synaptic maturation<sup>26,27</sup> and cognitive performances,<sup>15</sup> whereas supplementation in reelin augments synaptic functions and improves learning processes.<sup>6,7,9,15,46</sup> Our data shed light on previously undisclosed new functions for reelin during the juvenile period, an important early stage of the postnatal life.

Previous studies subjecting HRM to a battery of behavioral tests,<sup>16,17,47–49</sup> including fear-conditioned learning and extinction,<sup>50–52</sup> were performed at adult stages. This study is the first that examined auditory fear behavior in HRM at the juvenile and adolescent stage. Our data reveal a central role for reelin in protecting aversive memories from erasure by extinction. In young rodents, conditioned fear memories can be erased by extinction, whereas in older animals these memories are erasure-resistant to fear extinction.<sup>31,32</sup> For the first time, we found a persistence of the fear erasure phenotype, that is, susceptible to erasure by

extinction, until during adolescence in HRM. Our data extend a recent report showing that in the amygdala, the perineuronal nets, a specialized structure of the ECM, develop concomitantly and participate to the switch of fear memories from erasure-prone to erasure-resistant during a critical period in juvenile rodents.<sup>31</sup> In other structures such as the visual cortex, the appearance of perineuronal nets act as ‘structural brakes’<sup>53</sup> and is involved in the closure of critical periods of experience-dependent plasticity.<sup>54</sup> Thus, a more general function of the adult ECM might be the termination of juvenile plasticity during critical periods and the implementation of adult plasticity. Our data identify reelin as a molecular determinant of the ECM complex involved in long-term fear memory stabilization.

We also found that a single *in vivo* injection of ketamine is able to rescue the morphological and functional deficits in the PFC of juvenile HRM. We observed that within 24 h ketamine rescues LTP and increases synaptogenesis by increasing spine density and function as showed by the augmentation of AMPAR-spEPSCs in the same pyramidal neurons that were analyzed for spine morphology. This could be due to changes in AMPAR distribution and/or an increase in postsynaptic proteins such as PDS95 and the AMPAR-GluR1 subunit, synthesis of which has been showed to be increased for 72 h after a single dose of ketamine.<sup>41</sup> Other signals, like neurotrophins, have been proposed to trigger and regulate spine development.<sup>55</sup> Interestingly, it was recently reported that the behavioral antidepressant actions of ketamine are blocked in different brain-derived neurotrophic factor mutant lines,<sup>56,57</sup> suggesting that brain-derived neurotrophic factor could participate to the mechanism of action of ketamine.

The non-selective NMDAR antagonist ketamine is a widely used anesthetic and recreational drug and at low doses has a rapid antidepressant action, effective in patients resistant to conventional treatments. Our results are in line with and extend the recently described therapeutic applications of ketamine linked to spine formation in the PFC.<sup>41,42</sup> Furthermore, our results suggest that additional benefits may be obtained from using this compound during a specific postnatal developmental period. Previous studies reported that perinatal administration of other NMDAR antagonists, such as PCP, in wild-type rodents cause deficits in working memory and executive functions.<sup>58</sup> In contrast, our results suggest that ketamine can induce 'gain of function' in cognitive tasks in genetically deficient mice. Our results might be reconciled by the recent observation that the antidepressive functions of ketamine in the PFC of rats involve the specific recruitment of the mTOR pathway, leading to an increase in spine density and synaptic signaling.<sup>41</sup> We found that the ketamine-induced increase in synaptic signaling and plasticity in HRM was sensitive to rapamycin, suggesting the involvement of the rapamycin-sensitive components of the mTORC1 pathway. Among the many signaling pathways activated by reelin, mTOR has been proposed to mediate the effects of reelin on dendrite maturation.<sup>59</sup> Our observation that the ketamine-induced increase in spine density is insensitive to rapamycin does not exclude the participation of rapamycin-insensitive components of the mTOR pathway such as the mTORC2 complex.<sup>43,60</sup>

We were able to specify that GluN2B-containing NMDAR participate to the broad effect of NMDA antagonists by targeting these subunits with Ro25-6981. For the first time, we show that this compound rescues behavioral and both morphological and functional synaptic deficits. In the PFC of wild-type mice, GluN2B-NMDARs are critical for LTP and contextual fear memory.<sup>61</sup> Although controversial,<sup>62</sup> it has been proposed that the direction of long-term plasticity is controlled by the subunit composition of NMDARs with GluN2A-NMDARs more likely favoring the induction of LTP than GluN2B subtype.<sup>63,64</sup> Thus, the fact that Ro25-6981 restores LTP in HRM extends our previous finding showing that decreased levels of reelin prevents the maturational switch in NMDAR subunit composition from GluN2B- to GluN2A-containing receptors.<sup>26–28</sup>

Finally, we found that when injected in juvenile mice, ketamine has a long-lasting effect and is able to convert fear memory to an erasure-resistant state. These data reveal the existence of a critical period in the juvenile development of the PFC during which genetic insufficiencies are amenable to pharmacological rescue.

In conclusion, we showed the ECM protein reelin is necessary for the proper structural, functional and behavioral development of juvenile prefrontal circuits. We also demonstrate that early onset deficits linked to reelin deficiency are rehabilitated by blocking NMDARs and that this rehabilitation requires the mTOR pathway signaling. Finally, our data also shed new light on the therapeutic use of ketamine and GluN2B-NMDARs antagonists during the juvenile period, a critical window of cortical circuits' development.

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

Work in Dr P Chavis laboratory was supported by INSERM. JI and LB were supported by the French Ministère de la Recherche (MENRT) and JMO by Fondation pour la Recherche Médicale. We thank the National Institute of Mental Health's Chemical Synthesis and Drug Supply Program for providing DNQX. We thank Dr O. Manzoni for helpful discussions and critical reading of the manuscript, Dr H. Martin for critical reading of the manuscript, all members of the Chavis laboratory for stimulating discussions, Dr C. Herry for helpful discussions on fear conditioning and R. Martinez for his expert technical help during the installation of our laboratory.

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

JI performed the electrophysiology and morphology experiments, conducted the data analyses and contributed to the design of the experiments. MJO designed, performed and analyzed the behavioral experiments. OL performed the electrophysiology experiments and conducted the data analyses. LB performed and analyzed some of the electrophysiology experiments. PC designed the experiments, supervised the entire project and wrote the manuscript.

#### REFERENCES

- Dityatev A, Schachner M, Sonderegger P. The dual role of the extracellular matrix in synaptic plasticity and homeostasis. *Nat Rev Neurosci* 2010; **11**: 735–746.
- Kruesel I. Reelin-mediated signaling in neuropsychiatric and neurodegenerative diseases. *Prog Neurobiol* 2010; **91**: 257–274.
- Berretta S. Extracellular matrix abnormalities in schizophrenia. *Neuropharmacology* 2011; **62**: 1584–1597.
- D'Arcangelo G, Miao GG, Chen SC, Soares HD, Morgan JL, Curran T. A protein related to extracellular matrix proteins deleted in the mouse mutant reeler. *Nature* 1995; **374**: 719–723.
- Herz J, Y Chen. Reelin lipoprotein receptors and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 2006; **7**: 850–859.
- Weeber EJ, Beffert U, Jones C, Christian JM, Forster E, Sweatt JD et al. Reelin and ApoE receptors cooperate to enhance hippocampal synaptic plasticity and learning. *J Biol Chem* 2002; **277**: 39944–39952.
- Qiu S, Zhao LF, Korwek KM, Weeber EJ. Differential reelin-induced enhancement of NMDA and AMPA receptor activity in the adult hippocampus. *J Neurosci* 2006; **26**: 12943–12955.
- Niu S, Yabut O, D'Arcangelo G. The Reelin signaling pathway promotes dendritic spine development in hippocampal neurons. *J Neurosci* 2008; **28**: 10339–10348.
- Rogers JT, Rusiana I, Trotter J, Zhao L, Donaldson E, Pak DT et al. Reelin supplementation enhances cognitive ability, synaptic plasticity, and dendritic spine density. *Learn Mem* 2011; **18**: 558–564.
- Ovadia G, Shifman S. The genetic variation of RELN expression in schizophrenia and bipolar disorder. *PLoS One* 2011; **6**: e19955.
- Aldinger KA, Plummer JT, Qiu S, Levitt P. Snapshot: genetics of autism. *Neuron* 2011; **72**: 411–418.
- Kim S, Webster MJ. The Stanley neuropathology consortium integrative database: a novel, web-based tool for exploring neuropathological markers in psychiatric disorders and the biological processes associated with abnormalities of those markers. *Neuropsychopharmacology* 2009; **35**: 473–482.
- Impagnatiello F, Guidotti AR, Pesold C, Dwivedi Y, Caruncho H, Pisu MG et al. A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 15718–15723.
- Fatemi SH. Reelin mutations in mouse and man: from reeler mouse to schizophrenia, mood disorders, autism and lissencephaly. *Mol Psychiatry* 2001; **6**: 129–133.
- Brosda J, Dietz F, Koch M. Impairment of cognitive performance after reelin knockdown in the medial prefrontal cortex of pubertal or adult rats. *Neurobiol Dis* 2011; **44**: 239–247.
- Tueting P, Costa E, Dwivedi Y, Guidotti A, Impagnatiello F, Manev R et al. The phenotypic characteristics of heterozygous reeler mouse. *NeuroReport* 1999; **10**: 1329–1334.
- Krueger DD, Howell JL, Hebert BF, Olausson P, Taylor JR, Naim AC. Assessment of cognitive function in the heterozygous reeler mouse. *Psychopharmacology (Berl)* 2006; **189**: 95–104.
- Fuster JM. The prefrontal cortex and its relation to behavior. *Prog Brain Res* 1991; **87**: 201–211.
- Goldman-Rakic PS. Architecture of the prefrontal cortex and the central executive. *Ann N Y Acad Sci* 1995; **769**: 71–83.
- Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature* 2008; **455**: 894–902.
- Lewis DA. Neuroplasticity of excitatory and inhibitory cortical circuits in schizophrenia. *Dialog Clin Neurosci* 2009; **11**: 269–280.
- Schumann CM, Bloss CS, Barnes CC, Wideman GM, Carper RA, Akshoomoff N et al. Longitudinal magnetic resonance imaging study of cortical development through early childhood in autism. *J Neurosci* 2010; **30**: 4419–4427.
- Mohn AR, Gainetdinov RR, Caron MG, Koller BH. Mice with reduced NMDA receptor expression display behaviors related to schizophrenia. *Cell* 1999; **98**: 427–436.
- Moghaddam B. Bringing order to the glutamate chaos in schizophrenia. *Neuron* 2003; **40**: 881–884.

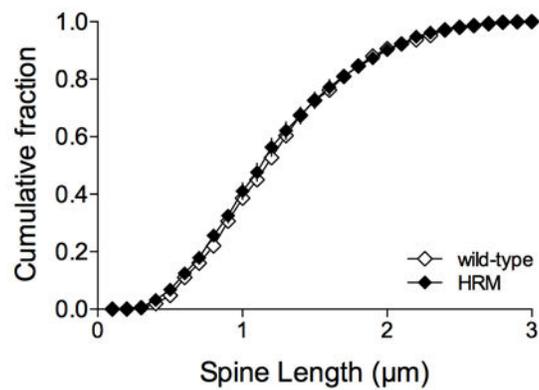
- 25 Feyissa AM, Chandran A, Stockmeier CA, Karolewicz B. Reduced levels of NR2A and NR2B subunits of NMDA receptor and PSD-95 in the prefrontal cortex in major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009; **33**: 70–75.
- 26 Groc L, Choquet D, Stephenson FA, Verrier D, Manzoni OJ, Chavis P. NMDA receptor surface trafficking and synaptic subunit composition are developmentally regulated by the extracellular matrix protein Reelin. *J Neurosci* 2007; **27**: 10165–10175.
- 27 Campo CG, Sinagra M, Verrier D, Manzoni OJ, Chavis P. Reelin secreted by GABAergic neurons regulates glutamate receptor homeostasis. *PLoS One* 2009; **4**: e5505.
- 28 Sinagra M, Verrier D, Frankova D, Korwek KM, Blahos J, Weeber EJ et al. Reelin, very-low-density lipoprotein receptor, and apolipoprotein E receptor 2 control somatic NMDA receptor composition during hippocampal maturation *in vitro*. *J Neurosci* 2005; **25**: 6127–6136.
- 29 Lafourcade M, Larrieu T, Mato S, Duffaud A, Sepers M, Matias I et al. Nutritional omega-3 deficiency abolishes endocannabinoid-mediated neuronal functions. *Nat Neurosci* 2011; **14**: 345–350.
- 30 LeDoux JE. Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci* 2000; **23**: 155–184.
- 31 Gogolla N, Caroni P, Luthi A, Herry C. Perineuronal nets protect fear memories from erasure. *Science* 2009; **325**: 1258–1261.
- 32 Kim JH, Richardson R. A developmental dissociation of context and GABA effects on extinguished fear in rats. *Behav Neurosci* 2007; **121**: 131–139.
- 33 Sotres-Bayon F, Quirk GJ. Prefrontal control of fear: more than just extinction. *Curr Opin Neurobiol* 2010; **20**: 231–235.
- 34 Maren S. Seeking a spotless mind: extinction, deconsolidation, and erasure of fear memory. *Neuron* 2011; **70**: 830–845.
- 35 Hirsch JC, Crepel F. Blockade of NMDA receptors unmasks a long-term depression in synaptic efficacy in rat prefrontal neurons *in vitro*. *Exp Brain Res* 1991; **85**: 621–624.
- 36 Penzes P, Cahill ME, Jones KA, VanLeeuwen JE, Woolfrey KM. Dendritic spine pathology in neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci* 2011; **14**: 285–293.
- 37 Petanjek Z, Judas M, Simic G, Rasin MR, Uylings HB, Rakic P et al. Extraordinary neoteny of synaptic spines in the human prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; **108**: 13281–13286.
- 38 Briner A, Nikonenko I, De Roo M, Dayer A, Muller D, Vutskits L. Developmental stage-dependent persistent impact of propofol anesthesia on dendritic spines in the rat medial prefrontal cortex. *Anesthesiology* 2011; **115**: 282–293.
- 39 Briner A, De Roo M, Dayer A, Muller D, Halbre W, Vutskits L. Volatile anesthetics rapidly increase dendritic spine density in the rat medial prefrontal cortex during synaptogenesis. *Anesthesiology* 2010; **112**: 546–556.
- 40 De Roo M, Klausner P, Briner A, Nikonenko I, Mendez P, Dayer A et al. Anesthetics rapidly promote synaptogenesis during a critical period of brain development. *PLoS One* 2009; **4**: e7043.
- 41 Li N, Lee B, Liu RJ, Banasr M, Dwyer JM, Iwata M et al. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. *Science* 2010; **329**: 959–964.
- 42 Li N, Liu RJ, Dwyer JM, Banasr M, Lee B, Son H et al. Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure. *Biol Psychiatry* 2011; **69**: 754–761.
- 43 Jacinto E, Loewith R, Schmidt A, Lin S, Ruegg MA, Hall A et al. Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. *Nat Cell Biol* 2004; **6**: 1122–1128.
- 44 Wang H, Stradtman 3rd GG, Wang XJ, Gao WJ. A specialized NMDA receptor function in layer 5 recurrent microcircuitry of the adult rat prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; **105**: 16791–16796.
- 45 Zhang ZW. Maturation of layer V pyramidal neurons in the rat prefrontal cortex: intrinsic properties and synaptic function. *J Neurophysiol* 2004; **91**: 1171–1182.
- 46 Teixeira CM, Martin ED, Sahun I, Masadch N, Pujadas L, Corvelo A et al. Over-expression of reelin prevents the manifestation of behavioral phenotypes related to schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 2011; **36**: 2395–2405.
- 47 Barr AM, Fish KN, Markou A, Honer WG. Heterozygous reeler mice exhibit alterations in sensorimotor gating but not presynaptic proteins. *Eur J Neurosci* 2008; **27**: 2568–2574.
- 48 Brigman JL, Padukiewicz KE, Sutherland ML, Rothblat LA. Executive functions in the heterozygous reeler mouse model of schizophrenia. *Behav Neurosci* 2006; **120**: 984–988.
- 49 Podhorna J, Didriksen M. The heterozygous reeler mouse: behavioural phenotype. *Behav Brain Res* 2004; **153**: 43–54.
- 50 Ammassari-Teule M, Sgobio C, Biamonte F, Marrone C, Mercuri NB, Keller F. Reelin haploinsufficiency reduces the density of PV+ neurons in circumscribed regions of the striatum and selectively alters striatal-based behaviors. *Psychopharmacology (Berl)* 2009; **204**: 511–521.
- 51 Qiu S, Korwek KM, Pratt-Davis AR, Peters M, Bergman MY, Weeber EJ. Cognitive disruption and altered hippocampus synaptic function in Reelin haploinsufficient mice. *Neurobiol Learn Mem* 2006; **85**: 228–242.
- 52 Salingler WL, Ladrow P, Wheeler C. Behavioral phenotype of the reeler mutant mouse: effects of RELN gene dosage and social isolation. *Behav Neurosci* 2003; **117**: 1257–1275.
- 53 Bavelier D, Levi DM, Li RW, Dan Y, Hensch TK. Removing brakes on adult brain plasticity: from molecular to behavioral interventions. *J Neurosci* 2010; **30**: 14964–14971.
- 54 Pizzorusso T, Medini P, Berardi N, Chierzi S, Fawcett JW, Maffei L. Reactivation of ocular dominance plasticity in the adult visual cortex. *Science* 2002; **298**: 1248–1251.
- 55 Waterhouse EG, Xu B. New insights into the role of brain-derived neurotrophic factor in synaptic plasticity. *Mol Cell Neurosci* 2009; **42**: 81–89.
- 56 Autry AE, Adachi M, Nosyreva E, Na ES, Los MF, Cheng PF et al. NMDA receptor blockade at rest triggers rapid behavioural antidepressant responses. *Nature* 2011; **475**: 91–95.
- 57 Liu RJ, Lee FS, Li XY, Bambico F, Duman RS, Aghajanian GK. Brain-derived neurotrophic factor Val66Met allele impairs basal and ketamine-stimulated synaptogenesis in prefrontal cortex. *Biol Psychiatry* 2011; **71**: 996–1005.
- 58 Gilmour G, Dix S, Fellini L, Gastambide F, Plath N, Steckler T et al. NMDA receptors, cognition and schizophrenia—testing the validity of the NMDA receptor hypofunction hypothesis. *Neuropharmacology* 2012; **62**: 1401–1412.
- 59 Jossin Y, Goffinet AM. Reelin signals through phosphatidylinositol 3-kinase and Akt to control cortical development and through mTOR to regulate dendritic growth. *Mol Cell Biol* 2007; **27**: 7113–7124.
- 60 Ehninger D, Silva AJ. Rapamycin for treating Tuberous sclerosis and autism spectrum disorders. *Trends Mol Med* 2011; **17**: 78–87.
- 61 Zhao MG, Toyoda H, Lee YS, Wu LJ, Ko SW, Zhang XH et al. Roles of NMDA NR2B subtype receptor in prefrontal long-term potentiation and contextual fear memory. *Neuron* 2005; **47**: 859–872.
- 62 Morishita W, Lu W, Smith GB, Nicoll RA, Bear MF, Malenka RC. Activation of NR2B-containing NMDA receptors is not required for NMDA receptor-dependent long-term depression. *Neuropharmacology* 2007; **52**: 71–76.
- 63 Liu L, Wong TP, Pozza MF, Lingenhoehl K, Wang Y, Sheng M et al. Role of NMDA receptor subtypes in governing the direction of hippocampal synaptic plasticity. *Science* 2004; **304**: 1021–1024.
- 64 Massey PV, Johnson BE, Moulton PR, Auberson YP, Brown MW, Molnar E et al. Differential roles of NR2A and NR2B-containing NMDA receptors in cortical long-term potentiation and long-term depression. *J Neurosci* 2004; **24**: 7821–7828.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

Supplementary Information accompanies the paper on the Molecular Psychiatry website (<http://www.nature.com/mp>)

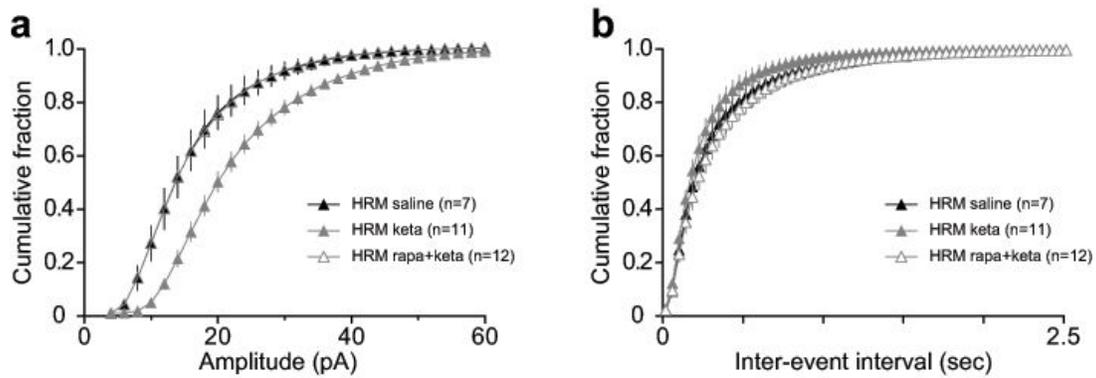
## SUPPLEMENTARY INFORMATION



**Supplementary Figure 1**

**Supplementary Figure 1. Spines length is similar in both juvenile HRM and wild-type mice.**

Cumulative frequency plots of spine length measured on oblique dendrites of layer V/VI PrPFC pyramidal neurons in wild-type (n=11 cells) and HRM (n=15 cells). Error bars represent SEM.

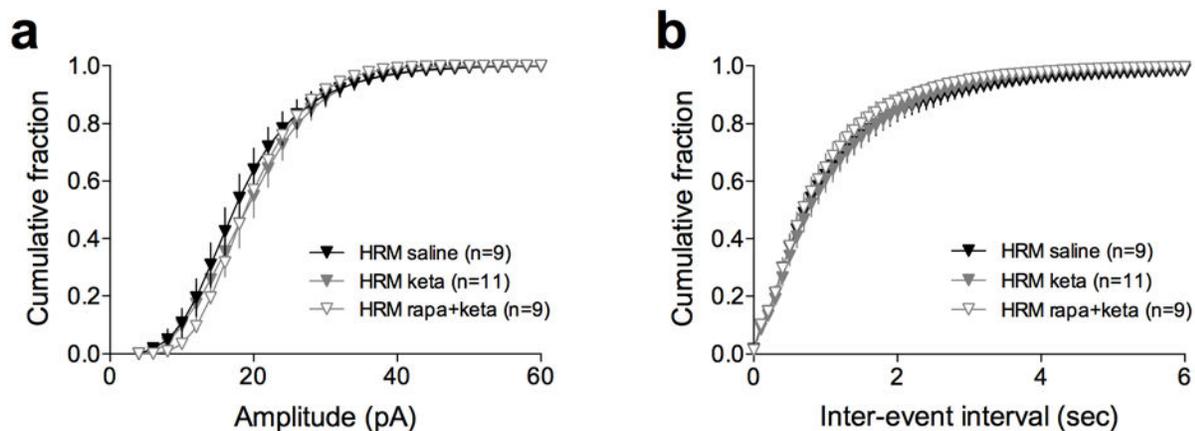


**Supplementary Figure 2**

**Supplementary Figure 2. Effect of rapamycin on the restorative properties of ketamine on synaptic AMPAR contents.**

**(a)** Cumulative histograms of the distribution of AMPAR-spEPSCs amplitudes measured in juvenile HRM injected with saline (black triangles), ketamine 30 or 100 mg/kg (keta, gray triangles) or rapamycin prior ketamine (rapa+keta, open gray triangles). Ketamine caused a dramatic shift of AMPAR-spEPSCs towards larger amplitudes compared to HRM saline ( $p = 0.008$ , Kolmogorov-Smirnov test). This effect was prevented by pretreatment with rapamycin ( $p = 0.965$ , Kolmogorov-Smirnov test, rapa+keta compared to HRM saline).

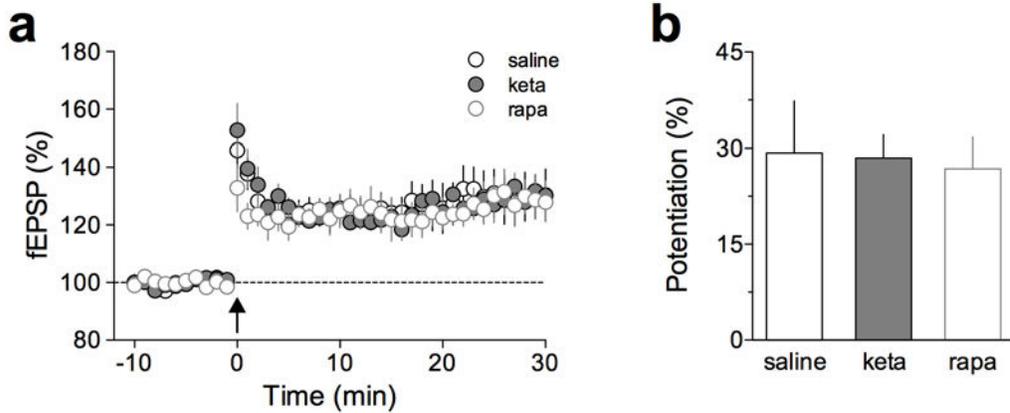
**(b)** Cumulative histograms of the distribution of AMPAR-spEPSCs inter-event intervals measured in the same groups as in panel a. Inter-events were significantly modified in ketamine-injected HRM compared to HRM saline ( $p = 0.039$ , Kolmogorov-Smirnov test) and this effect was prevented by rapamycin pretreatment ( $p = 0.999$ , Kolmogorov-Smirnov test compared to HRM saline). Data are ensemble average  $\pm$  SEM of cumulative distributions.



### Supplementary Figure 3

#### Supplementary Figure 3. Ketamine injection and pretreatment with rapamycin in HRM had no effect on NMDAR-spEPSCs.

Cumulative histograms of the distribution of NMDAR-spEPSCs amplitudes **(a)** or inter-event intervals **(b)** measured in juvenile HRM injected with saline (black triangles), ketamine 30 or 100 mg/kg (keta, gray triangles) or rapamycin prior ketamine (rapa+keta, open gray triangles). **(a)** Amplitudes were not different in ketamine-injected HRM ( $p = 0.998$ , Kolmogorov-Smirnov test) or in rapa+keta-injected HRM ( $p = 0.220$ , Kolmogorov-Smirnov test) compared to saline HRM. **(b)** The distribution of inter-event intervals was similar in all animal groups (Kolmogorov-Smirnov test:  $p = 0.125$  saline versus keta and  $p = 0.064$  saline versus rapa+keta). Spontaneous NMDAR-EPSCs were recorded at +40 mV in the presence of DNQX (20 $\mu$ M).

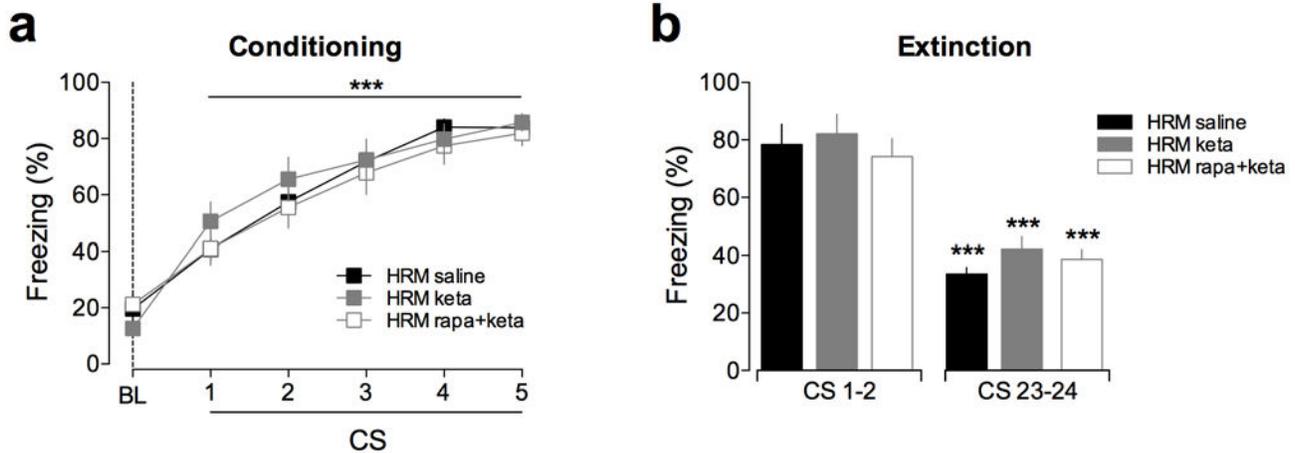


### Supplementary Figure 4

**Supplementary Figure 4. In juvenile wild-type mice, theta-burst LTP is neither affected by ketamine or rapamycin treatment.**

**(a)** Grouped time courses of fEPSP responses expressed as percentage of baseline before and after theta-burst (indicated by arrow) in wild-type mice treated either with saline (saline), ketamine (keta; 100mg/kg) or rapamycin (rapa; 3mg/kg).

**(b)** The percentage of potentiation measured between 20 and 30 min after TBS was  $29.3 \pm 8.1\%$  in saline (n=8),  $28.5 \pm 3.6\%$  in ketamine (n=8) and  $26.8 \pm 4.9\%$  in rapamycin (n=6). Error bars represent SEM and n is the number of animals.

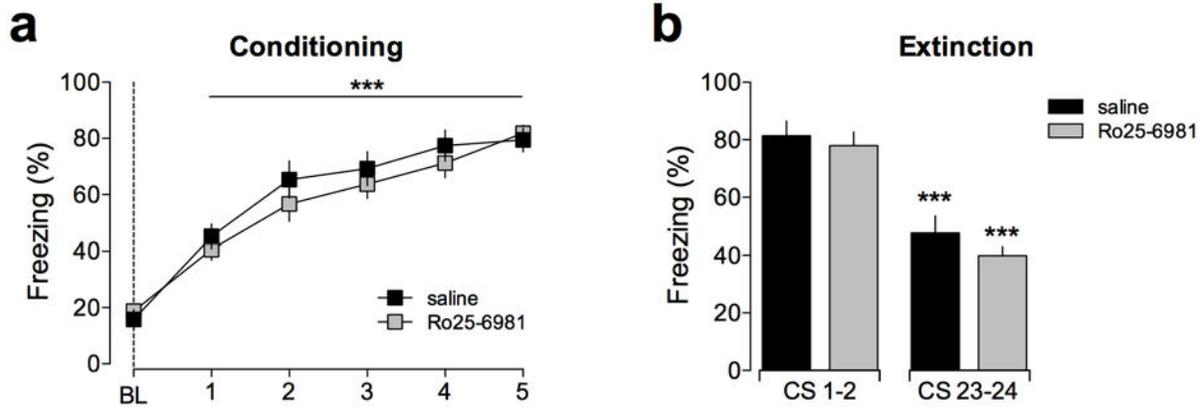


**Supplementary Figure 5**

**Supplementary Figure 5. Fear conditioning and extinction in HRM injected with either saline, ketamine or rapamycin prior ketamine.**

**(a)** During fear conditioning, HRM injected with either saline (black squares,  $n=9$ ), ketamine (gray squares,  $n = 9$ ) or rapamycin prior ketamine (rapa+keta, open gray squares,  $n = 7$ ) displayed similar freezing levels. All groups showed a significant increase in the percentage of freezing time after each paired CS-US presentation compared to their respective baseline (BL; \*\*\*  $P < 0.001$ ).

**(b)** During extinction, all groups showed a significant decrease of freezing levels between the first 2 and the last 2 trials of extinction sessions (\*\*\*  $P < 0.001$ ).

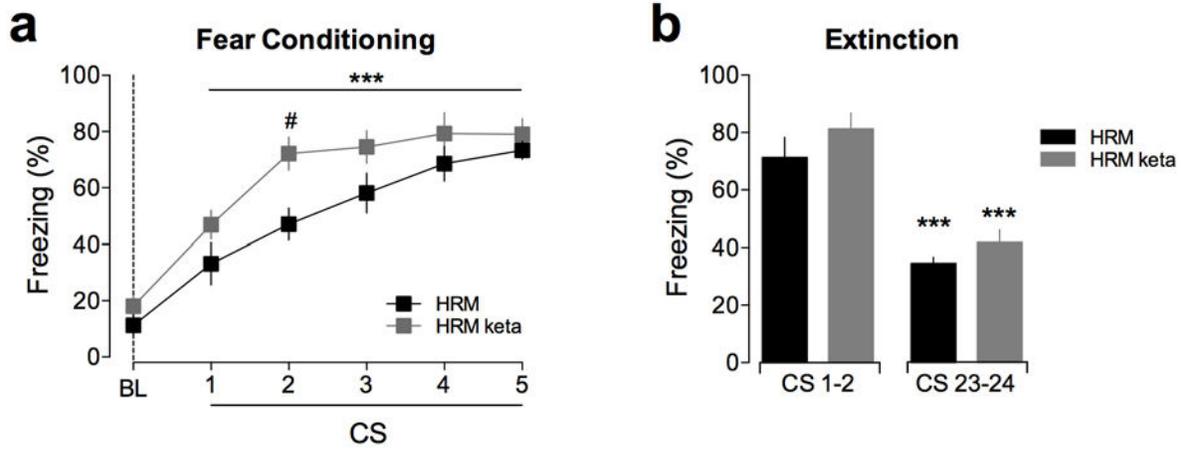


**Supplementary Figure 6**

**Supplementary Figure 6. Fear conditioning and extinction in Ro25-6981-injected HRM compared to saline treated littermates.**

**(a)** Similar freezing levels were measured during fear conditioning in Ro25-6981-injected HRM ( $n = 8$ ) and saline-injected HRM ( $n = 9$ ). Freezing progressively increases in both groups after each pair of tone-shock presentation. \*\*\*  $P < 0.001$ , significantly different when compared to their respective baseline (BL).

**(b)** Freezing behavior evoked by the first (CS 1-2) and last pair (CS 23-24) of CS presentation during extinction. Both groups of HRM pretreated with either Ro25-6981 ( $n = 8$ ) or saline ( $n = 9$ ) show significant auditory fear extinction in CS 23-24 when compared to the initial 2 trials of extinction session (\*\*\*  $P < 0.001$ ).



**Supplementary Figure 7**

**Supplementary Figure 7. Fear conditioning and extinction in adolescent HRM injected with ketamine at juvenile age.**

**(a)** Freezing behavior of HRM (n=8) and ketamine-injected HRM (n=7) during fear conditioning. Freezing progressively increases in both groups after each pair of tone-shock presentation. \*\*\*  $P < 0.001$ , significantly different when compared to their respective baseline (BL). The freezing percentage in CS2 is higher in ketamine-injected HRM (#  $P < 0.05$ ).

**(b)** During extinction both groups showed a significant decrease of freezing levels between the first 2 and the last 2 trials of extinction sessions (\*\*\*  $P < 0.001$ ).

## Statistical analysis.

### Figure 1.

**(a) Conditioning:** Two-way repeated-measure ANOVA (genotype x time) revealed a significant main effect of time ( $F_{(5,75)} = 82.54, P < 0.0001$ ), a non significant effect of genotype ( $F_{(1,15)} = 2.51, P > 0.05$ ) and a non significant interaction between factors ( $F_{(5,75)} = 0.54, P > 0.05$ ). \*\*\*  $P < 0.001$ , significantly different from BL (post-hoc pairwise comparisons with Bonferroni correction).

**(b) Extinction:** Two-way repeated-measure ANOVA (genotype x time) showed a significant main effect of time ( $F_{(1,15)} = 42.94, P < 0.0001$ ), a non-significant effect of genotype ( $F_{(1,15)} = 0.1, P > 0.05$ ) and a non significant interaction between factors ( $F_{(1,15)} = 0.01, P > 0.05$ ). \*\*\*  $P < 0.001$  significantly different from the initial 2 trials of the first extinction session (post-hoc pairwise comparisons with Bonferroni correction).

**(c) Renewal:** Two-way repeated-measure ANOVA (genotype x time) revealed a significant main effect of genotype ( $F_{(1,15)} = 8.80, P < 0.01$ ) and time ( $F_{(5,75)} = 3.28, P < 0.01$ ) and a significant interaction between factors ( $F_{(5,75)} = 3.08, P < 0.05$ ), followed by Sidak's multiple comparisons test for each CS presentation (\*\*\*  $P < 0.001$  and \*\*  $P < 0.01$ , wild-type versus HRM).

**(d)** Mann-Whitney t-test revealed significant higher freezing levels in no extinction HRM compared to extinction HRM both in the conditioning context (\*\*\*  $P < 0.001$ ) and during exposition to the CS (\*\*\*  $P < 0.001$ ).

### Figure 4.

**(a) Conditioning:** Two-way repeated-measure ANOVA (group x time) revealed a significant main effect of time ( $F_{(5,130)} = 100.4, P < 0.0001$ ) and a non-significant effect of group ( $F_{(2,26)} = 0.08, P > 0.05$ ) and a non significant interaction between factors ( $F_{(10,130)} = 1.58, P > 0.05$ ), . \*\*\*  $P < 0.001$ , significantly different from BL (post-hoc pairwise comparisons with Bonferroni correction).

**(b) Extinction:** Two-way repeated-measure ANOVA (group x time) showed a significant main effect of time ( $F_{(1,26)} = 87.0, P < 0.0001$ ) and a non significant effect of group ( $F_{(2,26)} = 1.57, P > 0.05$ ) and a non significant interaction between factors ( $F_{(2,26)} = 0.44, P > 0.05$ ). \*\*\*  $P < 0.001$  significantly different from the initial 2 trials of the first extinction session (post-hoc Sidak's multiple comparison test).

**(c) Renewal:** Two-way repeated-measure ANOVA (group x time) revealed a significant main effect of group ( $F_{(2,26)} = 3.56, P < 0.05$ ) and time ( $F_{(5,130)} = 3.52, P < 0.01$ ) and a non significant interaction between factors ( $F_{(10,130)} = 0.69, P > 0.05$ ). Post-hoc Bonferroni t-test revealed ##  $P < 0.01$  HRM saline versus wild-type saline and \*  $P < 0.05$  HRM saline versus HRM Keta.

**(d)** One-way ANOVA comparing the percentage of freezing behavior between groups during the first two CS presentations revealed a significant effect of treatment ( $F_{(2,22)} = 5.45, P < 0.01$ ). Post-Hoc

Newman-Keuls analysis revealed significant differences in HRM saline versus HRM Keta (\*\*  $P < 0.01$ ) and HRM Keta versus HRM Rapa+Keta (\*  $P < 0.05$ ).

#### Figure 5.

**(d) Renewal:** Two-way repeated-measure ANOVA (treatment x time) revealed a significant main effect of treatment ( $F_{(1,15)} = 5.36$ ,  $P < 0.05$ ) and a non significant effect of time ( $F_{(5,75)} = 1.86$ ,  $P > 0.05$ ) and a non significant interaction between factors ( $F_{(5,75)} = 0.82$ ,  $P > 0.05$ ), followed by Sidak's multiple comparisons test for each CS presentation (\*  $P < 0.05$  HRM saline versus HRM Ro 25-6981).

#### Figure 6.

**(a) Conditioning:** Two-way repeated-measure ANOVA (genotype x time) revealed a significant main effect of time ( $F_{(5,70)} = 80.90$ ,  $P < 0.0001$ ) and a non-significant effect of genotype ( $F_{(1,14)} = 1.11$ ,  $P > 0.05$ ) and a non-significant interaction between factors ( $F_{(50,70)} = 0.82$ ,  $P > 0.05$ ). \*\*\*  $P < 0.001$ , significantly different from BL (post-hoc pairwise comparisons with Bonferroni correction).

**(b) Extinction:** Two-way repeated-measure ANOVA (genotype x time) revealed a significant main effect of time ( $F_{(1,14)} = 107.0$ ,  $P < 0.0001$ ) and a non-significant effect of genotype ( $F_{(1,14)} = 2.86$ ,  $P > 0.05$ ) and a non-significant interaction between factors ( $F_{(2,14)} = 0.82$ ,  $P > 0.05$ ). #  $P < 0.05$  versus HRM saline (Tukey post-hoc test). \*\*\*  $P < 0.001$  significantly different from the initial 2 trials of the first extinction session (post-hoc pairwise comparisons with Bonferroni correction).

**(c) Renewal:** Two-way repeated-measure ANOVA (group x time) showed a significant main effect of group ( $F_{(2,20)} = 4.44$ ,  $P < 0.01$ ) and time ( $F_{(5,100)} = 2.32$ ,  $P < 0.05$ ) and a non-significant interaction between factors ( $F_{(10,100)} = 0.46$ ,  $P > 0.05$ ). #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$  HRM versus wild-type and \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  HRM versus HRM keta (Tukey post-hoc test).

**(d)** Mann-Whitney t-test revealed significant higher freezing levels in no extinction HRM compared to extinction HRM both in the conditioning context (\*\*\*)  $P < 0.001$ ) and during exposition to the CS (\*\*\*)  $P < 0.001$ ).

#### Supplementary Figure 5.

**(a) Conditioning:** Two-way repeated-measure ANOVA (treatment x time) showed a significant main effect of time ( $F_{(5,110)} = 107.5$ ,  $P < 0.0001$ ) and non significant effect of treatment ( $F_{(2,22)} = 0.25$ ,  $P > 0.05$ ) or interaction between factors ( $F_{(10,110)} = 0.98$ ,  $P > 0.05$ ). \*\*\*  $P < 0.001$ , significantly different from baseline (BL, pairwise comparisons with Bonferroni correction).

**(b) Extinction:** Two-way repeated-measure ANOVA (treatment x time) showed a significant main effect of time ( $F_{(1,22)} = 129.3$ ,  $P < 0.0001$ ) and a non significant effect of treatment ( $F_{(2,22)} = 0.69$ ,  $P > 0.05$ ) and a non significant interaction between factors ( $F_{(2,22)} = 0.58$ ,  $P > 0.05$ ). \*\*\*  $P < 0.001$ ,

significantly different from the initial 2 trials of the first extinction session (post-hoc pairwise comparisons with Bonferroni correction).

### **Supplementary Figure 6.**

**(a) Conditioning:** Two-way repeated-measure ANOVA (treatment x time) revealed a significant main effect of time ( $F_{(5,75)} = 76.36, P < 0.0001$ ), a non significant effect of treatment ( $F_{(1,15)} = 0.45, P > 0.05$ ) or interaction between factors ( $F_{(5,75)} = 0.81, P > 0.05$ ). \*\*\*  $P < 0.001$ , significantly different from BL (post-hoc pairwise comparisons with Bonferroni correction).

**(b) Extinction:** CS-evoked freezing during early and late extinction trials. Two-way repeated-measure ANOVA (treatment x time) showed a significant main effect of time ( $F_{(1,15)} = 90.6, P < 0.0001$ ), a non significant effect of treatment ( $F_{(1,15)} = 0.89, P > 0.05$ ) and a non significant interaction between factors ( $F_{(1,15)} = 0.32, P > 0.05$ ). \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*  $P < 0.01$  significantly different from the initial 2 trials of the first extinction session (post-hoc pairwise comparisons with Bonferroni correction).

### **Supplementary Figure 7.**

**(a) Conditioning:** Two-way repeated-measure ANOVA (treatment x time) revealed a significant main effect of time ( $F_{(5,65)} = 67.9, P < 0.0001$ ) and a non-significant effect of treatment ( $F_{(1,13)} = 4.4, P > 0.05$ ) and a non-significant interaction between factors ( $F_{(5,65)} = 1.53, P > 0.05$ ). \*\*\*  $P < 0.001$ , significantly different from BL (post-hoc pairwise comparisons with Bonferroni correction). Ketamine-injected HRM showed a higher level of freezing in CS2 (#  $P < 0.05$ , post-hoc pairwise comparisons with Bonferroni correction).

**(b) Extinction:** Two-way repeated-measure ANOVA (treatment x time) revealed a significant main effect of time ( $F_{(1,12)} = 81.6, P < 0.0001$ ) and a non-significant effect of treatment ( $F_{(2,12)} = 2.0, P > 0.05$ ) and a non-significant interaction between factors ( $F_{(2,12)} = 0.06, P > 0.05$ ). \*\*\*  $P < 0.001$  significantly different from the initial 2 trials of the first extinction session (post-hoc pairwise comparisons with Bonferroni correction).

**II. Article n°2 : Prefrontal endophenotypes linked to the psychiatric disorders susceptibility gene RELN are amenable to mechanism-based therapy.**

Iafrati J., Malvache A, Gonzalez-Campo C., Orejarena J., Lassalle O., Bouamrane L.and Chavis P.  
Soumis à Biological Psychiatry

## Article n°2

### **Prefrontal endophenotypes linked to the psychiatric disorders susceptibility gene RELN are amenable to mechanism-based therapy.**

#### **1/ Contexte et buts de l'étude**

Le PFC est le siège de différentes fonctions cognitives supérieures. Le PFC subit un remodelage synaptique intense durant l'adolescence et présente la particularité remarquable d'être la dernière structure du cerveau à atteindre la maturité (Fuster, 1991 ; Goldman-Rakic, 1995). Or, les mécanismes qui régissent la maturation des circuits du PFC sont très peu connus. De plus, il a été proposé que des anomalies survenant durant l'adolescence augmenteraient la vulnérabilité des individus aux maladies psychiatriques précoces comme la dépression et la schizophrénie (Jones, 1997; Lewis and Levitt, 2002; Raedler et al, 1998). Ceci renforce donc l'intérêt d'élucider les mécanismes moléculaires et cellulaires durant la maturation fonctionnelle et architecturale des circuits du PFC postnatal.

#### **2/ Approches**

Nous avons fait une étude comparative au niveau morphologique, fonctionnel et comportemental des souris HRM et sauvages sur une période développementale s'étendant du 10ème jour postnatal à 3 mois (P10 à P90). De manière similaire à l'étude précédente, nous avons utilisé des techniques d'électrophysiologie sur tranches aiguës de PFC, d'imagerie tridimensionnelle des épines dendritiques et d'analyse comportementale d'apprentissages associatifs de type pavlovien.

#### **3/ Résultats**

L'analyse des différents paramètres mesurés entre P10 et P90, nous a permis de distinguer 4 périodes de maturation du PFC entre P10 et P90: juvénile avant sevrage (P10- P20), juvénile après sevrage (P22-28), adolescence (P30-45) et jeune adulte (P50-90).

Nous avons établi un portrait morpho-fonctionnel des synapses glutamatergiques du PFC durant le développement postnatal. Nous avons montré une corrélation étroite entre la densité des épines dendritiques, la force de la transmission synaptique glutamatergique de type NMDA, la capacité de ces synapses à exprimer une plasticité synaptique à long terme et la mise en place des traces mnésiques matures.

Nos résultats montrent pour la première fois que la reelin participe à la maturation comportementale et morpho-fonctionnelle des circuits glutamatergiques dans le PFC. Ces résultats mettent en évidence l'existence d'un retard de maturation du comportement et des fonctions synaptiques glutamatergiques dans le PFC de souris exprimant des quantités réduites de reelin, et montrent ainsi que la reelin joue un rôle crucial durant les périodes de mise en place des mécanismes qui régissent la maturation de la plasticité cérébrale.

**Prefrontal endophenotypes linked to the psychiatric disorders susceptibility gene  
*RELN* are amenable to mechanism-based therapy.**

Jillian lafrati<sup>1,2,3</sup>, Arnaud Malvache<sup>1,2,3</sup>, Cecilia Gonzalez Campo<sup>1,2,3</sup>, M. Juliana Orejarena<sup>1,2</sup>,  
Olivier Lassalle<sup>1,2</sup>, Lamine Bouamrane<sup>1,2</sup> and Pascale Chavis<sup>1,2</sup>.

1 INSERM, INMED, Marseille, 13009, France.

2 Aix-Marseille University, UMRS 901, Marseille, 13009, France.

3 Co-first author

*Correspondence:* Pascale Chavis, INMED INSERM UMR 901 Parc Scientifique de Luminy  
BP 13, 13273 Marseille Cedex 09. pascale.chavis@inserm.fr

*Keywords:* prefrontal endophenotypes ; reelin haploinsufficiency ; multivariate analysis ;  
prefrontal maturation ; synaptic plasticity ; long-term memory.

*Short title:* Prefrontal endophenotypes linked to psychiatric risk factor reelin.

Abstract: 250 words

Article: 4199 words

Figures: 5

Table: 1 (in supplemental information)

Supplemental information: 2

## ABSTRACT

**Background:** The extracellular matrix glycoprotein reelin has recently emerged as a key element of the tetrapartite synapse and a major psychiatric risk factor for schizophrenia, bipolar disorders, major depression and ASD. How reelin contributes to the etiology of psychiatric diseases remains unknown. The mammalian prefrontal cortex (PFC) is characterized by a sensitive postnatal period during which injuries increase vulnerability of individuals to psychiatric diseases. The identification of the molecular components underlying this prolonged postnatal development is necessary to understand the synaptic properties of defective circuits participating to these psychiatric disorders.

**Methods:** To map the aggregate effect of reelin on PFC functions, we performed a cross-sectional analysis of synaptic and behavioral properties in reelin haploinsufficient mice and we implemented a multivariate analysis of variance (MANOVA) of bootstrapped spine morphometry, patch-clamp and behavioral datasets.

**Results:** MANOVA showed a developmental distribution pattern of assorted parameters (spine density, synaptic GluR content, plasticity and behavior), revealing a shift in the relative weight of specific endophenotypes. The preeminence of synaptic AMPA/NMDA receptor content at the juvenile stage shifts to long-term potentiation and memory renewal during adolescence followed by NMDA-GluN2B synaptic content in adulthood. In-vivo blockade of NMDA receptor with ketamine reestablished synaptic and behavioral functions in the juvenile PFC. MANOVA showed that ketamine-rehabilitated reelin haploinsufficient mice do not recapitulate wild-type juvenile endophenotypic traits.

**Conclusions:** By combining a coherent set of multiple traits, multivariate analysis delineated an endophenotypic sequence of prefrontal malfunctions linked to the *RELN* risk allele and showed they are amenable to mechanism-based therapeutic intervention.

## INTRODUCTION

The endophenotype approach has emerged as an important alternative method to study phenotypic variations in complex neuropsychiatric diseases (1). Endophenotypes are internal phenotypes defined as intermediate between genes and disease (2, 3) that were originally proposed as a tool to identify susceptibility genes for complex inherited traits (4). Endophenotypes belong to different categories – molecular, biochemical, neurophysiological, neuroanatomical, cognitive – and recently have become used, in translational psychiatric research to study the functional consequences of risk alleles (5).

Prefrontal dysfunctions have a role in the cognitive deficits of many psychiatric diseases including schizophrenia, bipolar disorders and depression (6, 7). A unique feature of the prefrontal cortex (PFC) is its protracted maturation (8): synaptogenesis and connectivity refinement in parallel to maturation of cognitive abilities continue into early adulthood (9-12). Several studies suggest that injuries occurring during this sensitive developmental period increase vulnerability of individuals to psychiatric diseases (13). The identification the molecular underpinnings of this prolonged postnatal development is necessary to understand the synaptic properties of defective circuits and for the rational design of innovative pharmacotherapies.

The extracellular matrix (ECM) protein reelin is expressed both in the embryonic and the postnatal brain where it plays different and multiple functions. Prenatally reelin is an essential factor for proper neuronal cell migration and formation of neuronal layers (7) whereas postnatally, it regulates synaptic function in various brain structures at different postnatal ages. Reelin participates in neonatal and adult hippocampal synaptic transmission and plasticity (14-17) and in adult hippocampal-dependent learning and memory (16, 18). Reelin is also essential to establish structural, functional and behavioral properties of PFC circuits during the juvenile period (19) and for cognitive performance at adolescent and adult

stages (20). However, the aggregate role of reelin across the different stages of postnatal maturation of the PFC remains unknown.

Gene association and clinical studies have revealed genetic variants in the *RELN* gene and disrupted reelin expression or signaling in several disorders including autism, schizophrenia, bipolar disorders and major depression (21, 22). Functional alterations and morphometric abnormalities of the PFC are a hallmark feature of these disorders (6, 23), thus reinforcing the link between reelin and PFC dysfunctions.

The first goal of the current study was to uncover the molecular underpinnings of PFC prolonged development and specifically determine the role of reelin in PFC postnatal maturation. For this purpose, we implemented a multiscale exploration to map the impact of reelin haploinsufficiency at the structural, functional and behavioral levels during different periods of PFC maturation, from youth to adulthood.

The second goal of our study was to identify prefrontal endophenotypes linked to reelin haploinsufficiency and obtain a precise quantification of parameters contributing to these endophenotypes. For this purpose, we applied multivariate analysis to bootstrapped datasets and evaluated the interrelationships between structural, functional and behavioral dysfunctions.

Multivariate analysis ought to identify synaptic properties underpinning defective neuronal circuits that mediate maladaptive behaviors. We hypothesized that this type of analysis would be a useful tool to design a mechanism-based pharmacotherapy (24). The third goal was to develop and test a data based-approach to design a tailored pharmacotherapy for reelin haploinsufficient prefrontal dysfunctions.

## **METHODS and MATERIALS**

### **Animals.**

The heterozygous reeler mouse (B6C3Fe a/a-ReInrl/J strain) breeding pairs were from the Jackson Laboratory. Animals were treated in compliance with the criteria of the European Communities Council Directive (86/609/EEC). Additional information is provided in Supplemental information 1.

### **Electrophysiology.**

Coronal PrPFC slices were prepared as previously described (25). Detailed information is provided in Supplemental information 1.

### **Dendritic spine reconstruction and quantification.**

All whole-cell recorded neurons were loaded with neurobiotin through patch pipettes and then processed for post-hoc analysis as previously described (19). See Supplemental information 1 for details.

### **Mouse behavior.**

Male HRM and littermate controls were trained in 3 phases, fear conditioning (day 1), extinction (days 2 and 3) and renewal training (day 10), using an ABA paradigm as we previously described (19). Detailed information is provided in Supplemental information 1.

### **Multivariate analysis of variance (MANOVA).**

MANOVA based on the multivariate version of the general linear model was performed using Matlab (R2011a). MANOVA is used to compare multivariate population means of several groups (age x genotype), thus taking advantage of the multidimensional measurements obtained for each individual.

Since it is not experimentally viable to measure all these parameters for every animal, we used a parametric (normal) bootstrap method to create random samples based on the distributions obtained for each parameter. We first tested the deviation from normality of each parameter by comparing the t-statistic of the sample to the "95% rule" of normal distributions: 52 out of 59 samples (parameter x age x genotype) displayed less than 5% "2 $\sigma$  events", the 7 remaining samples (spread among 5 parameters) had only one event bigger than 2 $\sigma$  (likely experimental outliers) but the percentage was bigger than 5% due to small number of points in the sample (**Supplemental Information 2**). Distributions were then built from experimental data for both genotypes in each maturational period using a normal distribution for each parameter. A robust estimate of the probability distribution function (PDF) was computed using the following equation:  $PDF(x) = e^{-(x-\bar{m})^2/\sigma^2}$ . The Gaussian function was centered at the median value  $\bar{m}$  and we used the interquartile range (IQR) of the data as an estimation of the standard deviation  $\sigma = IQR/1.35$  (the value 1.35 corresponds to the IQR of a normal distribution with a standard deviation equaled to 1). We randomly created a large set of virtual samples (n=100,000 per group) following experimentally-deduced distributions for each group, age x genotype.

The MANOVA was then computed between wild-type and HRM within each developmental period. This analysis provided the relative contribution of each parameter and was then used to generate a new optimized weighted parameter. Derived from the weight of each parameter, an optimized parameter was calculated to maximize the difference between both genotypes at every developmental stage and its robustness was quantified by the variance increase of MANOVA. The optimized parameters were finally used to estimate the statistical significance of the difference between wild-type and HRM. Based on the average number of experimental points obtained for each group, we created 10 random virtual samples per group, age x genotype. To obtain a median *P* value for each time period, a t-test on the distributions of the optimized parameters between both genotypes was iterated 1000 times.

**Statistical analysis.**

All values are given as mean  $\pm$  SEM and statistical significance was set at  $p < 0.05$ . Univariate multiple comparisons were made using a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by a post-hoc Tukey's Test if significant (GraphPad Prism 5.0).

## RESULTS

To study the role of reelin in the postnatal maturation of the PFC, we evaluated the effects of an extracellular neuronal environment impoverished in reelin on the morpho-functional and behavioral maturation of the PFC by comparing wild-type and reelin-haploinsufficient heterozygote reeler mice (HRM). The present study was undertaken across the first 3 months of postnatal life, at juvenile stages before (P10-20) and after weaning (P22-28), during adolescence (P30-45) and adulthood (P50-90) (26). We focused on glutamatergic synapses of layer V/VI pyramidal neurons, the main excitatory output of the prelimbic PFC (PrPFC) microcircuit.

### **Prefrontal dendritic spine density is reduced in juvenile reelin haploinsufficient mice.**

Spines and dendritic architecture are influenced by ECM (27, 28) and subject to intense maturational processes in the postnatal PrPFC (11, 29, 30). We prepared slices containing the PrPFC and examined the postnatal maturation of dendritic spines in deep layer pyramidal neurons of HRM and wild-type littermates. We performed a post hoc three-dimensional reconstruction following confocal imaging of layer V/VI pyramidal neurons filled with neurobiotin during the electrophysiological experiments (Figure 1A). Quantitative analysis revealed a reduction in the density of spines in P10-20 and P22-28 HRM compared to age-matched wild-type littermates (Figure 1B). This decrease was restricted to the juvenile stage and no difference was observed between genotypes in adolescent and adult mice ( $F_{(7,72)}=2.409$ ,  $p=0.0284$  ANOVA; Figure 1B). Thus, our data indicate that reelin is critical to the structural maturation of juvenile PrPFC spines.

### **Synaptic glutamate receptor content is modified in juvenile HRM.**

Dendritic spines are the main recipients of excitatory transmission and as a consequence the principal loci of activity-dependent synaptic rearrangements. Thus, we

examined whether structural abnormalities observed in HRM correlated with altered maturation in the synaptic content of glutamate ionotropic receptors of layer V/VI pyramidal neurons by recording AMPA- and NMDA-mediated spontaneous EPSCs (sEPSCs; **Figure 1C, D**). In both genotypes, the mean amplitude of AMPA-sEPSCs remained unchanged during postnatal maturation (**Figure 1C**). In contrast, the NMDA-sEPSCs mean amplitude was robustly increased in juvenile HRM compared to wild-type (**Figure 1D**). No differences were observed between genotypes at adolescent and adult stages. When examined within each genotype, the size of NMDA-sEPSCs in HRM decreased at P30-45 and remained stable during adulthood ( $F_{(3,40)}=4.785$ ,  $p=0.0061$ , ANOVA; **Figure 1D**), whereas in wild-type it remained identical throughout maturation ( $F_{(3,42)}=1.506$ ,  $p=0.2270$  ANOVA; **Figure 1D**).

To address whether the genotype-dependent differences in synaptic NMDA receptor (NMDAR) content reflected on the functional maturation of the synaptic gain, we compared the ratio of AMPA- to NMDA-mediated EPSCs between wild-type and HRM (**Figure 1E**). At P10-20 and P22-28, the AMPA/NMDA ratio was largely reduced in HRM compared to age-matched wild-type. This decrease was restricted to the juvenile period and no differences were observed between genotypes at adolescent and adult stages ( $F_{(7,64)}=9.265$ ,  $p<0.001$  ANOVA; **Figure 1E**). These results reveal that the augmented AMPA/NMDA ratio in juvenile HRM is due to an increase in function and/or number of NMDAR.

Altogether, our data indicate that reelin is necessary for the correct functional and structural maturation of PrPFC excitatory synapses during a restricted period of postnatal development.

### **Reelin haploinsufficiency prevents NMDAR subunit switching in layer V/VI pyramidal neurons.**

A hallmark feature of synaptic development in forebrain is the switch from predominantly GluN2B-containing to GluN2A-containing NMDARs (31-34), which is reflected

by a reduced sensitivity of NMDA-EPSC towards allosteric modulators of GluN1/GluN2B (35-37). We previously showed that decreasing reelin levels or impairing reelin signaling delayed the maturational switch of NMDARs from GluN2B- to GluN2A-containing receptors (15, 17, 38).

To examine the impact of reelin haploinsufficiency in the subunit composition of NMDAR across development in the PFC, we characterized the maturational time course of NMDA-EPSC inhibition by the noncompetitive GluN2B-selective antagonist Ro25-6981 (**Figure 2**). In wild-type mice, the fraction of Ro25-6981-sensitive NMDA-EPSCs remained elevated during the juvenile and adolescent period and decreased abruptly during adulthood ( $F_{(3,32)}=6.603$ ,  $p=0.0013$ , ANOVA; **Figure 2A**). In juvenile and adolescent HRM, the Ro25-6981 inhibition of NMDA-EPSCs was similar to age-matched wild-type. However in adult HRM, the effect of Ro25-6981 was significantly larger compared to wild-type mice showing that the proportion of GluN2B-NMDARs remains higher in HRM at this stage ( $F_{(7,69)}=4.826$ ,  $p=0.0002$ , ANOVA; **Figure 2A, B**). These data show that, in wild-type mice, the classical developmental switch in the subunit composition of synaptic NMDARs occurs much later than in other forebrain structures, and that reelin is necessary to shift NMDARs to a mature subunit composition at adult stage.

### **Reelin haploinsufficiency disrupts long-term potentiation and renewal of associative learning.**

Alterations in spine density and/or structure and basic synaptic properties are likely to impact on higher functions such as synaptic plasticity. In wild-type mice, theta-burst stimulation (TBS) induced a robust long-term potentiation (LTP) of field excitatory postsynaptic potentials (fEPSP) measured at excitatory synapses onto layer V/VI pyramidal neurons at all ages tested (**Figure 3A, B**). The magnitude of TBS-LTP remained similar from juvenile to adulthood ( $F_{(3,43)}=0.8102$ ,  $p=0.4952$  ANOVA). TBS-LTP was blocked by AP5

confirming that it was mediated by NMDARs (not shown) (39). Thus, NMDAR-dependent LTP is an early attribute of postnatal PrPFC synapses.

In marked contrast to wild-type mice, TBS-LTP was absent in HRM throughout the juvenile period (**Figure 3A, B**) and reduced during adolescence. In adults however, TBS induced a robust LTP ( $F_{(3,55)}=19.08$ ,  $p<0.001$  ANOVA), the magnitude of which was indistinguishable from age-matched wild-type littermates (**Figure 3A, B**). In adolescent and adult HRM, TBS-LTP was dependent upon NMDARs (not shown). These data show that reelin haploinsufficiency negatively impacts on TBS-LTP during selected temporal windows – i.e. the juvenile and adolescent stages – of postnatal development. We observed that the magnitude of plasticity of excitatory synapses at PrPFC layer V/VI pyramidal neurons is robustly correlated to the AMPA/NMDA ratio in the maturing PFC (**Figure 3C**) further validating this ratio as a reliable indicator of synaptic plasticity. Together, these data reveal that normal levels of reelin are necessary for the expression of NMDAR-dependent LTP in the PrPFC during early postnatal development.

Wild-type and HRM were submitted to fear conditioning, a classical form of associative learning (19). Mice were trained from the post-weaning juvenile period to adulthood. No differences were observed between wild-type and HRM from P22 to P90 either in the associative conditioned learning or in the extinction of learned fear (not shown). Thus, acquisition and extinction of associative fear memories are not affected by reelin haploinsufficiency. To test the renewal of the original memory, mice were re-exposed to the conditioned stimulus in the acquisition context 7 days after extinction. Wild-type mice exhibited a stable context-dependent renewal of fear memory from the juvenile age to adulthood ( $F_{(2,44)}=1.194$ ,  $p=0.3126$  ANOVA; **Figure 3D**). In contrast, renewal was impaired in HRM trained during the juvenile period and gradually increased in mice trained during adolescence ( $F_{(2,44)}=18.81$ ,  $p<0.001$  ANOVA; **Figure 3D**). At the adult stage, the percentage of renewal in HRM was identical to wild-type mice (**Figure 3D**). The maturational profile of

renewal in HRM is reminiscent of the one obtained for TBS-LTP and both parameters are tightly correlated (Figure 3E). Altogether these data show that reelin controls the covariation of multiple parameters such as the synaptic gain, LTP and renewal.

#### **Multivariate analysis reveals subgroups of phenotypic traits specific of prefrontal maturational epochs.**

So far, our multiscale study across development had relied on classical analysis of data: variance analysis of a single parameter measured across time x genotype and correlation between two parameters with regression analysis. To consider the multi-dimensional nature of the data, we next proceeded to a global analysis in order to robustly compare wild-type and HRM across maturation.

For this purpose, we used multivariate analysis of variance (MANOVA) and statistically analyzed the distribution pattern of all parameters measured in both genotypes during maturation (Figure 4). MANOVA requires all parameters to be measured in the same animal. Since it is not feasible due to experimental constraints, we computed bootstrapped datasets e.g. virtual samples built from experimental data distribution, to create samples for all parameters in virtual mice (see Methods and Materials). We examined the maturational profile of both the relative contribution of each measured factor and the global contribution of all factors to the difference between the two genotypes. We calculated a global parameter (see Methods and Materials) that provides an optimized combination of measured factors - spine density, AMPA- and NMDA-sEPSCs amplitudes, AMPA/NMDA ratio, Ro25-6981-sensitivity of NMDA-EPSCs (GluN2B), TBS-LTP and magnitude of renewal - and allows an optimal estimation of the statistical difference between wild-type and HRM across postnatal maturation.

Analysis of the relative weight of each factor revealed the predominant contribution of NMDA-sEPSCs, AMPA/NMDA ratio and TBS-LTP during the juvenile period (P10-20 and

P22-28; **Figure 4A**). Noteworthy, NMDA-sEPSC amplitude distribution was anticorrelated to the other factors during the same period (**Figure 4A**). At the adolescent stage, LTP and magnitude of renewal had the most elevated weight and it shifted to GluN2B-containing NMDARs at the adult stage. The weighted contribution of spine density was overall weak across maturation. Although the variance increase of the MANOVA was reduced after weaning, the median  $P$  value of the optimized parameter reveals the two genotypes are statistically different at all maturational stages (**Figure 4A**). Multivariate analysis is very powerful as it takes into account the aggregate effect of multiple factors thus revealing significance that was masked when parameters were considered independently. Indeed, when we applied MANOVA on the 6 parameters that were not different between HRM and wild-type at P30-45 – e.g. spine density, AMPA- and NMDA-sEPSCs, AMPA/NMDA ratio, GluN2B and renewal - the variance increase of the optimized parameter was 42% and the two genotypes became statistically different ( $P < 0.001$ ; not shown).

We further sought to determine which parameters accounted for the difference between wild-type and HRM during maturation. We found that NMDA-sEPSC amplitude and AMPA/NMDA ratio accounted for more than half of the variance increase of all parameters during the juvenile period (52% at P10-20 and 54% at P22-28, **Figure 4B**) and that they became undistinguishable between wild-type and HRM at P30-45. We then analyzed the combination TBS-LTP/renewal (**Figure 4C**) and found that their relative weight was similar at P22-28 and P30-45. The variance increase of the resulting parameter represented 59% of the variance increase of all parameters at the adolescent period (**Figure 4C**) showing that they predominantly contributed to the difference between wild-type and HRM at this developmental stage. During adulthood, the proportion of GluN2B-containing NMDA receptors sustained the difference between both genotypes (**Figure 4A**).

Altogether, these results strengthen and extend further our previous conclusions based on single parameter analysis (**Figures 1, 2 and 3**). They show that wild-type and

HRM are statistically different from the juvenile to the adult period for the factors measured (Figure 4A). These results show that during the juvenile period two parameters, NMDA-sEPSC amplitude and AMPA/NMDA ratio, predominantly account for the difference between both genotypes (Figure 4B). During the adolescent stage, the difference between wild-type and HRM mainly relies on the magnitudes of TBS-LTP and fear renewal, whereas in adulthood it relies on Ro25-6981-sensitivity of NMDAR-EPSCs.

**Ketamine-treatment in juvenile HRM restores synaptic and behavioral functions but does not recapitulate wild-type endophenotype.**

So far, we have identified population parameters and developmental windows at which they predominantly contribute to prefrontal endophenotypes. We tested the hypothesis that this analysis enables a mechanism-based approach to treatment, given that it provides information on appropriate developmental epochs and a family of pharmacological compounds potentially efficient at rehabilitating dysfunctional PFC maturation in HRM.

Multivariate analysis, presented in Figure 4, predicts that targeting NMDARs during the postweaning juvenile period could repair the defective maturation of PrPFC in reelin-haploinsufficient mice. To test this prediction, we examined the endophenotypic effect of the NMDAR antagonist ketamine administered to P22-28 juvenile HRM (19). A single in-vivo injection of ketamine reinstates spine density, TBS-LTP and fear renewal to levels similar to wild-type mice (Figure 5A). It also markedly enhanced AMPA-sEPSCs amplitude compared with wild-type littermates, but did not affect NMDA-sEPSCs amplitude compared to control HRM (Figure 5A).

Using MANOVA, we analyzed the distribution pattern of all parameters measured at the juvenile post-weaning stage, P22-28, in wild-type mice and HRM either untreated or injected with ketamine (Figure 5B). We calculated the relative contribution of the following

factors, spine density, AMPA- and NMDA-sEPSCs amplitude, TBS-LTP and renewal magnitudes to the difference between wild-type and HRM (untreated, **Figure 5B**). The variance increase of the MANOVA for these factors shows that both genotypes are statistically different. To evaluate the robustness of the rehabilitation by ketamine, we used the weights obtained from the MANOVA to compute a global parameter combining these different factors (**Figure 5D**). We found that the global parameter for HRM-K was not different from wild-type, showing that ketamine is effective in globally rescuing reelin-haploinsufficient dependent deficits in juvenile PFC (**Figure 5D**). Finally, we dissected the pattern of parameters distribution underpinning ketamine rehabilitation and analyzed their relative weight by comparing wild-type to HRM injected with ketamine (HRM-K; **Figure 5B**). The variance increase in the MANOVA revealed that ketamine treatment induced a pattern of parameters distribution significantly different from the one obtained in untreated conditions. The relative weight analysis shows this results from a switch in factors contributing predominantly to the difference between wild-type and HRM in different condition e.g. from TBS-LTP and NMDA-sEPSCs in untreated to AMPA-sEPSCs in ketamine-injected mice (**Figure 5B, C**).

Altogether, these results show treatment with the NMDARs antagonist ketamine robustly rehabilitates PFC maturation in juvenile HRM, but that ketamine treated juvenile HRM do not recapitulate the wild-type mouse juvenile endophenotype.

## DISCUSSION

By combining cross-sectional and multiscale exploration with multivariate analysis of variance of bootstrapped datasets, we developed a new method to analyze the interrelationships between multiple variables - structure, function, behavior and age. We also validated this approach as a useful tool to identify new endophenotypes and predict neuronal target and therapeutic window. Our results show that the differences between wild-type and reelin haploinsufficient mice resulted from parameter interactions specific to each maturational period. Indeed, properties of prefrontal excitatory layer V/VI synapses represent a complex trait marker that may be considered as a reliable endophenotype. Finally, our data show that ketamine administration at the juvenile stage induced new endophenotypes through a rehabilitation of prefrontal properties rather than a reversal to wild-type endophenotypic traits.

In wild-type mice, parameters directly related with basic properties of excitatory synapses - spine density, AMPA- and NMDA-sEPSCs amplitude, magnitude of TBS-LTP - did not significantly change from the pre-weaning juvenile period to 3 months old adulthood showing that the layer II/III to layer V/VI excitatory projections are functional early on. In contrast, in hippocampal CA1 the AMPA/NMDA ratio and LTP increase from juvenile (P14) to adolescence (6-7 weeks) (40) as does the AMPA/NMDA ratio at nucleus accumbens synapses between juvenile and adult stages (41), reinforcing the peculiarity of postnatal PFC maturation. We also found, in agreement with a previous study (35), that the decrease in synaptic GluN2B-containing NMDARs is delayed towards adulthood. This is in contrast to other structures - hippocampal CA1 pyramidal cells, medium spiny neurons of the nucleus accumbens and pyramidal cells of the barrel cortex – in which the decreased sensitivity to GluN2B antagonist is completed as early as the second postnatal week (33, 37, 41-43). The remaining fraction of GluN2B antagonist-insensitive current is similar either in PrPFC, hippocampus or accumbens suggesting that the proportion of GluN2B-NMDAR is equivalent

in these limbic structures (37, 41, 43). Interestingly, these limbic structures undergo incomplete GluN2B subunit switching compared to the barrel cortex (42, 43).

In adult HRM, the NMDAR subunit composition is kept in an immature stage characterized by an increased sensitivity to the GluN2B-NMDAR selective antagonist Ro25-6981. This finding reinforces our previous studies which showed that *in vitro* reelin is necessary for the maturation of NMDARs (15, 17, 38). It is acknowledged that the developmental switch from primarily containing GluN2B subunits to predominant GluN2A-containing NMDARs occurs at a time window coincident with synapses maturation, circuit refinement and acquisition of learning abilities (44). Thus, the greater contribution of GluN2B in the adult PFC of HRM could be an aggravating factor for prefrontal dysfunction in psychiatric disorders related to reelin haploinsufficiency.

Using traditional univariate analysis, we showed that in juvenile HRM, reduction of spine density is concomitant to a decreased AMPA/NMDA ratio, the latter resulting from an increased amplitude of NMDA-sEPSCs. In juvenile and adolescent HRM, disruption of TBS-LTP is age-correlated to deficits in fear renewal. At adult stages, spine density, stoichiometry of synaptic glutamatergic receptors, long-term plasticity and memory are recovered to normal levels in HRM. Similarly, it has been shown that adult HRM exhibit very minimal hippocampal spine density deficits compared to wild-type (45). These observations could be explained by the existence of homeostatic processes or adaptative mechanisms engaging different signal transduction pathways at the adult stage. However, it does not exclude that deficiencies observed at juvenile stages will affect adult properties differently than those measured in this study or will render adult HRM more susceptible to mild environmental insults (46).

Most reports studying the impact of a genetic mutation on synaptic physiology utilize traditional univariate analysis. This type of analysis is not optimal as it relies on a high statistical threshold owing to individually testing significance for multiple factors and does not

take into account the aggregate effects of the mutation that likely underpin complex phenotypes. To gain a more sensitive and powerful insight in our cross-sectional study and in the analysis of multiple traits of PFC postnatal maturation, we applied a multivariate procedure to our data. Multivariate analysis revealed that for the parameters measured in this study, HRM and wild-type are significantly different from the juvenile period to adulthood. We also dissected the predominant contributors to this difference and found that synaptic glutamate receptor content prevailed at the juvenile stage and that it switches to synaptic plasticity and memory retention at adolescence and to synaptic NMDAR subtype in adulthood. Spine density scarcely contributed to the difference between both genotypes at all ages, thus challenging the paramount role attributed to abnormal spine density and/or morphology in underlying cognitive deficits occurring in psychiatric diseases (23, 47, 48).

We quantified the precise contribution of multiscale parameters to prefrontal endophenotypes linked to reelin-haploinsufficiency to understand the mechanisms linked to dysfunctions and propose therapies. We found this strategy was very efficient as it revealed not only the molecular substrate and the type of pharmacological compound but also the appropriate maturational period. We found that a single injection of ketamine, an anesthetic and fast acting antidepressant (49, 50), during the juvenile period induced a robust pharmacological rehabilitation of reelin-haploinsufficient mice. We observed that ketamine treatment changed the distribution pattern of multiscale parameters showing that the endophenotype of pharmacologically rehabilitated HRM differs from wild-type animals.

In conclusion, the endophenotype approach is well suited to study the functional consequences of risk alleles and to design tailored pharmacological therapies.

**Acknowledgments:** Work in Dr. P. Chavis laboratory was supported by INSERM and Fondation Jérôme Lejeune (R13913AA). JI was supported by the French Ministère de la Recherche (MENRT), CGC was supported by INSERM and Fondation pour la Recherche Médicale, JMO by Fondation pour la Recherche Médicale (DRM20101220441) and LB was supported by MENRT. The authors thank Drs. OJJ Manzoni and HGS Martin for helpful discussions and critical reading of the manuscript and the microscopy core facility headed by Dr. Michel (InMAGIC).

**Author contributions:** JI performed electrophysiology, morphology and behavioral experiments, conducted the data analysis and contributed to the design of the experiments. AM designed and performed bootstrapped procedure and multivariate analysis. CGC performed some of the electrophysiology experiments. MJO designed performed and analyzed the behavioral experiments. OL performed electrophysiology experiments. LB performed and analyzed some of the electrophysiology and behavioral experiments. PC designed the experiments, conducted data analysis, supervised the entire project and wrote the manuscript.

**Financial Disclosures:** The authors declare no biomedical financial interests or potential conflicts of interest.

## REFERENCES

1. Bearden CE, Freimer NB (2006): Endophenotypes for psychiatric disorders: ready for primetime? *Trends in genetics : TIG*. 22:306-313.
2. Kendler KS, Neale MC (2010): Endophenotype: a conceptual analysis. *Molecular psychiatry*. 15:789-797.
3. Gottesman, II, Shields J (1973): Genetic theorizing and schizophrenia. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*. 122:15-30.
4. Gottesman, II, Gould TD (2003): The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *The American journal of psychiatry*. 160:636-645.
5. Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR (2006): Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nature reviews Neuroscience*. 7:818-827.
6. Drevets WC (2000): Functional anatomical abnormalities in limbic and prefrontal cortical structures in major depression. *Progress in brain research*. 126:413-431.
7. Casanova MF (1997): Functional and anatomical aspects of prefrontal pathology in schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*. 23:517-519.
8. Gogtay N, Giedd JN, Lusk L, Hayashi KM, Greenstein D, Vaituzis AC, et al. (2004): Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 101:8174-8179.
9. van Eden CG, Kros JM, Uylings HB (1990): The development of the rat prefrontal cortex. Its size and development of connections with thalamus, spinal cord and other cortical areas. *Progress in brain research*. 85:169-183.
10. Petit TL, LeBoutillier JC, Gregorio A, Libstug H (1988): The pattern of dendritic development in the cerebral cortex of the rat. *Brain research*. 469:209-219.
11. Petanjek Z, Judas M, Simic G, Rasin MR, Uylings HB, Rakic P, et al. (2011): Extraordinary neoteny of synaptic spines in the human prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 108:13281-13286.
12. Luna B, Thulborn KR, Munoz DP, Merriam EP, Garver KE, Minshew NJ, et al. (2001): Maturation of widely distributed brain function subserves cognitive development. *NeuroImage*. 13:786-793.
13. Schubert D, Martens GJ, Kolk SM (2014): Molecular underpinnings of prefrontal cortex development in rodents provide insights into the etiology of neurodevelopmental disorders. *Molecular psychiatry*.
14. Weeber EJ, Beffert U, Jones C, Christian JM, Forster E, Sweatt JD, et al. (2002): Reelin and ApoE receptors cooperate to enhance hippocampal synaptic plasticity and learning. *The Journal of biological chemistry*. 277:39944-39952.
15. Sinagra M, Verrier D, Frankova D, Korwek KM, Blahos J, Weeber EJ, et al. (2005): Reelin, very-low-density lipoprotein receptor, and apolipoprotein E receptor 2 control somatic NMDA receptor composition during hippocampal maturation in vitro. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 25:6127-6136.
16. Qiu S, Korwek KM, Pratt-Davis AR, Peters M, Bergman MY, Weeber EJ (2006): Cognitive disruption and altered hippocampus synaptic function in Reelin haploinsufficient mice. *Neurobiology of learning and memory*. 85:228-242.
17. Groc L, Choquet D, Stephenson FA, Verrier D, Manzoni OJ, Chavis P (2007): NMDA receptor surface trafficking and synaptic subunit composition are developmentally regulated by the extracellular matrix protein Reelin. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 27:10165-10175.
18. Rogers JT, Rusiana I, Trotter J, Zhao L, Donaldson E, Pak DT, et al. (2011): Reelin supplementation enhances cognitive ability, synaptic plasticity, and dendritic spine density. *Learning & memory*. 18:558-564.
19. Iafrati J, Orejarena MJ, Lassalle O, Bouamrane L, Gonzalez-Campo C, Chavis P (2014): Reelin, an extracellular matrix protein linked to early onset psychiatric diseases, drives postnatal development of the prefrontal cortex via GluN2B-NMDARs and the mTOR pathway. *Molecular psychiatry*. 19:417-426.
20. Brosda J, Dietz F, Koch M (2011): Impairment of cognitive performance after reelin knockdown in the medial prefrontal cortex of pubertal or adult rats. *Neurobiology of disease*. 44:239-247.

21. Folsom TD, Fatemi SH (2013): The involvement of Reelin in neurodevelopmental disorders. *Neuropharmacology*. 68:122-135.
22. Berretta S (2012): Extracellular matrix abnormalities in schizophrenia. *Neuropharmacology*. 62:1584-1597.
23. Glantz LA, Lewis DA (2000): Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Archives of general psychiatry*. 57:65-73.
24. Monteggia LM, Malenka RC, Deisseroth K (2014): Depression: the best way forward. *Nature*. 515:200-201.
25. Lafourcade M, Larrieu T, Mato S, Duffaud A, Sepers M, Matias I, et al. (2011): Nutritional omega-3 deficiency abolishes endocannabinoid-mediated neuronal functions. *Nature neuroscience*. 14:345-350.
26. Spear LP (2000): The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 24:417-463.
27. Levy AD, Omar MH, Koleske AJ (2014): Extracellular matrix control of dendritic spine and synapse structure and plasticity in adulthood. *Frontiers in neuroanatomy*. 8:116.
28. Dansie LE, Ethell IM (2011): Casting a net on dendritic spines: the extracellular matrix and its receptors. *Developmental neurobiology*. 71:956-981.
29. Markham JA, Mullins SE, Koenig JI (2013): Periadolescent maturation of the prefrontal cortex is sex-specific and is disrupted by prenatal stress. *The Journal of comparative neurology*. 521:1828-1843.
30. Briner A, Nikonenko I, De Roo M, Dayer A, Muller D, Vutskits L (2011): Developmental Stage-dependent persistent impact of propofol anesthesia on dendritic spines in the rat medial prefrontal cortex. *Anesthesiology*. 115:282-293.
31. Quinlan EM, Philpot BD, Haganir RL, Bear MF (1999): Rapid, experience-dependent expression of synaptic NMDA receptors in visual cortex in vivo. *Nature neuroscience*. 2:352-357.
32. Hoffmann H, Gremme T, Hatt H, Gottmann K (2000): Synaptic activity-dependent developmental regulation of NMDA receptor subunit expression in cultured neocortical neurons. *Journal of neurochemistry*. 75:1590-1599.
33. Chavis P, Westbrook G (2001): Integrins mediate functional pre- and postsynaptic maturation at a hippocampal synapse. *Nature*. 411:317-321.
34. Carmignoto G, Vicini S (1992): Activity-dependent decrease in NMDA receptor responses during development of the visual cortex. *Science*. 258:1007-1011.
35. Wang H, Stradtman GG, 3rd, Wang XJ, Gao WJ (2008): A specialized NMDA receptor function in layer 5 recurrent microcircuitry of the adult rat prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105:16791-16796.
36. Tovar KR, Westbrook GL (1999): The incorporation of NMDA receptors with a distinct subunit composition at nascent hippocampal synapses in vitro. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 19:4180-4188.
37. Bellone C, Nicoll RA (2007): Rapid bidirectional switching of synaptic NMDA receptors. *Neuron*. 55:779-785.
38. Campo CG, Sinagra M, Verrier D, Manzoni OJ, Chavis P (2009): Reelin secreted by GABAergic neurons regulates glutamate receptor homeostasis. *PLoS one*. 4:e5505.
39. Hirsch JC, Crepel F (1991): Blockade of NMDA receptors unmasks a long-term depression in synaptic efficacy in rat prefrontal neurons in vitro. *Experimental brain research*. 85:621-624.
40. Pilpel Y, Kollerker A, Berberich S, Ginger M, Frick A, Mientjes E, et al. (2009): Synaptic ionotropic glutamate receptors and plasticity are developmentally altered in the CA1 field of Fmr1 knockout mice. *The Journal of physiology*. 587:787-804.
41. Kasanetz F, Manzoni OJ (2009): Maturation of excitatory synaptic transmission of the rat nucleus accumbens from juvenile to adult. *Journal of neurophysiology*. 101:2516-2527.
42. Mierau SB, Meredith RM, Upton AL, Paulsen O (2004): Dissociation of experience-dependent and -independent changes in excitatory synaptic transmission during development of barrel cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 101:15518-15523.
43. Gray JA, Shi Y, Usui H, Doring MJ, Sakimura K, Nicoll RA (2011): Distinct modes of AMPA receptor suppression at developing synapses by GluN2A and GluN2B: single-cell NMDA receptor subunit deletion in vivo. *Neuron*. 71:1085-1101.
44. Lau CG, Zukin RS (2007): NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Nature reviews Neuroscience*. 8:413-426.

45. Ventruti A, Kazdoba TM, Niu S, D'Arcangelo G (2011): Reelin deficiency causes specific defects in the molecular composition of the synapses in the adult brain. *Neuroscience*. 189:32-42.
46. Michetti C, Romano E, Altabella L, Caruso A, Castelluccio P, Bedse G, et al. (2014): Mapping pathological phenotypes in reelin mutant mice. *Frontiers in pediatrics*. 2:95.
47. Penzes P, Cahill ME, Jones KA, VanLeeuwen JE, Woolfrey KM (2011): Dendritic spine pathology in neuropsychiatric disorders. *Nature neuroscience*. 14:285-293.
48. Kang HJ, Voleti B, Hajszan T, Rajkowska G, Stockmeier CA, Licznernski P, et al. (2012): Decreased expression of synapse-related genes and loss of synapses in major depressive disorder. *Nature medicine*. 18:1413-1417.
49. Zarate CA, Jr., Singh JB, Carlson PJ, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA, et al. (2006): A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Archives of general psychiatry*. 63:856-864.
50. Berman RM, Cappiello A, Anand A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS, et al. (2000): Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biological psychiatry*. 47:351-354.

## FIGURE LEGENDS

**Figure 1: Maturation profile of spine density and postsynaptic excitatory transmission at layer II/III-V/VI PrPFC synapses.**

**(A)** Image of a 3D reconstructed layer V/VI pyramidal PFC neuron taken from a P71 mouse. The neuron was filled with neurobiotin during whole-cell recording. Calibration : 50  $\mu$ m.

**(B)** Left: The average spine density per oblique dendritic length of layer V/VI PrPFC pyramidal neurons was reduced in juvenile HRM at P10-20 ( $10.6 \pm 0.7$ , n=13 in HRM versus  $13.6 \pm 1.0$ , n=10 in wild-type) and P22-28 ( $10.9 \pm 0.8$ , n=15 in HRM versus  $13.7 \pm 0.6$ , n=9 in wild-type) compared to age matched wild-type. In adolescents and adults, the average spine densities were equivalent between both genotypes (P30-45:  $13.2 \pm 0.7$ , n=7 in wild-type,  $12.6 \pm 0.7$ , n=12 in HRM; P50-90:  $12.6 \pm 1.2$ , n=8 in wild-type versus  $11.2 \pm 0.7$ , n=6 in HRM). Spine density is expressed as the number of spines per 10  $\mu$ m of dendritic shaft. Right: Representative 3D volume rendering of reconstructed spines and shafts from wild-type and HRM mice at juvenile and adult stages. Calibration bars: 5  $\mu$ m.

**(C)** Left: Mean amplitude of spontaneous AMPA-EPSCs showing no difference between genotypes at all ages tested. Right: Representative traces of AMPA-sEPSCs recorded at -70mV in juvenile wild-type and HRM. Calibration: 10 pA, 100 ms.

**(D)** Left: Spontaneous NMDA-EPSCs mean amplitude was significantly increased to  $22.6 \pm 1.4$  pA (n=14) in P10-20 HRM and to  $20.1 \pm 1.3$  pA (n=11) in P22-28 HRM compared to age-matched wild-type ( $14.1 \pm 1.0$  pA, n=15 P10-20 and  $15.6 \pm 1.4$  pA, n=12 P22-28). NMDA-sEPSCs mean amplitudes were not different between genotypes at adolescent and adult stages. Right: Representative recordings of NMDA-sEPSCs at +40mV in the presence of DNQX in juvenile mice. Calibration: 20 pA, 250 ms.

**(E)** Left: The maturational profile of the mean AMPA/NMDA ratio shows a reduction in juvenile HRM at both P10-20 ( $0.49 \pm 0.04$ , n=10 in HRM versus  $0.81 \pm 0.05$ , n=12 in wild-

type) and P22-28 ( $0.77 \pm 0.08$ ,  $n=8$  in HRM versus  $1.11 \pm 0.06$ ,  $n=8$  in wild-type). No differences were observed between both genotypes at older developmental stages. Right: Representative evoked EPSCs recorded from juvenile mice at +40 mV in control conditions (dual EPSCs; dots) and in the presence of NBQX ( $10 \mu\text{M}$ ; black). AMPA-EPSCs (gray) were obtained by digital subtraction of NMDA-EPSC from the dual EPSCs. Calibration: wild-type 25 pA, 25 ms; HRM 50 pA, 25 ms.

(B-E) Error bars represent SEM and  $n$  is the number of neurons. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.001$  and \*\*\*  $P < 0.001$ , ANOVA.

**Figure 2: Maturation time course of Ro25-6981 sensitivity of NMDA-EPSC.**

(A) Ro25-6981 inhibition of evoked NMDA-EPSCs is represented as the percent decrease in peak current in the presence of Ro25-6981 ( $1 \mu\text{M}$ ). The percentage of Ro25-6981 inhibition is equivalent in wild-type mice and HRM between P10 and P45 (P10-20:  $61.9 \pm 3.2\%$ ,  $n=13$  wild-type and  $65.7 \pm 3.4\%$ ,  $n=14$  HRM; P30-45:  $55.8 \pm 2.8\%$ ,  $n=8$  wild-type and  $60.6 \pm 3.0\%$ ,  $n=10$  HRM). At the adult stage, the Ro25-6981-sensitive fraction was lower in wild-type ( $40.6 \pm 4.6\%$ ,  $n=8$ ) compared to HRM littermates ( $60.9 \pm 1.9\%$ ,  $n=9$ ). Error bars represent SEM and  $n$  is the number of neurons. \*\*  $P < 0.001$ , ANOVA.

(B) Representative evoked NMDA-EPSC traces from adult wild-type and HRM during baseline (black) and in the presence of Ro25-6981 (grey). Calibration: 50 pA, 50ms.

**Figure 3: The maturation of renewal behavior is correlated to the development of theta-burst LTP at layer II/III-V/VI PrPFC synapses.**

(A) Maturation profile of TBS-LTP. No potentiation was observed in juvenile HRM between P10-20 and P22-28 compared to age-matched wild-type (P10-20:  $1.7 \pm 2.1\%$ ,  $n = 12$  in HRM versus  $21.8 \pm 3.3\%$   $n = 8$  in wild-type; P22-28:  $2.7 \pm 1.7\%$ ,  $n=18$  in HRM versus  $33.2 \pm 7.0\%$ ,  $n=10$  in wild-type). LTP gradually increased in P30-45 HRM ( $14.5 \pm 2.9\%$ ,  $n = 13$ ) to

reach values similar to wild-type at P50-90 ( $27.8 \pm 4.0\%$ ,  $n = 16$  in HRM and  $26.6 \pm 3.6\%$ ,  $n = 18$  in wild-type).

**(B)** Left: Grouped time courses of fEPSP responses expressed as percentage of baseline before and after plasticity induction (indicated by arrow) in HRM and wild-type littermates at juvenile and adult stages. Right: Representative traces averaged from ten fEPSP responses before (gray) and 30 min after plasticity induction (black) in juvenile and adult mice from both genotypes. Calibration: 0.1 mV, 10 ms.

**c:** Graph of the AMPA/NMDA ratio plotted against the percentage of TBS-LTP showing that the maturational changes in AMPA/NMDA ratio are tightly correlated to the degree of TBS-LTP ( $r^2=0.8871$ ;  $P = 0.005$ ).

**(D)** Percentage of context-dependent renewal of fear response plotted against the age at which mice were conditioned. Renewal was similar at all ages in wild-type mice whereas in HRM, it gradually increased from  $-2.8 \pm 12.4\%$  ( $n=21$ ) in juvenile to reach values similar to wild-type at adult stage ( $106.6 \pm 12.0\%$ ,  $n=17$  in HRM and  $97.1 \pm 12.0\%$ ,  $n=17$  in wild-type). Data are the average of freezing response to the first 2 CS presentations during renewal normalized to the average of the last 2 CS presentations (CS 23-24) during extinction.

**(E)** The percentage of renewal is tightly correlated to the magnitude of TBS-LTP during maturation and is described by a linear fit with a slope of 0.9999 for HRM.

Error bars represent SEM and  $n$  is the number of animals. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.001$  and \*\*\*  $P < 0.001$ , ANOVA.

**Figure 4: Maturational profile of population differences based on optimal parameters combination.**

**(A)** The relative weight of measured parameters - spine density, AMPA- and NMDA-sEPSCs amplitude, AMPA/NMDA ratio, Ro25-6981 sensitivity of evoked NMDA-EPSCs (GluN2B), TBS-LTP and renewal - is showed within each developmental period. The increase in the

variance and the median  $P$  values of the optimized parameter decreased with age: 540% and  $4.1e^{-9}$  at P10-20, 173% and  $2.3e^{-5}$  at P22-28, 73% and  $1.1e^{-3}$  at P30-45, 153% and  $2.3e^{-5}$  at P50-90.

**(B)** Relative weight of NMDA-sEPSCs amplitude and AMPA/NMDA ratio during postnatal maturation. The variance increase of the optimized parameter combining both factors was strongly reduced from 280% at P10-20, 94% at P22-28 to 15% and 6% at P30-45 and P50-90. The median  $P$  values were  $6e^{-7}$  at P10-20,  $4e^{-4}$  at P22-28, 0.1 at P30-45 and 0.26 at P50-90.

**(C)** Developmental time course of the relative weight of TBS-LTP and magnitude of renewal. The variance increase of the optimized parameter combining TBS-LTP and magnitude of renewal was 50% at P22-28, 43% at P30-45 and 0.7% at P50-90. Median  $P$  values were  $5e^{-3}$  at P22-28,  $8e^{-3}$  at P30-45 and 0.46 at P50-90.

Shaded bars indicate when the variance increase of the optimized parameter does not reach significance.

**Figure 5: Effect of the NMDAR antagonist ketamine on the multivariate profile of juvenile reelin-haploinsufficient mice.**

**(A)** Summary graph of multiscale measurements performed at P22-28 in wild-type, HRM and HRM injected with ketamine (HRM-K, 30-100 mg/kg). Each group of measure is expressed as a percentage  $\pm$  SEM of the mean value obtained in wild-type mice. For each parameter,  $P$  values obtained with one-way ANOVA are given. Multiple comparisons showed that spine density, TBS-LTP and renewal were not different between wild-type and HRM-K, whereas NMDA-sEPSCs and AMPA-sEPSCs amplitudes were different in HRM treated with ketamine compared to wild-type mice.

**(B)** The relative weight of each parameter is showed for wild-type versus HRM either untreated (HRM) or ketamine-treated (HRM-K). The increase in the variance and the median

*P* values of the optimized parameter were: 86% and  $6.5e^{-4}$  for wild-type/HRM, 198% and  $1.4e^{-5}$  for wild-type/HRM-K.

(C) Radar plot representing the data showed in B upper panel e.g. relative weight (%) of each parameter for wild-type versus HRM and wild-type versus HRM-K.

(D) Bar graph showing the optimized parameter value  $\pm$  SD for each genotype and treatment normalized to the value obtained for wild-type mice. Optimized parameter value for each condition was computed by applying the relative weights obtained from the MANOVA in untreated condition (B, upper left) on the multiscale measurements obtained for each genotype and treatment. The optimized parameter value was not different between wild-type and HRM injected with ketamine (HRM-K;  $P = 0.27$ ). Wild-type and HRM-K optimized parameters were significantly different from HRM ( $P = 6.5e^{-4}$  and  $P = 2.3e^{-3}$  respectively, Student's t-test).

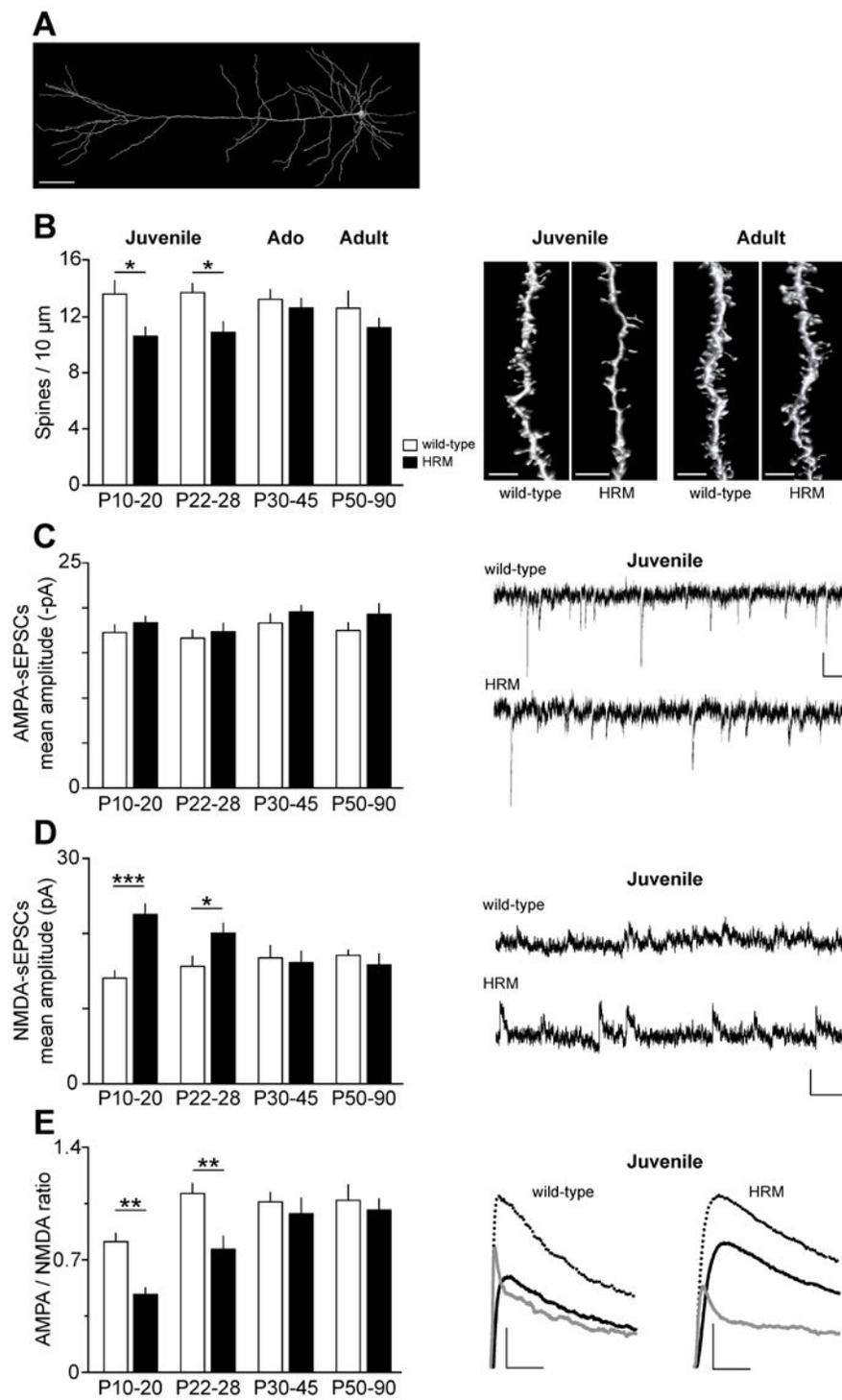


Figure 1

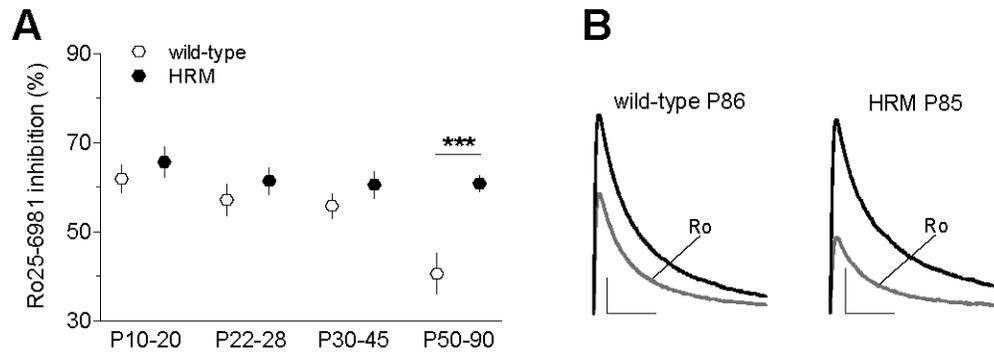


Figure 2

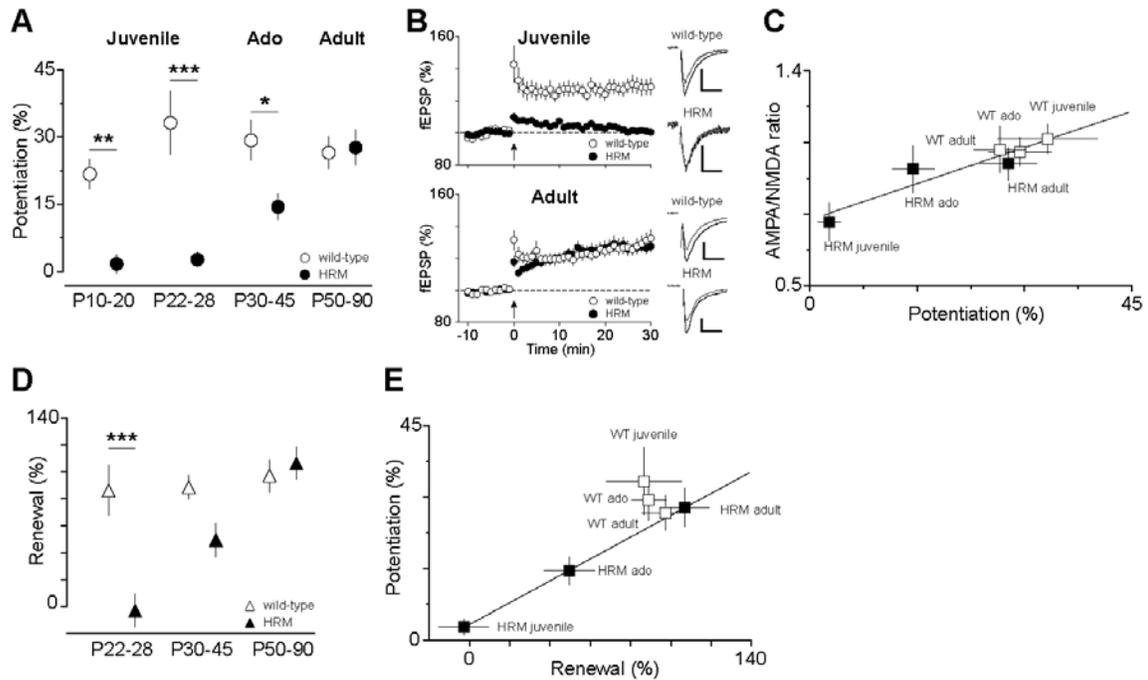
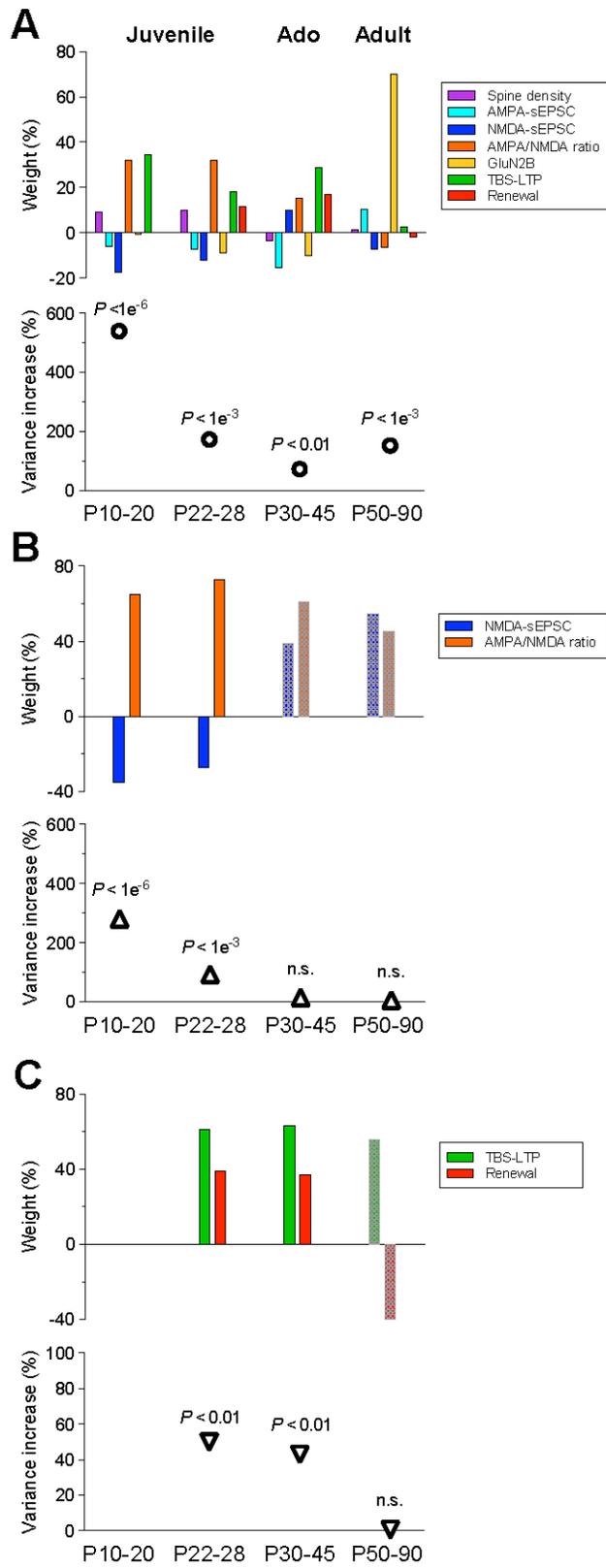


Figure 3



**Figure 4**

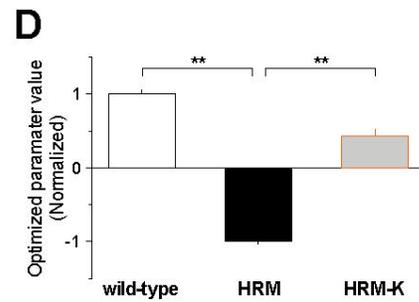
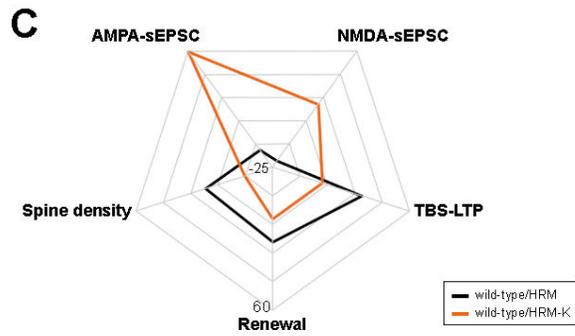
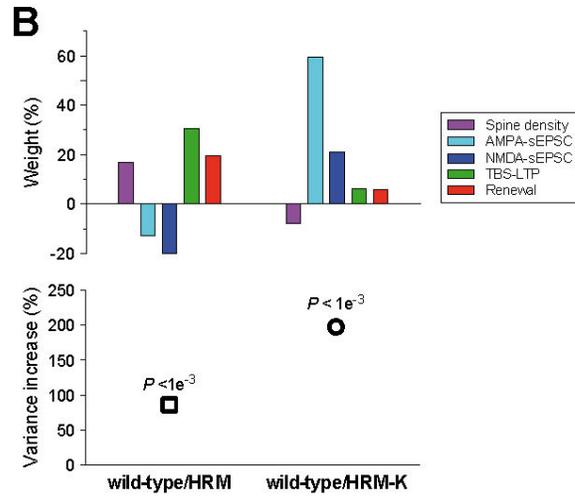
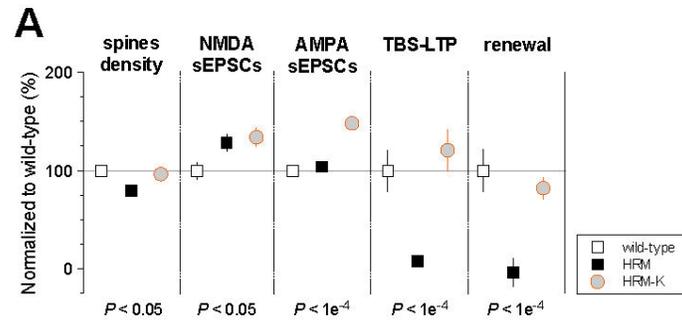


Figure 5

## Supplemental Information 1.

### Animals.

The offspring were genotyped by PCR as previously described (14). Males and females were used in electrophysiological and morphological studies as no significant sex-dependent differences were observed (not shown). All mice were weaned at 21 days and then caged socially in same-sex groups. Mice were housed in standard 12 hours light-dark cycle and supplied food pellets and water *ad libitum*. Ketamine (30 or 100 mg/kg) was administered intraperitoneally prior experiments as previously described (14).

### Electrophysiology.

All experiments were done at 30-32°C. Picrotoxin (100µM; Sigma) was added to the artificial cerebrospinal fluid (ACSF) to block GABA<sub>A</sub> synaptic transmission. Field potentials and whole-cell patch-clamp recordings were made in layer V/VI, collected using an Axopatch-1D amplifier (Axon Instruments) and acquired with Clampex 10.2 acquisition Software via a Digidata 1440A (Axon Instruments).

For extracellular fields, a stimulating glass electrode filled with ACSF was placed in layer II/III as previously described (14). Field excitatory postsynaptic potentials (fEPSP) were evoked at 0.1 Hz and the glutamatergic nature of the fEPSP was confirmed at the end of each experiment by perfusing the non-NMDA ionotropic glutamate receptor antagonist DNQX (20 µM; Tocris) which specifically blocked the synaptic component without altering the non-synaptic component. LTP was induced using a theta-burst stimulation protocol consisting of five trains of burst with four pulses at 100 Hz, at 200 ms interval, repeated four times at intervals of 10 s. Analysis of both area and amplitude of fEPSP was performed with Clampfit 10.0.0.61 (Axon Instruments). For fEPSP, the non-synaptic component was systematically subtracted to fEPSP prior analysis. The magnitude of LTP was calculated 20-30 minutes after TBS as percentage of baseline responses.

Pyramidal neurons in PrPFC layer V/VI were visualized using an infrared illuminated upright microscope (Olympus BX51WI). Spontaneous AMPA-EPSCs (AMPA-sEPSCs) were recorded at -70 mV using a potassium-gluconate internal solution (14). Spontaneous NMDA-EPSCs (NMDA-sEPSCs) were recorded at +40 mV in the presence of DNQX (20  $\mu$ M) using the following internal solution (mM): cesium-methanesulfonate (143), NaCl (5), MgCl<sub>2</sub>(1), EGTA (1), CaCl<sub>2</sub> (0.3), Hepes (10), Na<sub>2</sub>ATP (2), NaGTP (0.3) and cAMP (0.2) (pH 7.3 and 290 mOsm). The ratio between AMPA- and NMDA-mediated EPSCs was measured from EPSCs evoked in layer II/III while holding layer V/VI pyramidal neurons at +40mV in Cs-methanesulfonate internal solution. The NMDA component of the EPSC was isolated by bath application of NBQX (10 $\mu$ M; Tocris) and the AMPA-mediated EPSCs were obtained by digital subtraction of the NMDA-EPSC from the dual component EPSC. Whole-cell recording electrodes had resistances of 4-6 MOhms. Access resistance was continuously monitored (<25 MOhms) and recordings were rejected if there was a >20% change during the course of the experiment. EPSCs were filtered at 2 kHz and digitized at 10 kHz. Spontaneous EPSCs amplitude and inter-interval time were analyzed with Axograph X using a double exponential template:  $f(t)=\exp(-t/\text{rise}) + \exp(-t/\text{decay})$ . For AMPA-sEPSCs, rise = 0.5 ms and decay = 3 ms, for NMDA-sEPSCs rise = 3 ms and decay = 10 ms. The threshold of amplitude detection was set at 7 pA (14).

#### **Dendritic spine reconstruction and quantification.**

Only pyramidal neurons within layer V/VI of the PrPFC showing proper filling of the distal dendritic tree were included in the analysis. Oblique dendrites extending in layer II/III were analyzed. Stack images were acquired and analyzed as we previously described (14).

#### **Mouse behavior.**

Fear conditioning was conducted in context A and consisted of 1 min baseline, followed by 5 paired tones (conditioned stimuli, CS) co-terminated with foot shocks

(unconditioned stimuli, US). Cue presentations were separated by 1 min. The CS consisted of an 80 db 2.5 kHz tone lasting 20 seconds. The US consisted of 0.5 mA foot shock lasting 1 second. Mice were subjected to two extinction sessions of auditory fear in which each animal was placed in context B during 2 min for baseline monitoring, followed by 12 presentations of the CS on each day. Context-dependent fear renewal was tested seven days after the last extinction session in the conditioning context, i.e. context A using 5 presentations of the CS.

An automated photo sensor-beam activity tracking system was used to measure and score mouse freezing (TruScan 2.0 Colbourn, USA). A freezing event was registered only when inactivity was recorded for a minimum of 2 consecutive seconds. The system was validated against blind manual registration. Results are expressed as a percentage of freezing time of 1 min duration bins.

**Supplemental Information 2.**

Parameters	Conditions	Events > 2 $\sigma$ / All Events			
		P10-20	P22-28	P30-45	P50-90
Spine density	wild-type	0/10	1/9	0/7	0/8
	HRM	0/13	0/15	0/12	0/6
AMPA-sEPSC	wild-type	0/13	0/9	0/9	0/13
	HRM	0/15	0/13	0/17	0/13
NMDA-sEPSC	wild-type	0/15	0/12	0/8	0/11
	HRM	0/14	0/11	1/8	1/13
AMPA/NMDA ratio	wild-type	1/12	0/8	0/9	0/9
	HRM	0/10	0/8	0/9	0/7
GluN2B	wild-type	0/13	0/7	0/8	0/8
	HRM	0/14	0/8	0/10	0/9
TBS-LTP	wild-type	0/8	0/10	0/11	0/18
	HRM	0/12	0/18	0/13	0/16
Renewal	wild-type	N/A	0/15	1/14	0/17
	HRM	N/A	1/21	0/16	1/17

**Detailed results of normality test.** The number of points exceeding 2sigma per total number of points is indicated for each parameter and condition (genotype, treatment and age). Values in red indicate where  $P > 0.05$ .

**III. Article n°3 : Pathophysiological maturation of prefrontal GABAergic synapses in mice haploinsufficient for the extracellular matrix protein reelin.**

Bouamrane L., Lassalle O. and Chavis P.

Soumis à *Frontiers in Cellular Neuroscience*

## Article n°3

### Pathophysiological maturation of prefrontal GABAergic synapses in mice haploinsufficient for the extracellular matrix protein reelin.

#### 1/ Contexte et buts de l'étude

La Reelin est une glycoprotéine présente dans la matrice extracellulaire du cerveau. Une réduction des niveaux de reelin dans le PFC a été reportée chez des patients atteints de maladies psychiatriques telles que la schizophrénie, la dépression majeure et le trouble bipolaire. Par ailleurs, plusieurs évidences indiquent que la transmission GABAergique est altérée dans ces maladies psychiatriques. Dans le cerveau postnatal et adulte, la reelin est sécrétée par les interneurons GABAergiques et joue un rôle important dans la modulation de la maturation de la transmission et la plasticité synaptique excitatrice et la régulation de l'homéostasie des récepteurs glutamatergiques dans le PFC et l'hippocampe. Des études indiquent qu'une perturbation des taux de reelin altère le système GABAergique dans l'hippocampe. Toutefois, le rôle de la reelin dans la maturation et la plasticité de la connectivité GABAergiques dans PFC n'a jamais été étudié.

#### 2/ Approches

Nous avons établi un portait comparatif des synapses GABAergiques des neurones pyramidaux de la couche V du PFC chez les souris HRM et sauvages sur une période développementale s'étendant du 14ème jour postnatal à 3 mois (P14 à P90). Nous avons utilisé des techniques d'électrophysiologie sur tranches aigues de PFC.

#### 3/ Résultats

L'analyse des différents paramètres mesurés entre P14 et P90, nous a permis de distinguer 3 périodes de maturation du PFC entre P14 et P90: juvénile (P14- P20), juvénile post-sevrage et adolescence (P22-45) et jeune adulte (P50-90).

Nous avons comparé les propriétés de la transmission synaptique inhibitrice entre HRM et souris sauvages. Nous avons tout d'abord mesuré le transfert de charge et la fréquence de courants post-synaptiques inhibiteurs spontanés médiées par les GABA-A-R (GABA-spIPSC), et nos résultats montrent que ces deux paramètres augmentent avec l'âge chez les souris sauvages, alors qu'ils ne varient pas significativement chez les souris HRM entre P14 et P90 (Figure 1). Le transfert de charge et la fréquence des GABA-spIPSC sont augmentés chez les souris HRM P14-20 par rapport aux souris sauvages du même âge. Au stade adulte, les souris HRM présentent une diminution du transfert de charge et de la fréquence des GABA-spIPSC par rapport aux souris sauvages (Figure 1). Nous avons ensuite voulu savoir si c'est défauts étaient liés à des altérations de la machinerie présynaptiques de libération de GABA. Pour ce faire nous avons calculé les ratios de stimulations pairées (paired-pulse ratio, ou PPR) des courants post-synaptiques inhibiteurs évoqués (GABA-eIPSC). Les résultats ne révèlent aucune différence entre les souris sauvages et HRM aux trois tranches d'âge étudiées (Figure 2).

Nous avons ensuite examiné la balance excitation/inhibition dans le PFC chez les souris sauvages et HRM aux stades juvéniles et adultes. Nos données montrent que le ratio excitation/inhibition chez les souris sauvages augmente en fonction de l'âge (Figure 3A). Chez les souris HRM, le ratio excitation/inhibition ne varie pas significativement entre P14 et P90 (Figure 3B). Nous nous sommes par la suite intéressé aux perturbations de la balance excitation/inhibition chez les souris HRM aux stades juvénile et adulte. Nos résultats indiquent que le ratio excitation/inhibition est diminué chez les souris HRM juvéniles par rapport aux souris sauvages juvéniles (Figure 3C). Au stade adulte, ce ratio est augmenté chez les souris HRM

comparé aux souris sauvages du même âge (Figure 3D). De manière intéressante, l'ensemble de ces résultats montre qu la maturation et l'altération de la balance excitation/inhibition chez les souris sauvages et HRM, respectivement, sont uniquement liées à l'efficacité de la transmission synaptique GABAergique mais pas glutamatergique.

Une étude précédente a montré que les synapses inhibitrices du PFC sont capables d'exprimer une dépression à long terme (i-LTD) qui peut être déclenchée par un train de stimulation synaptique à 5 Hz en présence de faible dose (0,5 pM) de quinpirole (agonistes des récepteurs à la dopamine de type D2 -R). Nous avons testé les effets de l'haploinsuffisance en reelin sur cette forme de plasticité. Les résultats montrent que la i-LTD est abolie chez les HRM entre P14 et P20, et revient à une amplitude identique à celle des animaux sauvages au stade adulte (Figure 4A, B).

Les données de cette étude montrent que les synapses GABAergiques des neurones pyramidaux de la couche V du PFC des souris sauvages, subissent une maturation durant la période de développement postnatal en P14 et P90. En effet, l'efficacité de la transmission GABAergique chez les souris sauvages augmente avec l'âge. De manière intéressante, les synapses GABAergiques du PFC de souris HRM, ne semblent pas subir une maturation durant cette période de vie. Les souris HRM présentent une altération de la balance excitation/inhibition au stade juvénile et adulte, corrélée à la perturbation de la transmission GABAergique. Nous avons également observé une abolition la plasticité des synapses GABAergiques du PFC au stade juvénile. Nos résultats montrent pour la première fois que la reelin participe à la maturation fonctionnelle des circuits GABAergiques dans le PFC.

## Materials and Methods.

### Animals.

The heterozygous reeler mouse (B6C3Fe a/a-Reln<sup>rl</sup>/J strain) breeding pairs were purchased from the Jackson Laboratory. The offspring were genotyped by PCR as previously described (Iafrati et al. 2014). Males and females were used and no significant sex-dependent differences were observed. Mice were weaned at 21 days and then caged socially in same-sex groups. Mice were housed in standard 12 hours light-dark cycle and supplied food pellets and water ad libitum.

### Electrophysiology.

Coronal PLC slices were prepared as previously described (Lafourcade et al. 2011). All experiments were done at 30-32°C. NBQX (10 μM) and DL-APV (100 μM) were added to the artificial cerebrospinal fluid (ACSF) to block glutamatergic synaptic transmission.

Whole-cell patch-clamp recordings were made in layer V, collected using an Axopatch-1D amplifier (Axon Instruments) and acquired with Clampex 10.2 acquisition Software via a Digidata 1440A (Axon Instruments). Pyramidal neurons in PLC layer V were visualized using an infrared illuminated upright microscope (Olympus BX51WI).

Spontaneous GABA<sub>A</sub> receptor-mediated inhibitory postsynaptic currents spIPSCs and paired-pulse ratio (PPR) of evoked IPSCs (eIPSCs) were recorded at -70 mV using the following intracellular solution which contained (mM): cesium-Cl (125), KCl (20), EGTA (1), HEPES (10), Na<sub>2</sub>ATP (2), NaGTP(0.3) and cAMP(0.2) (pH 7.3 and 290 mOsm).

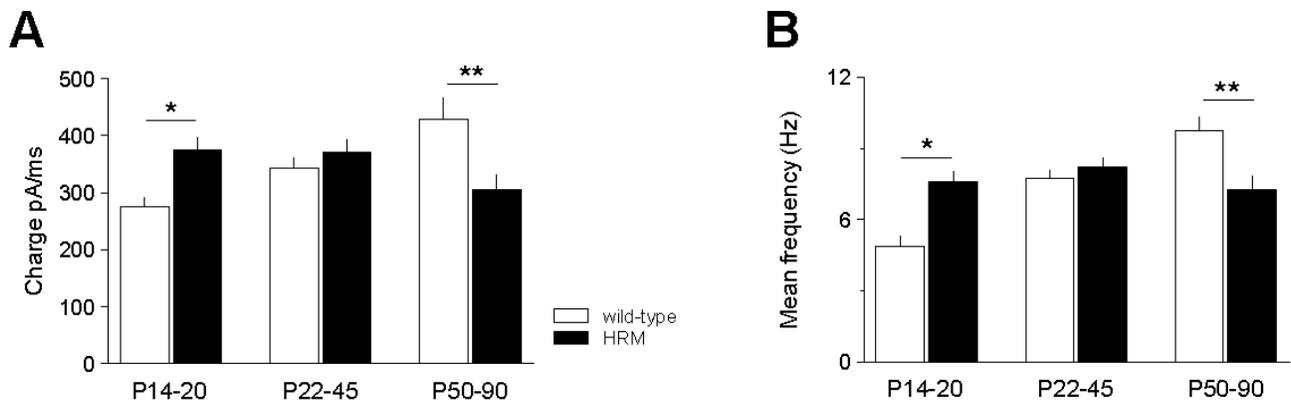
For inhibitory synaptic plasticity experiments, eIPSC of layer V pyramidal neurons were recorded at 0 mV with a glass electrode filled with the following intracellular solution (mM): cesium-methanesulfonate (143), NaCl (5), MgCl<sub>2</sub> (1), EGTA (1), CaCl<sub>2</sub> (0.3), Hepes (10), Na<sub>2</sub>ATP (2), NaGTP (0.3) and cAMP (0.2) (pH 7.3 and 290 mOsm). IPSCs were evoked at 0.01 Hz with another glass electrode filled with recording aCSF and placed in layer III/III. Inhibitory long-term depression (i-LTD) was triggered using a 5 Hz-train stimulation in presence of quinpirole (500 nM), a D<sub>2</sub>R agonist as described by Chui et al. (Chui et al J. Neurosci. 2010 30(21): 7236–7248).

Whole-cell recording electrodes had resistances of 4-6 MOhms. Access resistance was continuously monitored (<25 MOhms) and recordings were rejected if there was a >20% change during the course of the experiment. EPSCs were filtered at 2 kHz and digitized at 10 kHz.

Spontaneous GABA-IPSCs were detected and analyzed with Axograph X using a double exponential template:  $f(t) = \exp(-t/\text{rise}) + \exp(-t/\text{decay})$ . with rise = 0.2 ms and decay = 10 ms. The threshold of amplitude detection was set at 7 pA. Total charge was calculated by summing the charge transfer of all individual events (spEPSCs or spIPSCs) detected over a 6 min acquisition period for each neuron.

**Statistical analysis**

All values are given as mean  $\pm$  S.E.M. and statistical significance was set at  $p < 0.05$ . Statistical analysis was performed with GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA).

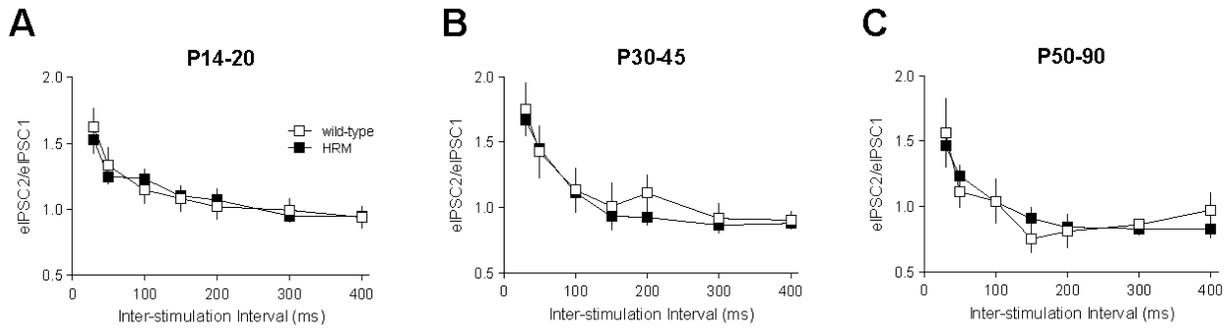


**Figure 1: Maturation profile of GABAergic spontaneous activity.**

(A) Total charge transfer of spontaneous GABA-IPSCs is augmented in juvenile HRM (P14-20) compared to aged-matched wild type ( $374.9 \pm 21.4$  pA/ms,  $n=12$  versus  $276.3 \pm 15.5$  pA/ms,  $n=9$ ) and reduced in adult HRM compared to adult wild-type ( $305.4 \pm 26.4$  pA/ms,  $n=18$  versus  $428.8 \pm 37.2$  pA/ms,  $n=16$ ). When analyzed within each genotype during maturation, charge transfer did not vary in HRM whereas it increased in wild-type from P14-20 to P50-90 ( $F_{(2,52)}=6.4$ ,  $p = 0.0033$ , ANOVA).

(B) Mean frequency of spontaneous GABA-IPSCs is augmented in juvenile HRM (P14-20) compared to aged-matched wild type ( $7.6 \pm 0.4$ ,  $n=12$  versus  $4.9 \pm 0.4$  Hz,  $n=9$ ) and reduced in adult HRM compared to adult wild-type ( $7.2 \pm 0.6$ ,  $n=18$  versus  $9.7 \pm 0.6$ ,  $n=16$ ). When analyzed within each genotype during maturation, charge transfer did not vary in HRM whereas it increased in wild-type from P14-20 to P50-90 ( $F_{(2,52)}=17.2$ ,  $p < 0.0001$ , ANOVA).

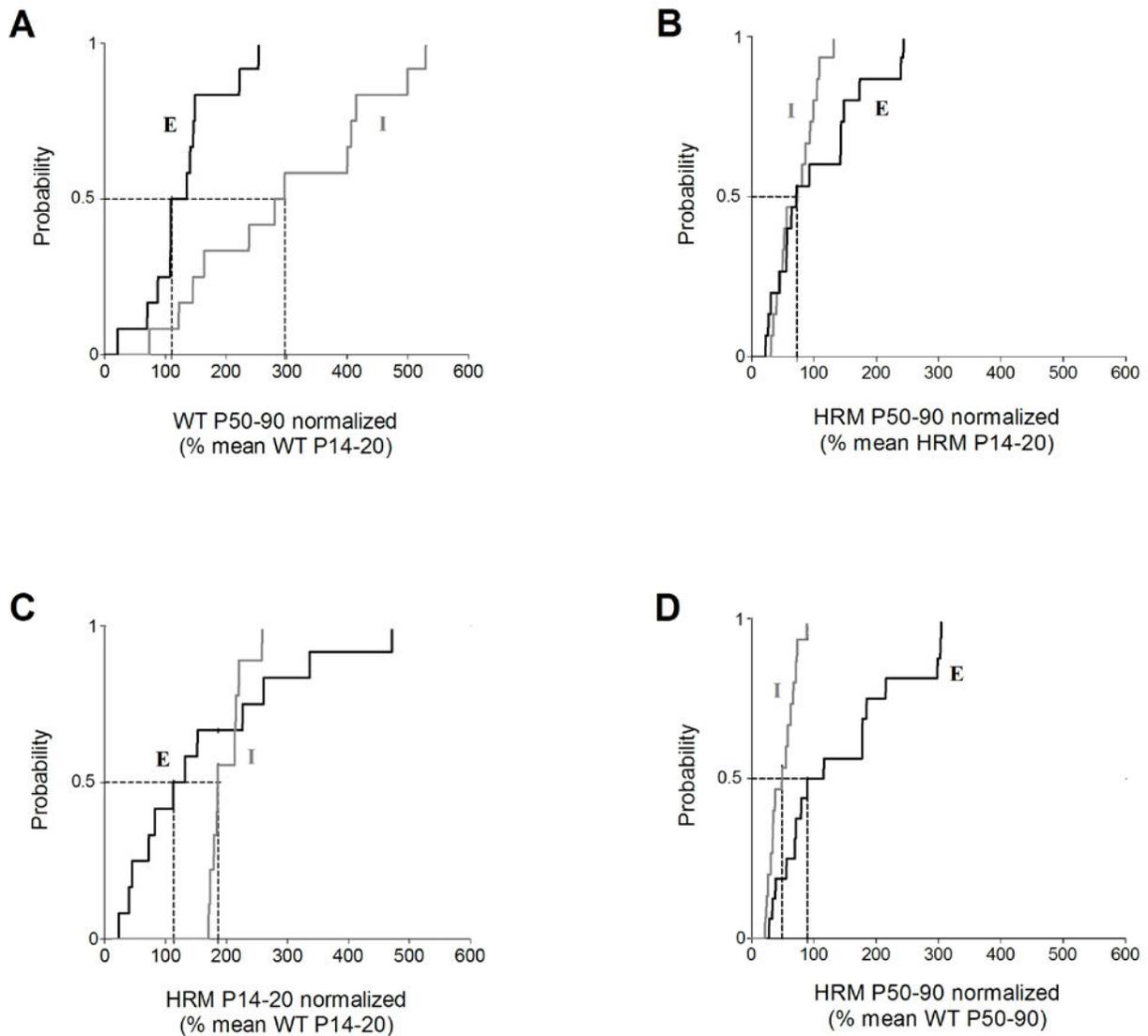
Error bars represent SEM and  $n$  is the number of neurons. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ , Mann-Whitney test.



**Figure 2: Maturation profile of release probability at GABAergic synapses.**

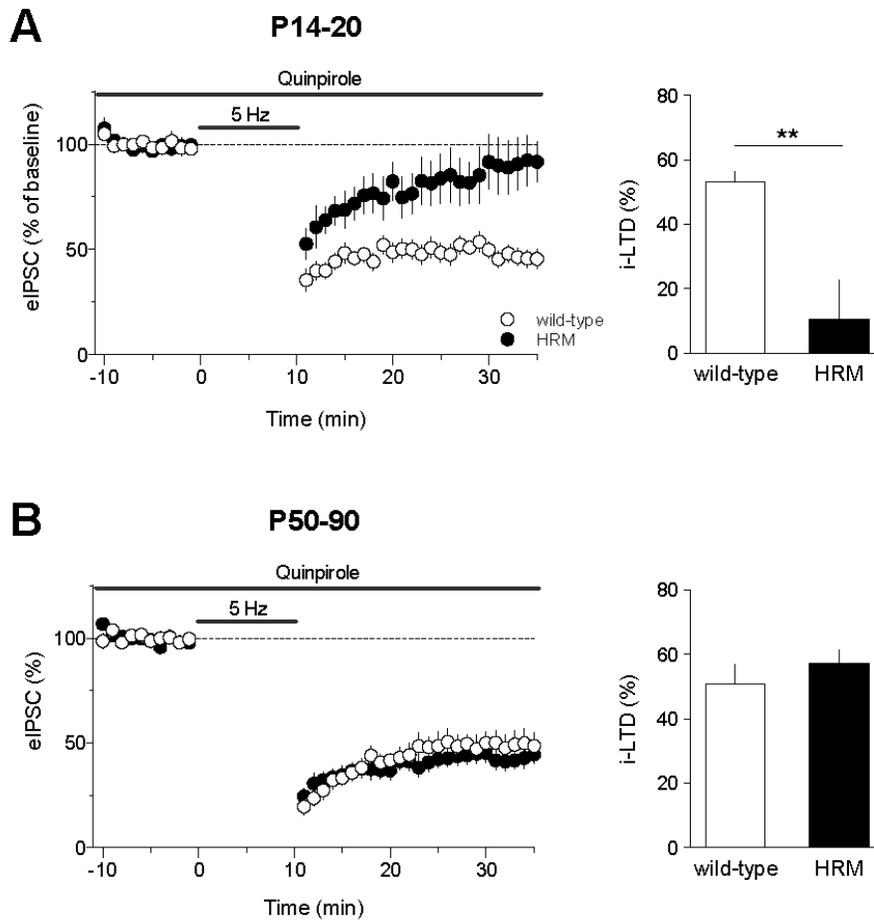
(A-C) Paired-pulse ratios of evoked GABA-IPSCs indicate no significant difference between wild-type and HRM within each developmental epoch. Each point is the average of eIPSC2/eIPSC1 ratio for the different intervals 30 to 400 ms (P14-20 : wild-type n=11, HRM n=9 ; P22-45 : wild-type n=16, HRM n=11 ; P50-90 wild-type n=9, HRM n=9).

Error bars represent SEM and n is the number of neurons.



**Figure 3: Effect of reelin haploinsufficiency on excitation/inhibition balance.**

(A) Relative changes in spEPSC and spIPSC total charge transfer, for each neuron from WT P50-90 mice normalized to the WT P14-20 mean value, indicate a decrease in excitation/inhibition balance in adult WT mice compared to juvenile WT mice. (B) Relative changes in spEPSC and spIPSC total charge transfer, for each neuron from HRM P50-90 mice normalized to the HRM P14-20 mean value, indicate no difference in excitation/inhibition balance between adult HRM mice and juvenile HRM mice. (C) Relative changes in spEPSC and spIPSC total charge transfer, for each neuron from HRM P14-20 mice normalized to the WT P14-20 mean value, indicate a decrease in excitation/inhibition balance in adult WT mice compared to juvenile WT mice. (D) Relative changes in spEPSC and spIPSC total charge transfer, for each neuron from HRM P50-90 mice normalized to the WT P50-90 mean value, indicate an increase in excitation/inhibition balance in adult WT mice compared to juvenile WT mice. Kolmogorov–Smirnov test. E, excitation; I, inhibition.



**Figure 4 : Effect of reelin haploinsufficiency on plasticity at GABAergic synapses.**

(A) Left: Grouped time courses of eIPSC responses expressed as percentage of baseline before and after i-LTD induction (10min at 5Hz) in the presence of quinpirole (500 nM) in P14-20 HRM and age-matched wild-type mice.

Right: The percentage of i-LTD measured between 30 and 35 min after tetanus shows that i-LTD is reduced to  $10.6 \pm 6.0\%$  in HRM (n=9) compared to  $50.0 \pm 3.3\%$  wild-type (n=8).

(B) Left: Grouped time courses of eIPSC responses expressed as percentage of baseline before and after i-LTD induction (10min at 5Hz) in the presence of quinpirole (500 nM) in P50-90 mice.

Right: The percentage of i-LTD measured between 30 and 35 min after tetanus was similar in both genotype at adult stage ( $50.7 \pm 6.2\%$ , n=7 wild-type and  $57.1 \pm 4.3\%$ , n=7 HRM).

Error bars represent SEM and n is the number of neurons. \*\*  $p < 0.001$ , Mann-Whitney test.

**IV. Article n°4 : Pathological prefrontal plasticity and cognition in prepubertal mice subjected to social isolation.**

Bouamrane L., Manduca A., Lassalle O., Stamboulian-Platel S. and Chavis P. Manuscrit en preparation

## Article n°4

### Pathological prefrontal plasticity and cognition in prepubertal mice subjected to social isolation.

#### 1/ Contexte et buts de l'étude

Les maladies psychiatriques semblent résulter d'interactions entre des facteurs génétiques et environnementaux. Il est souvent difficile de dissocier les effets dus aux altérations génétiques de ceux déclenchés par des atteintes environnementales. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à deux facteurs qui participeraient à l'étiologie des maladies psychiatriques: un facteur environnemental, l'isolement social et un facteur génétique, l'haploinsuffisance en reelin.

Les interactions sociales durant la période de maturation postnatal du PFC sont indispensables au développement cognitif. L'isolement ou le retrait social durant l'enfance et l'adolescence sont considérés comme des facteurs de risque environnementaux aux maladies psychiatriques, particulièrement la schizophrénie et la dépression. Chez les rongeurs, le modèle d'isolement social post-sevrage reproduit des défauts comportementaux et neurochimiques de la schizophrénie. Des études suggèrent que les facteurs de risque environnementaux ont d'autant plus d'effets lorsqu'elles surviennent chez un individu avec une vulnérabilité génétique. Comme nous l'avons mentionné précédemment l'altération de l'expression du gène reelin dans le PFC semblent être associée à l'étiologie de maladies psychiatriques. Les souris haplo-insuffisantes en reelin (ou HRM) sont un modèle murin de maladies psychiatriques. Les résultats de nos études précédentes suggèrent l'existence chez les souris HRM, d'une période de vulnérabilité étendue, durant laquelle les effets d'une atteinte supplémentaire tel que l'isolement social peuvent être exacerbés. Toutefois, l'impact de l'interaction de l'haplo-insuffisance en reelin et l'isolement social sur les propriétés fonctionnelles des synapses du PFC reste inconnu. Nous avons donc mené une étude comparative de l'impact de l'isolement social sur la physiologie synaptique du PFC chez les souris sauvages et HRM.

#### 2/ Approches

Nous avons fait une étude comparative au niveau morphologique, fonctionnel et comportemental des souris sauvages et HRM ayant subi un isolement social de huit semaines à partir du sevrage (P21). De manière similaire aux études précédentes, nous avons utilisé des techniques d'électrophysiologie sur tranches aigues de PFC et d'imagerie tridimensionnelle des épines dendritiques. Nous avons aussi établi un portrait comportemental de ces souris en utilisant l'open-field, le labyrinthe en croix surélevée (EPM) et le test d'ordre temporel. Ce dernier nous a permis d'examiner une forme de mémoire dépendante du PFC, la mémoire de récence.

### 3/ Résultats

Cette étude nous a permis d'identifier chez les souris HRM socialement isolées adultes, les défauts uniquement dus à l'isolement social ou à l'haplo-insuffisance en reelin, et ceux dus à l'interaction de ces deux atteintes. La majorité des altérations observées chez les souris HRM socialement isolées sont uniquement dues à l'isolement social. L'isolement social induit des défauts morpho-fonctionnelles des synapses glutamatergiques du PFC, altère la mémoire de récence et augmente les niveaux d'anxiété. L'haploinsuffisance en reelin affecte principalement la transmission synaptique GABAergique. L'interaction de l'isolement social et de l'haploinsuffisance en reelin abolie la plasticité des synapses glutamatergiques et augmente la fréquence des comportements stéréotypés de toilettage. L'ensemble de ces données renforce le lien entre la reelin, l'environnement social et l'étiologie de maladies psychiatriques en déterminant que des taux réduits de reelin aggravent les effets de l'isolement social.

## Introduction

The prefrontal cortex (PFC) is an associative area that helps support higher cognitive functions of the brain. The development of these skills strengthens throughout childhood and adolescence while the PFC slowly reaches higher degrees of maturation. Indeed, the PFC only reaches full functional maturation at the end of adolescence (Fuster, 1991; Goldman-Rakic et al, 1995; Gogtay et al, 2004). This postnatal maturation seems to be a critical period because several studies suggest that insults occurring during this time may contribute to the development of psychiatric disorders including depression, addiction and schizophrenia (Jones, 1997; Lewis and Levitt, 2002; Raedler et al, 1998). The first symptoms usually appear as the last two key processes of the PFC maturation occur: the pruning of supernumerary glutamatergic synapses and the increase in GABAergic synaptic strength (Graaf-Peters and Hadders-Algra, 2006 ;Insel, 2010). The pruning seems to be excessive in schizophrenic patients' brains leading to a decreased number of spines on PFC pyramidal neurons (Penzes et al, 2012; Glantz et Lewis, 2000; Black et al, 2004 ; Lewis et al, 2005). In addition, a global decrease of the GABAergic system can be observed in the PFC of schizophrenic patients (Insel, 2010). In particular, GABAergic neurons express an extra-cellular matrix glycoprotein that appears to be of specific interest: reelin. Reelin modulates several aspects of synaptic function and plasticity as well as neuronal morphology and development. Moreover, reelin levels are consistently decreased by a half in schizophrenia (Guidotti et al, 2000). Therefore, reelin haploinsufficient mice (HRM) seem to be a relevant model to understand the mechanisms underlying the post-natal maturation of the PFC in physiological and pathological conditions.

We have recently shown that reelin haplo-insufficiency leads to major structural and functional alterations of the deep layer neurons in the PFC of juvenile and adolescent mice and disrupts long-term memory retention (Iafrazi et al, 2014). However, most of these deficits progressively disappear in adult mice suggesting the post-weaning to adulthood period is also a critical stage in this animal model. During this period, an unknown phenomenon allows the HRM mice to recover from their morpho-functional and behavioral deficits. A major event happening at this time is the development of intense social interactions in mice. Indeed, social interactions intensity in rodents increase after weaning, peak in juvenile and adolescent mice then decrease when adulthood starts (Panksepp, 1981). These social interactions are essential to cognitive development (Pellis et Pellis, 2009; Spinka et al, 2001; Vanderschuren et al, 1997). In fact, post-weaning social isolation of rodents leads to cognitive, behavioral and neurochemical alterations that are not restored by a subsequent resocialization (van den Berg et al, 1999 ; Lapis et al., 2003 ; Fone et Porkess, 2008 ; Pascual et al., 2006 ; Baarendse et al,

2013). Many of these behavioral and neurochemical alterations resemble positive or negative symptoms found in patients with schizophrenia (Powell et Miyakawa, 2006; Ratajczak et al., 2013). Moreover, in humans, social isolation or withdrawal are associated with the etiology of several psychiatric disorders including depression and schizophrenia (Cacioppo, et al., 2015).

Because both environmental and genetic factors play such a strong role in the etiology of psychiatric disorders, it is not easy to know which induces what type of deficit. In this study, we use post-weaning social isolation of wild-type (WT) or HRM mice to dissociate deficits occurring from an environmental factor, a genetic deficiency or the combination of both. We implemented a multiscale exploration to map the impact of these insults at the structural, functional and behavioral levels. Thanks to this experimental design, we demonstrated that social isolation disturbs synaptic physiology in the PFC in a genotype-specific manner. We also showed that reelin haplo-insufficiency exacerbates the behavioral abnormalities generated by social isolation. We then found that in both WT and HRM mice, social isolation affects a PFC-dependant form of memory, recency memory, and that this deficit was correlated with increased levels of anxiety-like behavior. Finally, this work demonstrates that a single *in vivo* injection of the Glucocorticoid receptor antagonists, RU-486, in HRM isolated mice, restored not only normal synaptic plasticity but also recency memory. The data reveal that social isolation affects behavioral and cellular physiology of the PFC that these dysfunctions interact with reelin deficiency and are amenable to pharmacological intervention.

## **Materials and methods**

### **Animals**

The heterozygous reeler mouse (B6C3Fe *a/a-Reln<sup>fl</sup>/J* strain) breeding pairs were purchased from the Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). All mice were weaned at 21 days. After weaning, mice were caged either socially in same-sex groups, or socially isolated for 8 weeks. Adult mice (P77–90), males and females, were used in electrophysiological and morphological studies and no significant sex-dependent differences were observed. The offsprings were genotyped by polymerase chain reaction using tail genomic DNA as described previously.<sup>8</sup> The polymerase chain reaction primer sequences were: forward, 5'-TAATCTGTCCTCACTCTGCC-3' reverse wild-type (WT), 5'-ACAGTTGACATAACCTTAATC-3' and reverse mutated 5'-TGCATTAATGTGCAGTGTTG-3'. Polymerase chain reaction conditions were as follows: 1 cycle, 3 min at 95 °C; 40 cycles, 45 s at 95 °C, 45 s at 53 °C, 45 s 72 °C; and 1 cycle, 5 min at 72 °C. All experiments were conducted in strict compliance with European directives and French laws on animal experimentation (authorization number: 3307016).

## Drug administration

For electrophysiological and behavioral rescue experiments, adult HRM isolated mice received a single subcutaneous (s.c.) injection of RU486 ( $40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 24 h before prelimbic area of the PFC (PLC) slice preparation or performance temporal order task.

## Electrophysiology

Coronal PLC slices were prepared as described previously (Lafourcade et al., 2011). All experiments were carried out at  $30\text{--}32\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Drugs were added at the final concentration to the artificial cerebrospinal fluid (aCSF). Picrotoxin ( $100\text{ }\mu\text{M}$ ; Tocris), NBQX (2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoylbenzo[f]quinoxaline-2,3-dione,  $10\text{ }\mu\text{M}$ ; Tocris) or DL-AP5 (2-amino-5-phosphonovalerate,  $100\text{ }\mu\text{M}$ ; Tocris) was present during experiments to block GABA<sub>A</sub> ( $\gamma$ -Aminobutyric acid), AMPA ((2-amino-3-(3-hydroxy-5-methyl-isoxazol-4-yl)propanoic acid) or NMDA (N-Methyl-D-aspartic acid) synaptic transmissions, respectively.

Field potentials and whole-cell patch-clamp recordings were made in layer V, collected using an Axopatch-1D amplifier (Axon Instruments, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) and acquired with Clampex 10.2 acquisition Software via a Digidata 1440A (Axon Instruments). Recorded signals were low-pass filtered at 2 kHz and digitized at 10 kHz.

For patch clamp experiments, pyramidal neurons in PLC layer V were visualized using an infrared illuminated upright microscope (Olympus BX51WI, Olympus France, Rungis, France). Whole-cell recording electrodes had resistances of 4-6 MOhms. Access resistance was continuously monitored ( $<25\text{ MOhms}$ ) and recordings were rejected if there was a  $>20\%$  change during the course of the experiment.

The ratio between AMPA- and NMDA-mediated EPSCs was measured from EPSCs evoked in layer II/III at 0.01 Hz while holding layer V pyramidal neurons at  $+40\text{mV}$  using the following internal solution (mM): cesium-methanesulfonate (143), NaCl (5), MgCl<sub>2</sub>(1), EGTA (1), CaCl<sub>2</sub> (0.3), Hepes (10), Na<sub>2</sub>ATP (2), NaGTP (0.3) and cAMP (0.2) (pH 7.3 and 290 mOsm). The NMDA component of the EPSC was isolated by bath application of NBQX, and the AMPA-mediated EPSCs were obtained by digital subtraction of the NMDA-EPSC from the dual component EPSC.

Spontaneous AMPA receptor-mediated excitatory postsynaptic currents (AMPA-spEPSCs) were recorded at  $-70\text{ mV}$  with internal solution containing (mM): K-gluconate (145), NaCl (5), MgCl<sub>2</sub> (1), EGTA (1), CaCl<sub>2</sub> (0.3), HEPES (10), Na<sub>2</sub>ATP (2), NaGTP (0.3) and cAMP (0.2) (pH 7.3 and 290 mOsm). Spontaneous GABA<sub>A</sub> receptor-mediated inhibitory postsynaptic currents spIPSCs were recorded at  $-70\text{ mV}$  using the following intracellular solution which contained (mM): cesium-Cl (125),

KCl(20), EGTA (1), HEPES (10), Na<sub>2</sub>ATP (2), NaGTP(0.3) and cAMP(0.2) (pH 7.3 and 290 mOsm). For analysis, AMPA-spEPSCs and GABA-spIPSCs were detected and analyzed with Axograph X using a double exponential template:  $f(t)=\exp(-t/\text{rise}) + \exp(-t/\text{decay})$ . For AMPA-spEPSCs, rise = 0.5 ms and decay = 3 ms, for GABA-spIPSC, rise = 0.2 ms and decay = 10 ms. The threshold of amplitude detection was set at 7 pA. Total charge was calculated by summing the charge transfer of all individual events (spEPSCs or spIPSCs) detected over a 6 min acquisition period for each neuron.

Paired-pulse ratios (PPR) were acquired by applying a second afferent stimulus of equal intensity at a specified time after the first stimulus and then calculating the ratio of the amplitude of the second response to that of the first. For a given inter-stimulus interval for each cell, the PPR of several consecutive responses were averaged. Evoked excitatory postsynaptic currents (eEPSC) and evoked inhibitory postsynaptic currents (eIPSC) of layer V pyramidal neurons were recorded at -70 mV with a glass electrode filled with the K-gluconate and the cesium-Cl intracellular solution, respectively. The eEPSC and eIPSC were elicited at 0.01 Hz with another glass electrode filled with recording aCSF and placed in layer III/III.

For inhibitory synaptic plasticity experiments, eIPSC of layer V pyramidal neurons were recorded at 0 mV with a glass electrode filled with the cesium-methanesulfonate intracellular solution, and elicited at 0.01 Hz with another glass electrode filled with recording aCSF and placed in layer III/III. Inhibitory long-term depression (i-LTD) was triggered using a 5Hz-train stimulation in presence of quinpirole, a dopamine receptor type 2 agonist. The magnitude of i-LTD was calculated 20–30 min after 5Hz stimulation as a percentage of baseline responses.

For extracellular fields, a stimulating glass electrode filled with recording aCSF was placed in layer II/III and the recording pipette was filled with artificial cerebrospinal fluid (Lafourcade et al., 2011). Field excitatory postsynaptic potentials (fEPSP) were evoked at 0.1 Hz and the glutamatergic nature of the fEPSP was confirmed at the end of each experiment by perfusing the non-NMDA ionotropic glutamate receptor antagonist NBQX, which specifically blocked the synaptic component without altering the non-synaptic component (not shown). LTP was induced using a theta-burst stimulation (TBS) protocol consisting of five trains of burst with four pulses at 100 Hz, at 200-ms interval, repeated four times at intervals of 10 s. For fEPSP, the non-synaptic component was systematically subtracted to fEPSP before analysis. The magnitude of LTP was calculated 20–30 min after theta-burst stimulation as a percentage of baseline responses.

## **Dendritic spine reconstruction and quantification**

Whole-cell recorded neurons were loaded with neurobiotin through patch pipettes. Slices were then fixed overnight in 4% paraformaldehyde and revealed with Texas Red-conjugated avidin for subsequent confocal imaging. Only pyramidal neurons within layer V of the PLC showing proper filling of the distal dendritic tree were included in the analysis. Oblique dendrites extending in layer II/III were analyzed. Stack images were acquired using an Olympus Fluoview FV500 confocal microscope equipped with a  $\times 60$  oil-immersion objective. Laser power and photomultiplier gain were adjusted to obtain few pixels with maximum intensity on dendrite shaft and the offset range was tuned to cutoff background noise. Tri-dimensional deconvolution of each stack was performed with AutoQuantX2 to compensate the spherical aberration and to correct the z-smear for reliable spine morphology. The tri-dimensional reconstruction and blind semiautomated analysis were performed with Imaris (Bitplane, Zurich, Switzerland).

## **Behavioral testing and measurements**

All experiments were conducted in male mice. The animals were housed under a 12 h light/dark cycle (light phase, 6:30 A.M. to 6:30 P.M.). Behavioral training and testing were conducted during the light phase of the cycle. The illumination at the level of the arenas was 60–80 lx. All experiments were video-recorded and the behaviors were analyzed using the Ethovision software (Noldus Information Technology BV, Wageningen, the Netherlands).

## **Open Field**

The apparatus consisted of a polypropylene blue box (40×40×40 cm). For testing, mice were individually placed in one corner of the arena and allowed to explore the arena freely for 20 min. On the software, the arena of the open field was divided into 16 equal square areas; the four inner square areas in the center (center areas) and 12 squares in the periphery along the wall. Total distance moved by the mouse, the velocity at which the mouse moved, the time spent at the center areas, and the number of times the mouse reared or groomed were measured for individual mice.

## **Elevated plus-maze**

The elevated plus maze task was used to test for anxiety-like behavior in mice (Walf and Frye, 2007). The maze consists of four arms (two open without walls denoted North/South and two enclosed by high walls denoted East/West) 30 cm long and 5 cm wide. The maze was elevated 45 cm above the surface it was placed on. The mice were individually placed on the central platform of the maze, facing a closed arm, and allowed to freely explore the maze for 5 min. The following parameters were analyzed:

% time spent on the open arms (% TO):  $(\text{seconds spent on the open arms of the maze}/300) \times 100$ ; % open arm entries (% OE):  $(\text{the number of entries into the open arms of the maze}/\text{number of entries into open center closed arms}) \times 100$ ; Number of total arm entries (open closed arm entries).

### **Temporal order task**

This task comprised two sample phases and one test trial. In each sample phase, the subjects were allowed to explore two copies of an identical object for a total of 4 min. Different objects were used for sample phases 1 and 2, with a delay between the sample phases of 1 h. The test trial (4 min duration) was given 3 h after sample phase 2. During the test trial, a third copy of the objects from sample phase 1 and a third copy of the objects from sample phase 2 were used. The positions of the objects in the test and the objects used in sample phase 1 and sample phase 2 were counterbalanced between the animals. If temporal order memory is intact, the subjects will spend more time exploring the object from sample 1 (i.e., the object presented less recently) compared with the object from sample 2 (i.e., the “recent” object). The discrimination ratio was calculated as the difference in time spent by each animal exploring the object from sample phase 1 compared with the object from sample phase 2 divided by the total time spent exploring both objects in the first minute of the test period.

### **Statistical analysis**

All values are given as mean $\pm$ s.e.m. and statistical significance was set at  $P < 0.05$ . Statistical analysis of electrophysiological, morphological and behavioral data was performed with GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Multiple comparisons were made using a one-way analysis of variance (ANOVA), followed by a *post hoc* Tukey's test if significant.

## **Results**

### **Social isolation alters the function and the number of the PLC excitatory synapses in both WT and HRM mice**

Dendritic Spines are and the principal loci of activity-dependent synaptic rearrangements, are subject to intense maturational processes in the postnatal PFC. To address whether post-weaning social isolation affects excitatory synapses function in a genotype-dependent manner, we compared the ratio of AMPA- to NMDA-mediated EPSCs between WT grouped and WT isolated mice and between HRM grouped and HRM isolated mice (**Figure 1B**). The AMPA/NMDA ratio was largely reduced in WT isolated and HRM isolated mice compared to WT grouped and HRM mice ( $F(3,23)=4.860$ ,  $p=0.0092$  ANOVA ; **Figure 1A**). This decrease was due to the social isolation and no differences were observed

between the two genotypes. To evaluate whether this functional deficit in excitatory synapses is correlated with structural abnormalities we performed a post hoc three-dimensional reconstruction following confocal imaging of layer V pyramidal neurons filled with neurobiotin during the electrophysiological experiments (**Figure 1D**). Quantitative analysis revealed a reduction in the density of spines in WT isolated and HRM isolated mice compared to WT grouped and HRM grouped mice ( $F(3,25)=8.351$ ,  $p=0.0005$  ANOVA ; **Figure 1C**). This decrease was due to the social isolation and no difference was observed between the two genotypes. Thus, our data indicate that social isolation during juvenile and adolescent stages disturbs the functional and structural maturation of PLC excitatory synapses in both WT and HRM mice.

### **Social isolation affects Excitation/Inhibition balance in a genotype-specific manner.**

An altered excitation/inhibition balance was reported in several models of psychiatric diseases (ref). Therefore, we examined the effects of social isolation and reelin haploinsufficiency on basal excitatory and inhibitory synaptic transmissions in acute PLC slice. To study the differential effect on excitatory versus inhibitory transmission, we measured the total synaptic charge transfer from AMPA (α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid) receptor-mediated spontaneous excitatory postsynaptic currents (spEPSCs) and GABA<sub>A</sub> receptor-mediated spontaneous inhibitory postsynaptic currents (spIPSCs) over a 6-min period—a parameter reflecting both amplitude and frequency of spontaneous synaptic events.

The total charge transfer of spEPSCs was significantly increased in WT isolated relative to WT grouped mice ( $F(3,35)=5.362$ ,  $p=0.0038$  ANOVA; **Figure 2D**). No differences were observed between HRM isolated and HRM grouped mice, and between HRM grouped and WT grouped mice. We next examined whether transmission was altered at inhibitory synapses. The total transfer charge was significantly lower in pyramidal cells of WT isolated, HRM grouped and HRM isolated mice compared to WT grouped mice ( $F(3,41)=7.476$ ,  $p=0.0004$  ANOVA; **Figure 2C**). No differences were observed between HRM isolated and HRM grouped mice.

Hence, the total charge transfer of spEPSCs and spIPSCs for each neuron from WT isolated mice normalized to the mean values of the total charge transfer in WT grouped mice indicates that social isolation increases excitation/inhibition balance in WT mice, whereas relative changes in spEPSC and spIPSC total charge transfer, for each neuron from HRM isolated mice normalized to the HRM grouped mice mean values, indicate no difference in excitation/inhibition balance between HRM isolated mice and HRM grouped mice (**Figure 2E-F**).

Taken together, these results show that post-weaning social isolation differently affects basal synaptic transmission in WT and HRM mice.

To assess whether these changes in the basal excitatory and inhibitory synaptic transmission are linked to alterations in the presynaptic neurotransmitter release machinery, we used the paired-pulse ratio (PPR). The PPR which is the ratio of the amplitude of the second response to that of the first, depends on the probability of vesicular release at the synapse. PPR of evoked EPSCs (eEPSC) and evoked IPSCs (eIPSC) in WT grouped, WT isolated, HRM grouped and HRM isolated mice shows no differences at all time intervals tested. This suggests that the aforementioned alterations of basal excitatory and inhibitory synaptic transmissions are not due to presynaptic defaults.

### **Social isolation disrupts different forms of synaptic plasticity in WT and HRM mice**

Alterations in spine density and/or basal synaptic transmission are likely to impact on higher synaptic functions such as synaptic plasticity. To evaluate the effects of post-weaning social isolation on the plasticity of excitatory synapses of the PLC of WT and HRM mice we used a theta-burst stimulation (TBS) protocol. In WT grouped mice, TBS induced a robust long-term potentiation (LTP) of field excitatory postsynaptic potentials (fEPSP) measured at excitatory synapses onto layer V pyramidal neurons (**Figure 3D, E**). The magnitude of LTP was similar in WT isolated and HRM grouped mice. Interestingly, we found that in marked contrast to the aforesaid conditions, LTP was absent in HRM isolated mice ( $F(3,52)=5.890$ ,  $p=0.0015$  ANOVA; **Figure 3F**). Therefore, these data reveal that reelin haplo-insufficiency combined with an 8-week social isolation abolishes a form of synaptic plasticity expressed at excitatory synapses of the PLC.

A previous study showed that inhibitory synapses of the PLC are able to express a long-term depression (i-LTD) that can be triggered by a 5Hz-train of synaptic stimulation in the presence of low dose (0.5 $\mu$ M) quinpirole (a D2-R receptors agonist). We tested the effects of post-weaning social isolation on this form of plasticity in the PLC of WT and HRM mice. In WT grouped mice, the 5Hz stimulation in the presence of quinpirole induced a robust LTD of evoked inhibitory postsynaptic currents (eIPSC) measured at inhibitory synapses onto layer V pyramidal neurons (**Figure 3A, B**). The magnitude of i-LTD was similar in HRM grouped and HRM isolated mice. Surprisingly, we found that in marked contrast to the aforesaid conditions, i-LTD was absent in WT isolated mice ( $F(3,23)=8.690$ ,  $p=0.0005$  ANOVA) (**Figure 3C**). Thus, these data reveal that reelin haplo-insufficiency prevents the abolition, by an 8-weeks social isolation, of a form of synaptic plasticity expressed at inhibitory synapses of the PLC.

Taken together, these results show that post-weaning social isolation affects different forms of synaptic plasticity in WT and HRM mice.

### **Social isolation disrupts PFC-dependent recency memory and increases levels of anxiety**

Synaptic morpho-functional deficits often underlie or correlate with abnormal behaviors, cognitive disabilities and/or unstable memories. To evaluate whether the synaptic alterations generated by social isolation of WT and HRM mice affect a PFC-dependent form of memory, the recency memory we used the temporal order task (TOT). The TOT tests the animal's ability to differentiate between two familiar objects presented at different intervals (Baker et al., 2007). WT grouped and HRM grouped mice showed a significant discrimination between the object presented least recently and the object presented most recently. In contrast, both WT isolated and HRM isolated failed to show significant discrimination ( $F(3,76)=6.897$ ,  $p=0.0004$  ANOVA; **Figure 4H**). There were no other significant differences. Thus long-term recency memory is impaired in WT and HRM isolated mice.

To assess whether the bad performance of socially isolated mice on the temporal order task is due to alterations in horizontal (locomotion) or vertical (rearing) activity. To do so, we used the open field test and measured on one hand, the total distance moved in the arena and the mean velocity of mice to test for locomotor behavior, and on the other hand we counted the frequency of rearing behavior to test for exploratory behavior. The results show no significant differences on these parameters between our four experimental conditions: WT grouped, WT isolated, HRM grouped and HRM isolated (total distance:  $F(3,117)=1.587$ ,  $p=0.1962$  ANOVA; mean velocity:  $F(3,117)=1.962$ ,  $p=0.1236$  ANOVA; rearing frequency:  $F(3,117)=0.5783$ ,  $p=0.6304$  ANOVA; **Figure 4A-C**). We also quantified the total number of entrance in the EPM, which is a measure of locomotor and exploratory behavior and the results show no difference between all the conditions (data not shown). Thus, both social isolation and reelin haplo-insufficiency do not seem to affect horizontal and vertical activity.

We then investigated the anxious profile using the open field test and the EPM. The results demonstrate an increase in anxiety-like behavior in WT isolated and HRM isolated mice in comparison to WT grouped and HRM grouped mice, as shown by the decrease of the amount of time spent in the center of the arena in the open field test ( $F(3,117)=5.967$ ,  $p=0.0008$  ANOVA; **Figure 4E**), and in the open arms of the EPM (time in open arms:  $F(3,78)=13.97$ ,  $p<0.0001$  ANOVA; entrance to open arms:  $F(3,78)=14.25$ ,  $p<0.0001$  ANOVA; **Figure 4F,G**).

During the open field test, we recorded the number of self-grooming behaviors, the alteration of which is an indicator of compulsive stereotypic behavior. The analyses showed an increased frequency of

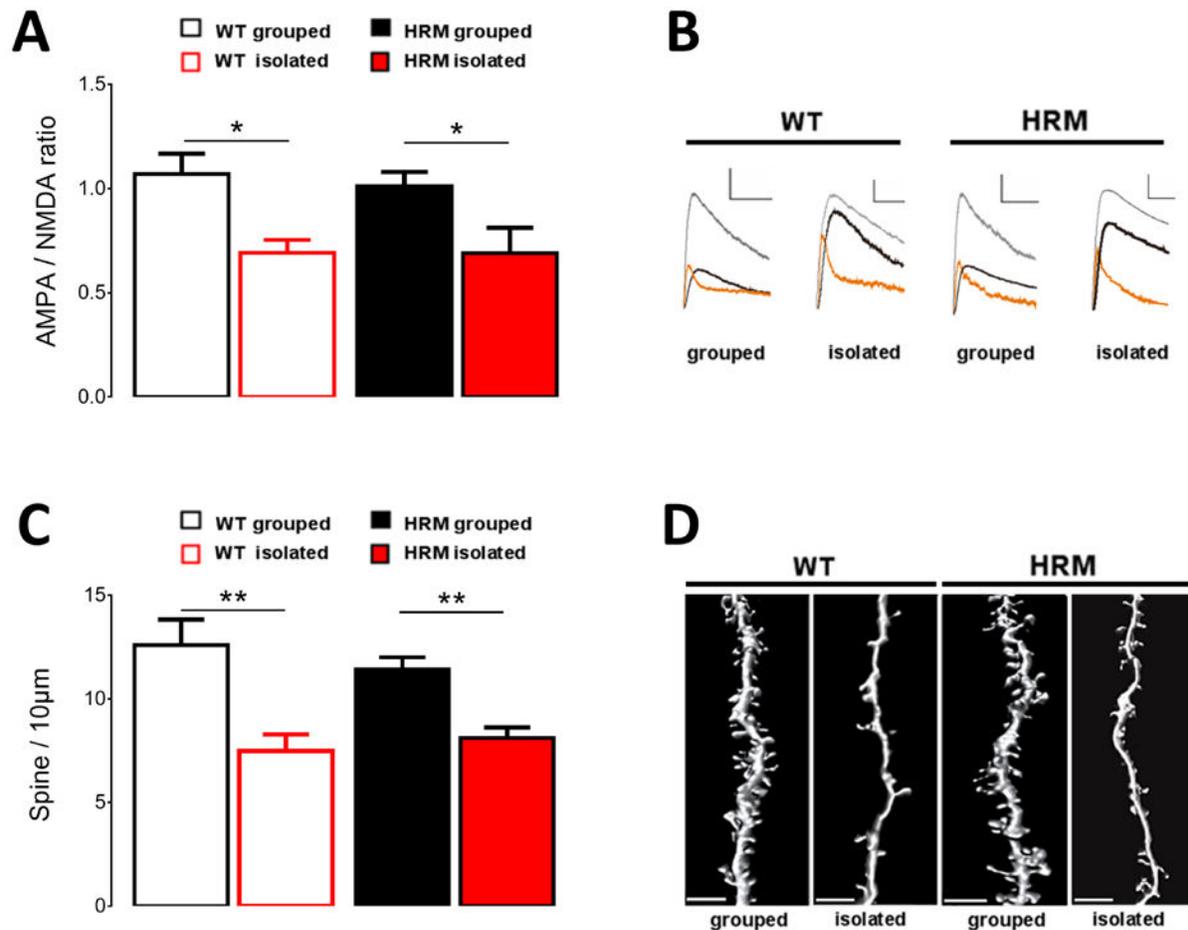
self-grooming behavior in HRM isolated mice compared to all the other experimental conditions ( $F(3,117)=18.33, p<0.0001$  ANOVA; **Figure 4D**). No other significant differences were found. Thus, reelinhaplo-insufficiency combined with an 8-week social isolation increases compulsive grooming behavior.

Taken together these data reveal that post-weaning social isolation disturbs recency memory in both WT and HRM mice. These defaults were correlated to increased levels of anxiety.

Furthermore, when combined with decreased levels of reelin, social isolation increases compulsive stereotypic behavior.

### **Glucocorticoid receptor inhibition restores synaptic plasticity and recency memory of HRM isolated mice**

Studies have shown that post-weaning social isolation is chronic stress model, which induces an increase in corticosterone levels (Hawkley et al., 2012 ). This increase reduces reelin levels (van den Buuse, 2014) and acts via glucocorticoid receptors (GR) to alter synaptic plasticity in the hippocampus (Kamal et al., 2014). We attempted to correct some of the defects observed in HRM isolated mice using a pharmacotherapy with an inhibitor of GR: RU486 (or mifepristone). We discovered that a single injection of RU486 (40mg/kg) 24 hours before the experiments was sufficient to restore recency memory (Figure 5C) and synaptic plasticity in the PFC of HRM isolated mice (Figure 5A, B).



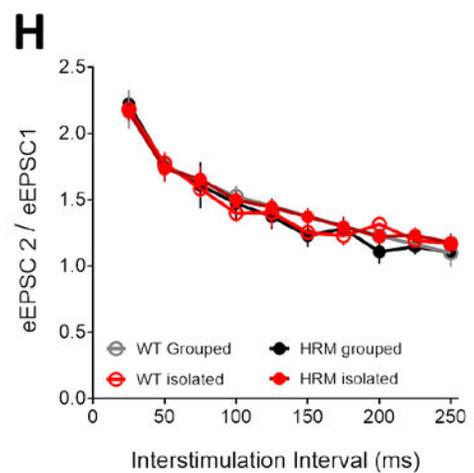
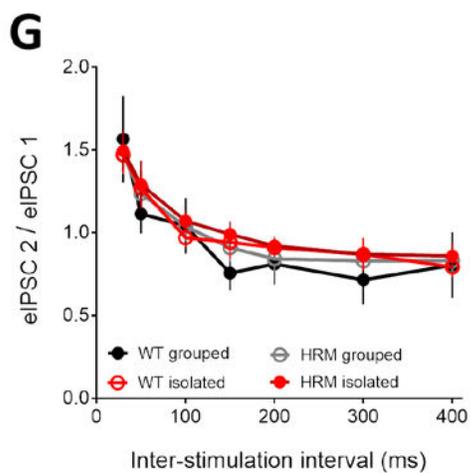
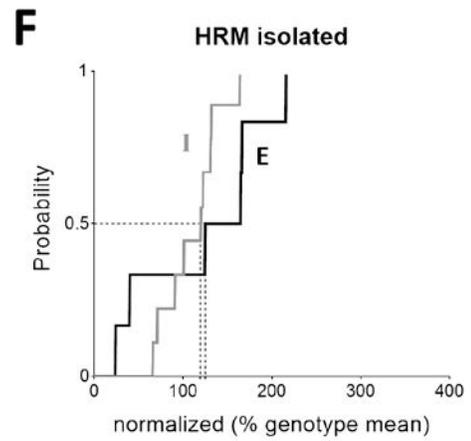
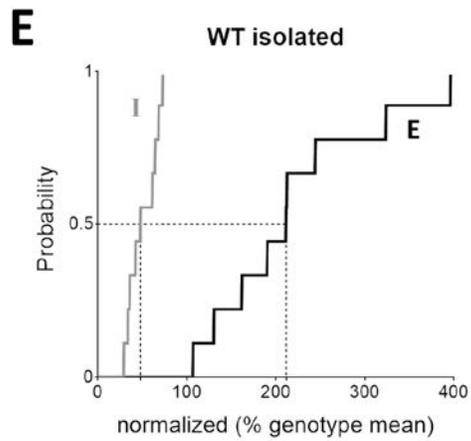
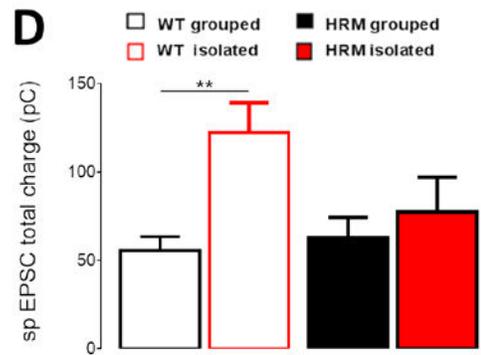
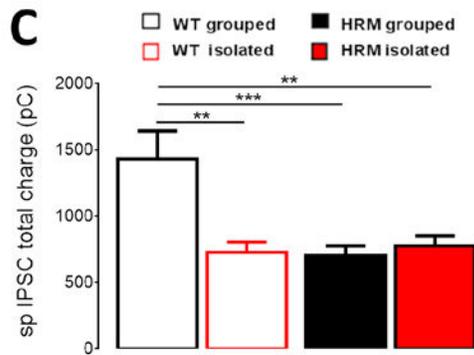
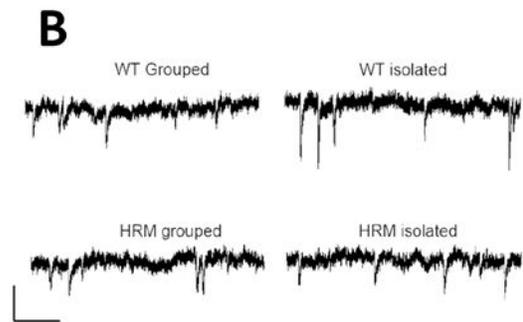
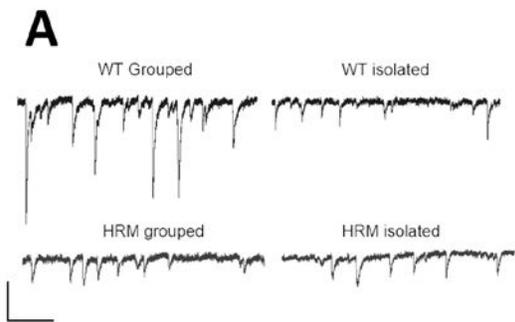
**Figure 1. Functional and structural deficits at the PLC synapses of socially isolated mice.**

(A) The mean AMPA/NMDA ratio shows a reduction in WT isolated mice ( $0.69 \pm 0.06$ ,  $n=6$ ) compared to WT grouped mice ( $1.07 \pm 0.10$ ,  $n=9$ ) and in HRM isolated mice ( $0.69 \pm 0.12$ ,  $n=5$ ) compared to HRM grouped mice ( $1.01 \pm 0.07$ ,  $n=7$ ). No significant differences were observed between genotypes.

(B) Representative evoked EPSCs recorded from the four experimental conditions at +40 mV (dual EPSCs; grey) and in the presence of NBQX (10  $\mu$ M; black). AMPA-EPSCs (orange) were obtained by digital subtraction of NMDA-EPSC from the dual EPSCs. Calibration: 50pA, 50 ms.

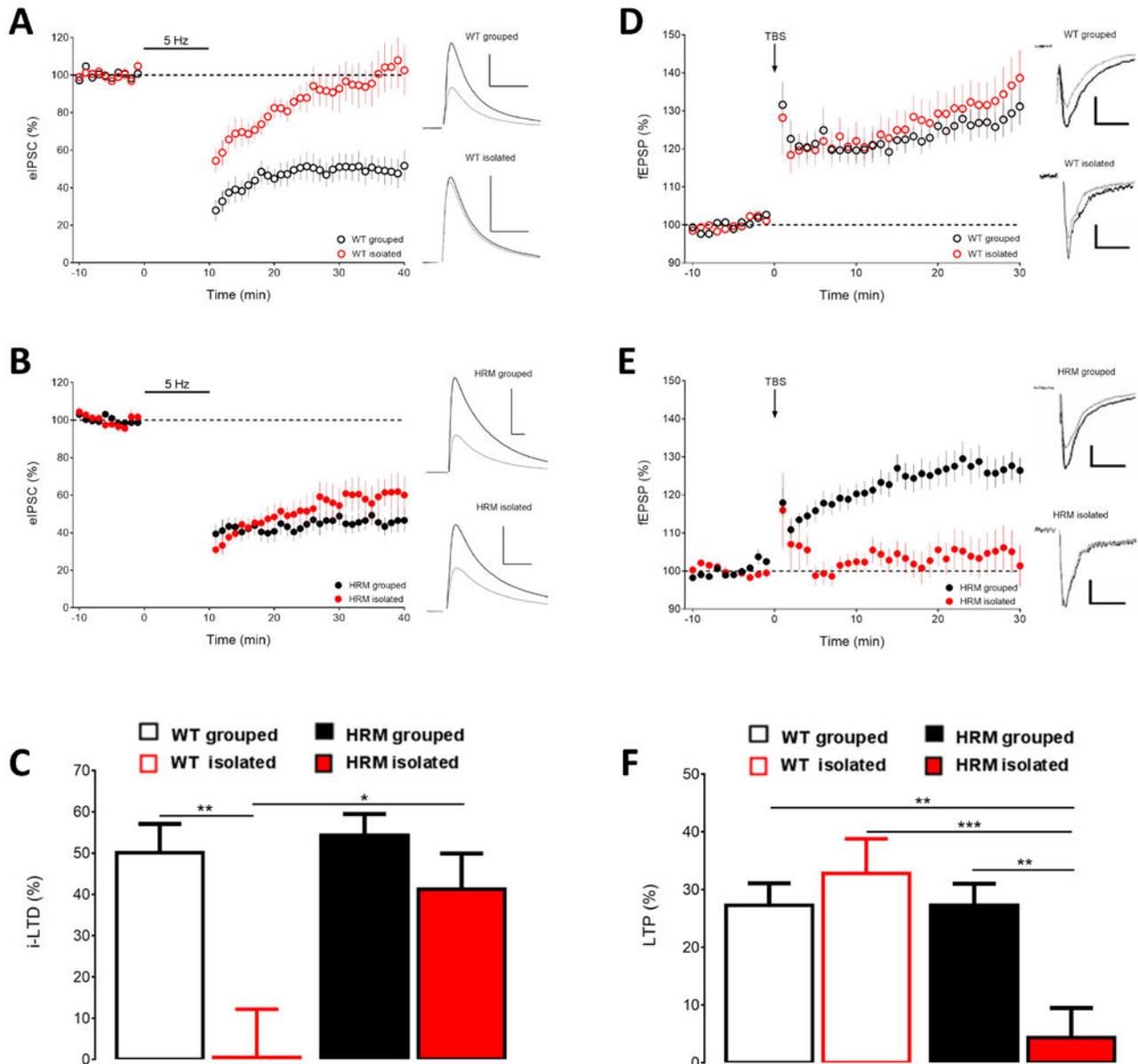
(C) The average spine density per oblique dendritic length of layer V/VI PLC pyramidal neurons was reduced in WT isolated mice ( $7.49 \pm 0.79$ ,  $n=7$ ) compared to WT grouped mice ( $12.59 \pm 1.23$ ,  $n=8$ ) and in HRM isolated mice ( $8.11 \pm 0.51$ ,  $n=7$ ) compared to HRM grouped mice ( $11.42 \pm 0.58$ ,  $n=7$ ). No differences were observed between genotypes. Spine density is expressed as the number of spines per 10  $\mu$ m of dendritic shaft.

(D) Representative 3D volume rendering of reconstructed spines and shafts from the four experimental conditions. Calibration bars: 5  $\mu$ m. Error bars represent SEM and  $n$  is the number of neurons. \*  $P < 0.05$  and \*\*  $P < 0.001$ , ANOVA.



## Figure 2. Genotype-specific effect of social isolation on Excitation/Inhibition balance

(A) Representative traces of GABA-spIPSCs recorded at  $-70\text{mV}$  taken from the different conditions. Calibration: 100 pA, 200 ms. (B) Representative traces of AMPA-spEPSCs recorded at  $-70\text{mV}$  taken from the different conditions. Calibration: 20 pA, 200 ms. (C) Total charge transfer of spontaneous GABA-IPSCs indicates a reduction in WT isolated ( $728.0 \pm 77.69$ ,  $n=9$ ), HRM grouped ( $700.5 \pm 76.59$ ,  $n=15$ ) and HRM isolated ( $777.1 \pm 73.79$ ,  $n=9$ ) mice in comparison to WT grouped mice ( $1431 \pm 212.0$ ,  $n=12$ ). (D) Total charge transfer of spontaneous AMPA-EPSCs indicates an increase in WT isolated mice ( $122.2 \pm 17.04$ ,  $n=9$ ) compared to WT grouped mice ( $55.59 \pm 7.760$ ,  $n=12$ ). No significant differences were observed in other experimental conditions ( $63.04 \pm 11.26$ ,  $n=12$  in HRM grouped and  $77.36 \pm 19.62$  in HRM isolated mice,  $n=6$ ). (E) Relative changes in spEPSC and spIPSC total charge transfer, for each neuron from WT isolated mice normalized to the WT grouped mean value, indicate an increase in excitation/inhibition balance in WT isolated mice compared to WT grouped mice. E, excitation; I, inhibition. (F) Relative changes in spEPSC and spIPSC total charge transfer, for each neuron from HRM isolated mice normalized to the HRM grouped mean value, indicate no difference in excitation/inhibition balance between HRM isolated mice and HRM grouped mice. E, excitation; I, inhibition. (G) Paired-pulse ratios of evoked GABA-IPSCs indicate no significant difference between the four experimental conditions. Each point is the average of eIPSC2/eIPSC1 ratio at different intervals: 30, 50, 100, 150, 200, 300 and 400ms. (H) Paired-pulse ratios of evoked AMPA-EPSCs indicate no statistically significant difference between the four experimental conditions. Each point is the average of eEPSC2/eEPSC1 ratio at different intervals: 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225 and 250ms. Error bars represent SEM and  $n$  is the number of neurons. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.001$  and \*\*\*\*  $P < 0.0001$ , ANOVA.

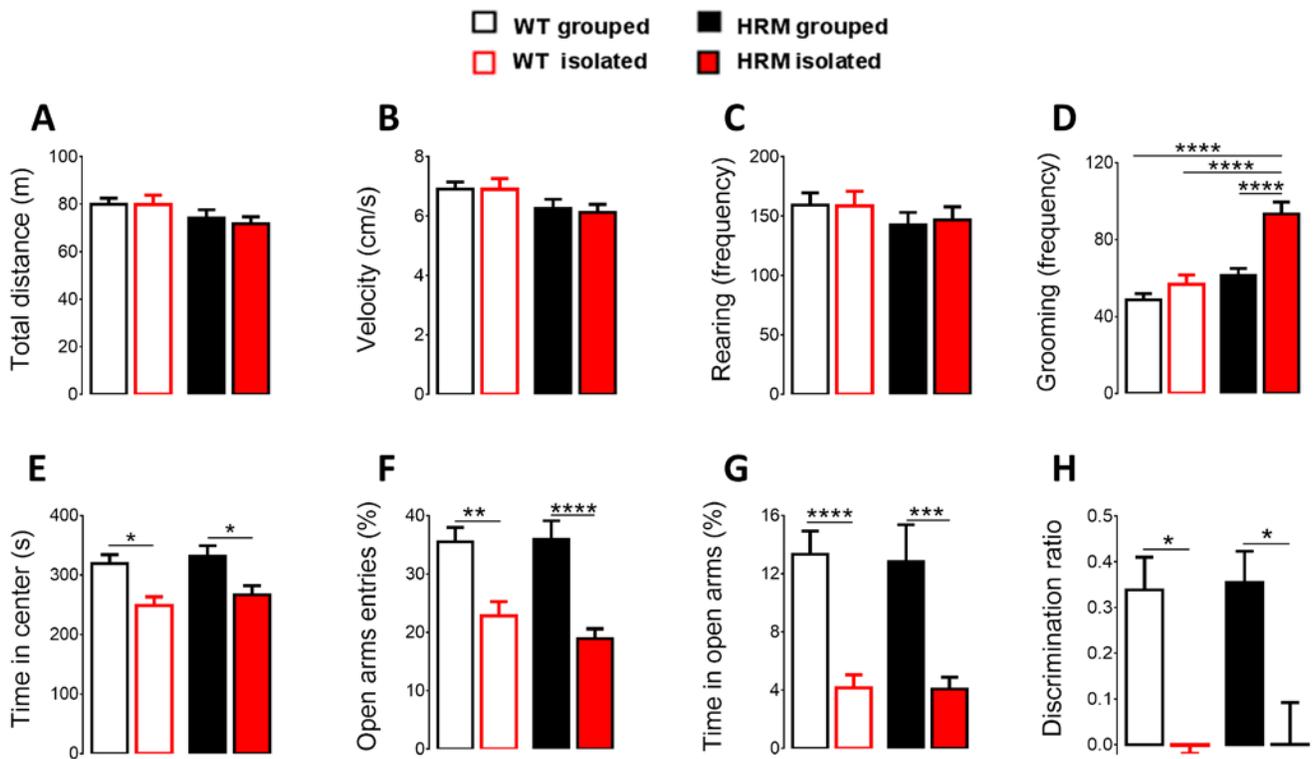


**Figure 3. Genotype-specific effect of social isolation on synaptic plasticity.**

**(A)Left:** Grouped time courses of eIPSC responses expressed as percentage of baseline before and after i-LTD induction (10min at 5Hz) in WT grouped and WT isolated mice. **Right:** Representative traces averaged from ten eIPSC responses before (gray) and 30 min after plasticity induction (black) in WT grouped and WT isolated mice. Calibration: 200 pA, 20 ms.**(B) Left:** Grouped time courses of eIPSC responses expressed as percentage of baseline before and after i-LTD induction (10min at 5Hz) in HRM grouped and HRM isolated mice. **Right:** Representative traces averaged from ten eIPSC responses before (gray) and 30 min after plasticity induction (black) in HRM grouped and HRM isolated mice. Calibration: 200 pA, 20 ms.**(C)**The percentage of i-LTD measured between 20 and 30

min after a 10min at 5Hz tetanus, show that i-LTD is abolished in WT isolated mice ( $0.51 \pm 11.70$ ,  $n=7$ ) compared to WT grouped mice ( $50.07 \pm 6.99\%$ ,  $n=7$ ). No significant differences were observed between HRM grouped ( $54.25 \pm 11.70\%$ ,  $n=7$ ) and HRM isolated mice ( $41.24 \pm 8.654\%$ ,  $n=6$ ).

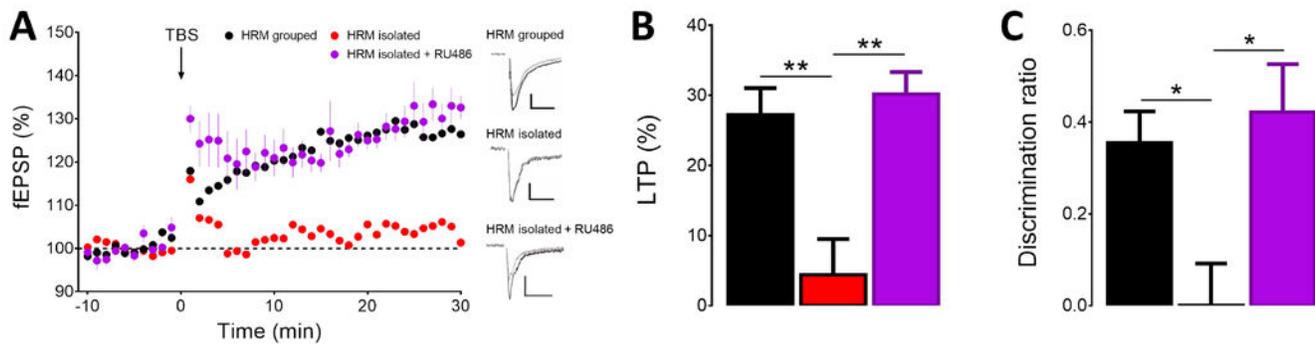
**(D) Left:** Grouped time courses of fEPSP responses expressed as percentage of baseline before and after LTP induction (TBS) in WT grouped and WT isolated mice. **Right:** Representative traces averaged from ten fEPSP responses before (gray) and 30 min after plasticity induction (black) in WT grouped and WT isolated mice. Calibration: 0.1 mV, 10 ms. **(E) Left:** Grouped time courses of fEPSP responses expressed as percentage of baseline before and after LTP induction (TBS) in HRM grouped and HRM isolated mice. **Right:** Representative traces averaged from ten fEPSP responses before (gray) and 30 min after plasticity induction (black) in HRM grouped and HRM isolated mice. Calibration: 0.1 mV, 10 ms. **(F)** The percentage of LTP measured between 20 and 30 min after a TBS protocol, show that LTP is abolished in HRM isolated mice ( $4.38 \pm 5.11$ ,  $n=10$ ) compared to HRM grouped mice ( $27.23 \pm 3.81\%$ ,  $n=17$ ). No significant differences were observed between WT grouped ( $27.25 \pm 3.86\%$ ,  $n=17$ ) and WT isolated mice ( $32.82 \pm 5.98\%$ ,  $n=12$ ). Error bars represent SEM and n is the number of animals. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.001$  and \*\*\*  $P < 0.0001$ , ANOVA.



**Figure 4. Behavioral deficits in socially isolated WT and HRM mice.**

(A-E) Open Field. (A) The total distance moved shows no significant difference between the four experimental conditions: WT grouped ( $79.98 \pm 2.57$ ,  $n=30$ ), WT isolated ( $79.83 \pm 3.94$ ,  $n=23$ ), HRM grouped ( $74.16 \pm 3.49$ ,  $n=35$ ) and HRM isolated mice ( $71.81 \pm 2.91$ ,  $n=33$ ). (B) The mean velocity shows no significant difference between the four experimental conditions: WT grouped ( $6.90 \pm 0.24$ ,  $n=30$ ), WT isolated ( $6.90 \pm 0.36$ ,  $n=23$ ), HRM grouped ( $6.26 \pm 0.299$ ,  $n=35$ ) and HRM isolated mice ( $6.12 \pm 0.27$ ,  $n=33$ ). (C) The total rearing behavior frequency shows no significant difference between the four experimental conditions: WT grouped ( $159.20 \pm 10.38$ ,  $n=30$ ), WT isolated ( $158.6 \pm 12.33$ ,  $n=23$ ), HRM grouped ( $142.60 \pm 10.38$ ,  $n=35$ ) and HRM isolated mice ( $146.8 \pm 11.08$ ,  $n=33$ ). (D) The total grooming behavior frequency shows an increase in HRM isolated mice ( $93.33 \pm 6.22$ ,  $n=33$ ) in comparison to HRM grouped ( $61.40 \pm 3.58$ ,  $n=35$ ), WT grouped ( $48.73 \pm 3.15$ ,  $n=30$ ) and WT isolated mice ( $56.70 \pm 4.95$ ,  $n=23$ ). No significant differences were observed between these last three conditions. (E) The total duration of time spent in the center of the arena shows a reduction in WT isolated ( $249 \pm 14.58$ ,  $n=23$ ) compared to WT grouped mice ( $319 \pm 15.28$ ,  $n=30$ ), and in HRM isolated ( $267 \pm 15.58$ ,  $n=33$ ) compared to HRM grouped mice ( $333 \pm 17.22$ ,  $n=35$ ). (F, G) Elevated Plus Maze (EPM). (F) The percentage of entries in the open arms of the EPM shows a reduction in WT isolated ( $22.85 \pm 2.42$ ,  $n=20$ ) compared to WT grouped mice ( $35.52 \pm 2.46$ ,  $n=22$ ), and in HRM isolated ( $18.93$

$\pm 1.68$ , n=26) compared to HRM grouped mice ( $35.97 \pm 3.15$ , n=14). **(G)** The percentage of time spent in the open arms of the EPM shows a reduction in WT isolated ( $4.15 \pm 0.89$ , n=20) compared to WT grouped mice ( $13.34 \pm 1.59$ , n=22), and in HRM isolated ( $4.08 \pm 0.82$ , n=26) compared to HRM grouped mice ( $12.84 \pm 2.52$ , n=14). **(H)** Discrimination ratio in the temporal order task shows a reduction in WT isolated ( $0 \pm 0.06$ , n=16) compared to WT grouped mice ( $0.34 \pm 0.07$ , n=25), and in HRM isolated ( $0 \pm 0.1$ , n=16) compared to HRM grouped mice ( $0.35 \pm 0.07$ , n=23). Error bars represent SEM and n is the number of animals. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.001$  and \*\*\*  $P < 0.0001$ , ANOVA.



**Figure 5. RU486 restored synaptic plasticity and recency memory in HRM isolated mice.**

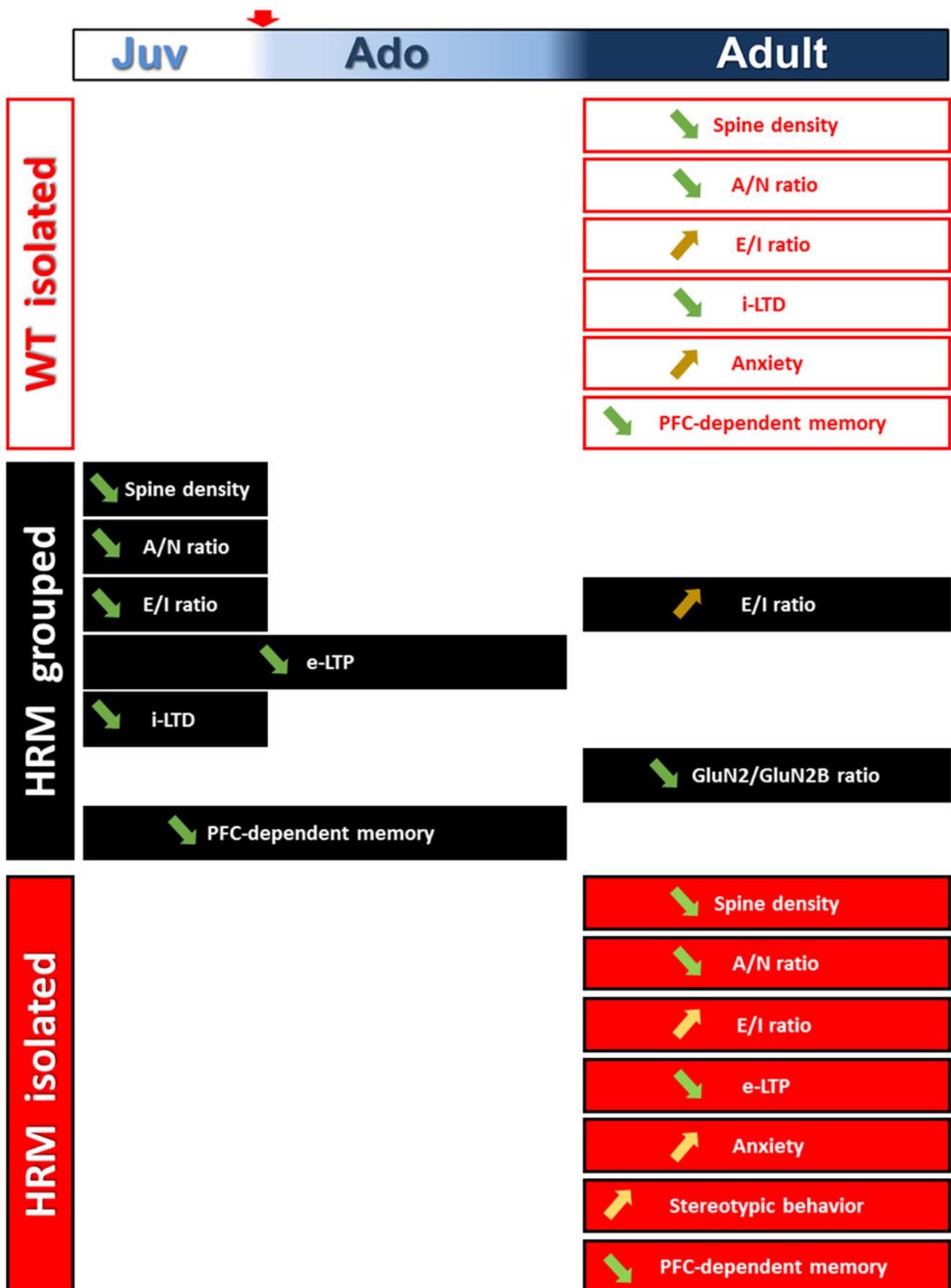
**(A) Left:** Grouped time courses of fEPSP responses expressed as percentage of baseline before and after LTP induction (TBS) in HRM grouped, HRM isolated and HRM isolated mice injected with RU486 40mg/kg 24h before the experiments. Right: Representative traces averaged from ten fEPSP responses before (gray) and 30 min after plasticity induction (black) in the three conditions. Calibration: 0.1 mV, 10 ms. **(B)** The percentage of LTP measured between 20 and 30 min after a TBS protocol shows that a single subcutaneous injection of RU486 40mg/kg 24h before the experiments increases the LTP in HRM isolated mice ( $30.18 \pm .3.148$ ,  $n=6$ ) compared to non-injected HRM isolated mice ( $4.38 \pm 5.11$ ,  $n=10$ ). **(C)** Discrimination ratio in the temporal order task shows an increase in HRM isolated mice injected with RU486 40mg/kg 24h before the experiments ( $0.42 \pm .0.10$ ,  $n=9$ ) compared to non-injected HRM isolated mice ( $0 \pm 0.09$ ,  $n=10$ ). Error bars represent SEM and n is the number of animals. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.001$ , ANOVA.

# **DISCUSSION ET PERSPECTIVES**

## **DISCUSSION ET PERSPECTIVES**

L'ensemble de nos travaux a permis la découverte de dysfonctionnements préfrontaux majeurs dans trois modèles neuro-développementaux de maladies psychiatriques : l'haploinsuffisance en reelin, l'isolement social de souris sauvages et l'isolement social de souris HRM.

Nous avons tout d'abord établi un portrait détaillé des synapses excitatrices et inhibitrices des neurones des couches profondes du PFC dans le modèle murin haplo-insuffisant pour la protéine reelin au cours du développement postnatal. En parallèle nous avons décrit pour la première fois l'effet de l'isolement social post-sevrage sur les propriétés électrophysiologiques des synapses excitatrices et inhibitrices des neurones des couches profondes du PFC à l'âge adulte. En combinant l'haploinsuffisance en reelin et l'isolement social, nous avons pu identifier à l'âge adulte les défauts uniquement dus à l'haploinsuffisance en reelin ou à l'isolement social, et ceux dus à l'interaction de ces deux atteintes. Puis nous avons mis en évidence que ces dysfonctions des circuits préfrontaux sont corrélés à des déficits de mémoire de peur conditionnée, de mémoire de récence et le contrôle des comportements stéréotypés compulsifs.

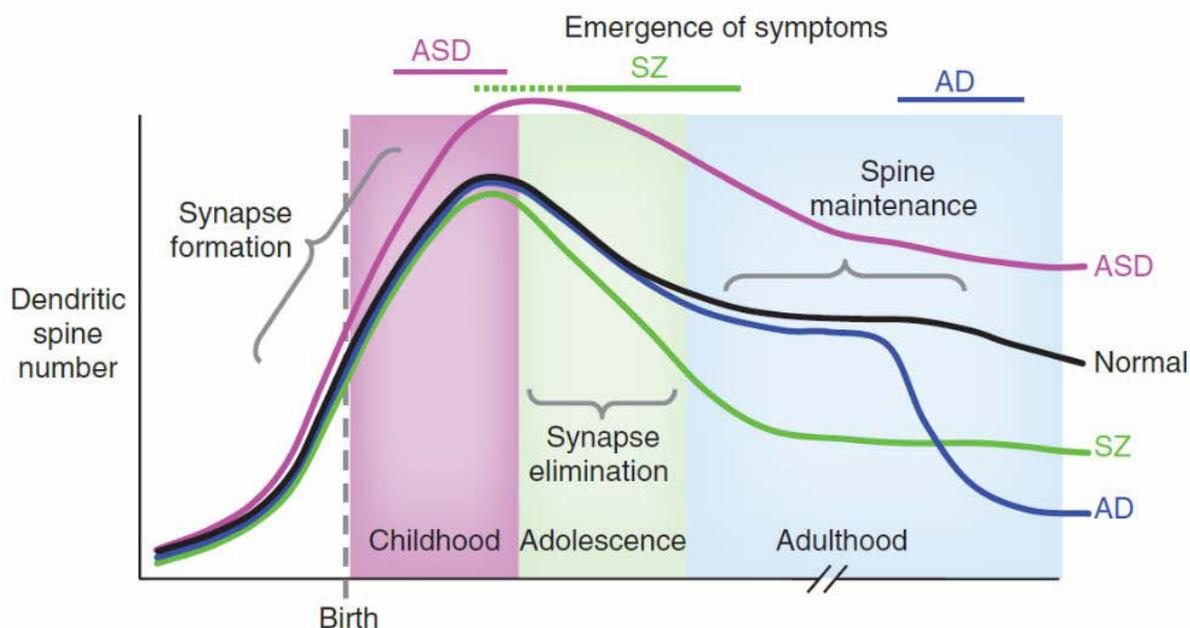


## I. Diminution des taux endogènes de reelin

Nos travaux ont permis de révéler une abolition de la potentialisation à long-terme (LTP) dans le PFC des HRM au stade juvénile (Figure 2A de l'article n°1, Figure 1B,C de l'article n°2). Nous avons montré que ce déficit était concomitant avec une réduction du nombre d'épines dendritiques (Figure 1B de l'article n°1, Figure 2 l'article n°2) mais aussi avec une augmentation de l'amplitude des courants NMDA (Figure 3D l'article n°2) et une diminution du ratio AMPA/NMDA (Figure 3A l'article n°2).

### 1. Reelin et réarrangements synaptiques :

La formation et l'élimination des synapses sont des processus affectés dans diverses maladies neuro-développementales telles que les troubles autistiques et la schizophrénie (Figure 42) (Penzes et al. 2011). De plus, des perturbations environnementales telles que le stress, l'isolement social et la consommation de drogue et d'alcool pourraient perturber ce processus.



**Figure 42: Représentation schématique du nombre d'épines dendritiques supposé au cours de la vie corrélé à l'émergence de symptômes neurologiques.** La formation des synapses débute dans la période embryonnaire et le pic de formation est atteint durant la période postnatale précoce. Une période d'élimination des épines dendritiques est observée durant l'adolescence puis le nombre d'épines reste relativement constant (courbe noire). Il est supposé que dans les troubles du spectre autistique, la formation d'épines soit accrue alors que l'élimination est réduite (courbe rose). Dans la schizophrénie, l'élimination des épines serait au contraire exacerbée (courbe verte). Dans la maladie d'Alzheimer, le nombre d'épines est diminué lors des stades avancés de la vie (courbe noire). Adapté de Penzes et al, 2011.

L'expression de la reelin au cours du développement coïncide avec l'apparition des premières protrusions synaptiques et la période de synaptogenèse soutenue. De façon surprenante, la période d'élimination des synapses coïncide à la période de diminution d'expression de la protéine reelin chez le rongeur (Alcántara et al. 1998b; Sinagra 2005; Penzes et al. 2011). La reelin participe à la stabilisation du cytosquelette par phosphorylation de la protéine cofilin, son interaction avec Notch et l'activation indirecte de cadhérines (Chai et al. 2009; Hashimoto-Torii et al. 2008; Sibbe et al. 2009; Frotscher 2010; Jossin & Cooper 2011; Franco et al. 2011). La diminution physiologique des taux de reelin durant la période d'adolescence pourrait faciliter le processus d'élimination qui s'effectue tardivement dans certaines structures telles que le PFC. Une diminution excessive des taux de reelin durant cette période pourrait provoquer une élimination exacerbée.

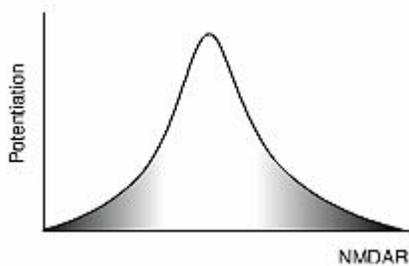
Il serait intéressant d'étudier l'effet de la reelin sur la formation, le maintien et l'élimination des épines dendritiques durant la période juvénile et adolescente. La formation d'épines dendritiques de façon expérimentale est rendue possible par libération de glutamate à proximité d'un prolongement dendritique (Kwon & Sabatini 2011). Il serait alors possible d'évaluer la probabilité de formation d'épines et leur maintien chez les animaux HRM comparé aux animaux sauvages. Il a été suggéré que durant la période de l'adolescence, l'élimination physiologique des synapses serait induite par une augmentation de la dépression à long terme (LTD) (Selemon 2013). En effet, la dépression de la force synaptique dépendante des NMDAR induit un rétrécissement des épines (Toni et al. 1999; Zhou et al. 2004). Il serait possible d'examiner la LTD chez les HRM et les animaux sauvages à différents âges et d'évaluer son impact sur l'élimination des épines.

## **2. Abolition de la LTP**

Différentes hypothèses peuvent être émises pour expliquer cette altération de la LTP en relation avec nos résultats et les données bibliographiques. Des modifications de la morphologie et/ou du fonctionnement des synapses pourraient participer à ces mécanismes. De plus, les modifications engendrées par une insuffisance en protéine reelin durant la maturation des circuits neuronaux peuvent être différenciées de l'effet aigu de la reelin sur l'induction de la LTP.

Nous avons vérifié que la LTP induite par le protocole TBS était dépendante des récepteurs NMDA. De manière intéressante, les amplitudes des courants spontanés NMDA sont augmentées chez les HRM aux stades juvéniles à la période où la LTP est profondément affectée (Figure 3D de l'article n°2). L'altération de la LTP pourrait être due à un phénomène d'occlusion empêchant l'induction de la plasticité chez les animaux HRM. En effet, il a été montré qu'une saturation des NMDAR par un excès de glutamate altère la

LTP (Katagiri et al. 2001). La relation entre la potentialisation et l'expression synaptique des NMDAR peut être représentée par une courbe en U inversé :



- une réduction ou un blocage des NMDAR empêcherait l'induction de la LTP
- une expression optimale des récepteurs permettrait d'induire la LTP
- une expression exacerbée des récepteurs empêcherait la LTP.

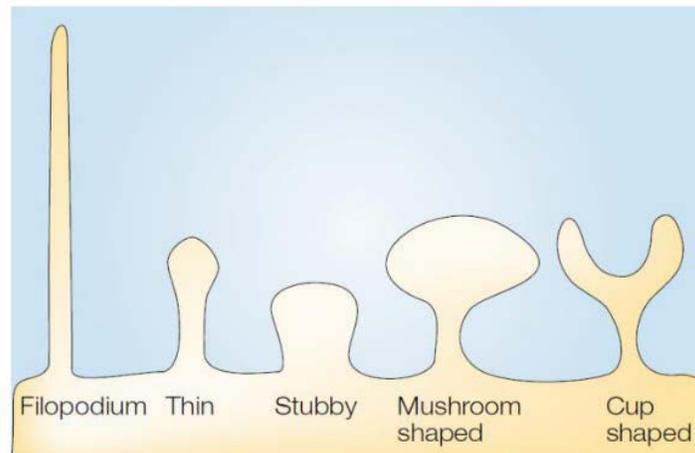
Pour tester l'hypothèse d'une occlusion de la LTP par une expression excessive de NMDAR, il serait envisageable de dépotentialiser les synapses glutamatergiques. Pour cela, l'utilisation d'un protocole de stimulation à faible fréquence permettrait de déprimer les réponses synaptiques puis une fois les réponses stabilisées d'induire un protocole de TBS pour comparer la LTP entre les animaux HRM et contrôles.

L'augmentation de l'amplitude des courants spontanés NMDA sans modification de la fréquence peut être interprétée comme une présence plus importante de NMDAR à la synapse chez les animaux HRM à la période juvénile. Un nombre accru de NMDAR à la synapse se répercute sur le ratio des courants AMPA/NMDA qui est un indice de maturité et de plasticité des synapses (Hall & Ghosh 2008). Ce ratio AMPA/NMDA est diminué chez les animaux HRM juvéniles (Figure 3D de l'article n°2) suggérant la présence de synapses immatures ou silencieuses au potentiel de repos. La présence de synapses silencieuses a été observée dans l'hippocampe des HRM (Qiu & Weeber 2007). Il serait intéressant de déterminer la présence de synapses silencieuses dans le PFC des HRM au stade juvénile comparé aux animaux sauvages en analysant la probabilité de réponse à une stimulation minimale (Durand et al. 1996). L'éventuelle présence de synapses silencieuses n'explique pas l'absence de LTP chez les HRM car ces synapses sont capables d'exprimer une potentialisation synaptique (Isaac et al. 1995) mais on peut remarquer que la LTP et la maturation des synapses partagent des mécanismes notamment l'activation de la CAMKII (Wu et al. 1996). L'abolition de la LTP et l'immaturité des synapses pourraient s'effectuer par la perturbation d'un mécanisme commun.

L'abolition de la LTP pourrait être due à un défaut de la morphologie neuronale notamment liée à la réduction des épines dendritiques observée au niveau des neurones pyramidaux de la couche V du PFC des HRM. Or, cette réduction est spécifique des épines présentant un faible diamètre des têtes. Le diamètre des têtes nous donne indirectement un indice sur la taille de la densité post-synaptique et sur le nombre de récepteurs dans la zone active. Par exemple, l'amplitude des courants AMPA est proportionnelle au volume des têtes (Zito et al. 2009). Cependant, le lien entre la morphologie des épines et leurs propriétés de

maturation n'est pas direct (Kwon & Sabatini 2011). On se peut donc se poser la question du rôle des différentes morphologies des épines dendritiques.

Les épines dendritiques du cortex et d'autres structures telles que l'hippocampe présentent une grande diversité morphologique (Figure 43). Les épines ont été répertoriées en différentes classes selon leur morphologie telle que des formes stubby, thin ou mushroom (Hering & Sheng 2001). Cependant le rôle des différentes classes d'épines est encore inconnu.



**Figure 43 : Diversité morphologique des épines dendritiques du cortex.**

D'après Hering et Sheng, 2001.

La reelin intervient dans la régulation de la morphologie des épines dendritiques (Pujadas et al. 2010) et pourrait aussi participer à leur formation et leur maintien (Rogers, Rusiana, Trotter, Zhao, Donaldson, Pak, Babus, Peters, Banko, Chavis, G. W. Rebeck, et al. 2011). Dans notre étude nous avons montré que le nombre d'épines possédant un faible diamètre des têtes est supérieur dans le PFC des animaux sauvages comparé au HRM. Lors de l'induction de la LTP, ces épines pourraient être activées et auraient alors une plus grande capacité de s'élargir pour participer au renforcement des réponses synaptiques. Un phénomène similaire a précédemment été décrit (Matsuzaki et al. 2004). Une augmentation du volume des têtes peut être induite par décaageage de glutamate à proximité des épines selon un patron de stimulation spécifique et de façon dépendante des NMDAR. De plus, la stimulation d'épines présentant des têtes de différents volumes montre que les épines à faible volume ont une capacité dix fois supérieure à accroître ce volume durablement comparé aux épines présentant des grosses têtes (Matsuzaki et al. 2004). Cette plasticité structurale pourrait soutenir la LTP chez les animaux sauvages mais elle pourrait être déficiente chez les HRM juvéniles. Une étude approfondie des mécanismes reliant la plasticité fonctionnelle des synapses aux changements morphologiques à l'échelle de l'épine individuelle permettrait de déterminer la causalité entre la structure et la fonction, de comprendre le rôle de la diversité morphologique des épines du cortex, ainsi que d'étudier précisément les mécanismes morphologiques dans des modèles de « synaptopathies ».

Le maintien de la LTP pourrait nécessiter la synthèse de la protéine reelin. Il a été proposé que les entrées synaptiques ou les stimuli extérieurs soient capables de modifier l'expression protéique par des régulations épigénétiques (Levenson & Sweatt 2005). Il a également été montré qu'un protocole de stimulation à haute fréquence dans le PFC induit un relâchement de l'ADN et une transcription de l'ARNm reelin (Sui et al. 2012). Or, nous avons vu précédemment que l'effet aigu de la reelin favorise la phosphorylation des NMDAR (Chen et al. 2005), permet l'insertion de AMPAR à la membrane (Qiu, Zhao, et al. 2006), augmente la densité des épines dendritiques (Rogers, Rusiana, Trotter, Zhao, Donaldson, Pak, Babus, Peters, Banko, Chavis, G. W. Rebeck, et al. 2011). Ces différentes actions de la reelin pourraient soutenir de façon aiguë les processus de la LTP qui est favorisée en présence de reelin (Weeber et al. 2002; Beffert et al. 2005). Si notre protocole de LTP induit de façon similaire une augmentation de l'expression de la protéine reelin chez les animaux sauvages, cette augmentation devrait être réduite de moitié chez les HRM. Ceci pourrait participer à l'abolition de LTP chez les animaux HRM (Figure 2A de l'article n°1, Figure 1B,C de l'article n°2). Pour tester cette hypothèse, l'utilisation de souris transgéniques avec un gène reelin *LoxP* permettrait de supprimer le gène par injection de l'enzyme Cre recombinase durant une fenêtre précise et ainsi de différencier l'effet de la reelin durant la maturation du PFC de son effet aigu lors de l'induction de la LTP.

### **3. Reelin et la sous-unité GluN2B**

Nous avons décrit dans l'introduction les changements de composition en sous-unités NMDAR au cours du développement. La sensibilité des courants à un inhibiteur allostérique spécifique des sous-unités GluN2B, le Ro25-6981 à la concentration de 1 $\mu$ M, reste importante au cours du développement chez les HRM alors que cette sensibilité diminue chez les animaux sauvages (Figure 4B de l'article n°2). Au stade adulte, la proportion de NMDAR synaptique comportant la sous-unité GluN2B est donc supérieure chez les HRM comparé aux animaux sauvages. Ces données ont permis d'évaluer l'effet *in vivo* de la reelin sur la composition en sous-unités des NMDAR et de confirmer les précédents travaux *in vitro* de notre groupe (G. C. Campo et al. 2009; L. Groc et al. 2007; Sinagra et al. 2005).

L'altération de la LTP durant les stades juvénile et adolescent chez les HRM pourrait se répercuter sur la maturation des synapses et particulièrement sur la composition en sous-unités des NMDAR. En effet chez des souris sauvages, la LTP accélère le décours des courants NMDA et diminue la sensibilité à l'ifenprodil alors qu'un protocole de LTD annule ces effets (Bellone & Nicoll 2007). Chez les HRM, l'abolition de la LTP au stade juvénile pourrait ralentir la maturation des synapses et empêcher le changement de composition en sous-unités des NMDAR. Cependant quel est l'impact d'une expression élevée et de la sous-unité GluN2B chez les HRM adultes ?

L'amplitude des courants excitateurs est augmentée lors de la délétion de la sous-unité GluN2B chez des animaux knock-out ou lors du blocage pharmacologique par l'ifenprodil. Cet effet n'est pas restauré par le remplacement des sous-unités GluN2B par GluN2A (Wang et al. 2011). Un rôle spécifique de GluN2B a été suggéré dans l'inhibition de la traduction protéique locale et dans le maintien de l'excitabilité synaptique. La surexpression de GluN2B pourrait par conséquent inhiber la traduction locale de protéine qui permet d'adapter rapidement l'activité neuronale (Wang et al. 2011). En effet, l'inhibition de GluN2B au stade adulte favorise la synthèse protéique par l'activation de la voie mTOR et induit un effet antidépresseur (Li et al. 2010a). Or, la proportion synaptique de GluN2B-NMDAR est plus élevée dans le PFC des HRM comparé aux animaux sauvages.

La sous-unité GluN2B a été étudiée en relation avec la plasticité synaptique. La surexpression de la sous-unité GluN2B dans le télencéphale favorise la LTP dans le PFC (Cui et al. 2011). L'effet de l'inhibition aigue des sous-unités GluN2B par le Ro 25-6981 sur la LTP du PFC dépendrait des protocoles de stimulations. L'induction de la LTP par des protocoles de stimulation haute fréquence ou de stimulations pré-synaptiques pairées à une dépolarisation post-synaptique n'est que faiblement affectée par l'inhibition des GluN2B alors que la LTP induite par un protocole TBS (Theta burst stimulation) ou de STDP (spike-timing dependent plasticity) est totalement abolie (Zhao et al. 2005). Dans nos conditions, nous observons une récupération de la LTP induite par TBS coïncidant à une proportion synaptique persistante de GluN2B au niveau du PFC des HRM adultes. Il serait intéressant de déterminer l'impact de la sous-unité GluN2B sur la LTP des animaux HRM adultes comparé à celle des animaux sauvages en incubant un antagoniste de la sous-unité GluN2B durant l'induction du protocole.

#### **4. Reelin et transmission GABAergique**

Nous avons étudié la maturation postnatale de la transmission inhibitrice GABAergique dans le PFC de souris sauvages et HRM du stade juvénile au stade adulte. Nous avons montré que chez les souris sauvages la transmission GABAergique dans le PFC augmente en fonction de l'âge (Figure 1 et 3 de l'article n°3). Des résultats similaires ont également été décrits chez le macaque rhésus (Gonzalez-Burgos et al. 2014)) et l'humain (Insel 2010). Ces effets pourraient être dus à une augmentation du nombre de synapses GABAergiques avec l'âge ; toutefois cette hypothèse reste à vérifier.

Nos résultats indiquent que chez les souris HRM, la transmission GABAergique ne mature pas entre P14 et P90. Au stade juvénile, l'haplo-insuffisance en reelin induit une augmentation de l'amplitude, de la fréquence et du transfert de charge des événements spontanés spIPSC-GABA. Au stade adulte, les souris HRM présentent une diminution de l'amplitude, de la fréquence et du transfert de charge des spIPSC-GABA par rapport aux souris sauvages du même âge. Une étude a montré une diminution des amplitudes et

fréquences des spIPSC-GABA dans l'hippocampe de souris HRM adultes (Qiu, Korwek, et al. 2006). Ces résultats indiquent que la diminution la transmission GABAergique au stade adulte n'est pas spécifique au PFC et serait un phénomène plus général. Aucune étude ne s'est intéressée au système GABAergique chez les souris HRM au stade juvénile. Nos résultats suggèrent que la reelin joue un rôle crucial dans la régulation du système GABAergique durant la maturation postnatale et que ce rôle change avec l'âge. Une étude approfondie de ces rôles est donc nécessaire. Nous pouvons tout de même noter que les défauts aux stades juvénile et adulte, ne semblent pas dus à une perturbation dans la machinerie présynaptique de libération de GABA, comme le montrent les résultats des PPR-eIPSC (Figure 2 de l'article n°3). Ceci indique que ces défauts seraient plutôt liés à des altérations postsynaptiques (diminution de l'expression des GABA-A-R, par exemple) ou à des processus de réarrangement des synapses GABAergiques (Formation, maintien ou élimination). Des études rapportent une diminution du nombre de neurones GABAergiques et de l'expression de l'enzyme GAD67, de l'indice de conversion Glutamate/GABA (par l'enzyme GAD67) et du turnover du GABA dans l'hippocampe et le cortex de souris HRM adultes (Liu et al. 2001; Carboni et al. 2004; Qiu, Korwek, et al. 2006; Nullmeier et al. 2011). Il a été montré que une injection unique in vivo de reelin à l'âge adulte augmente le nombre de cellules GAD67+ dans l'hippocampe (Rogers et al. 2013). L'ensemble de ces résultats indiquent que les niveaux de reelin endogène régulent finement la formation et/ou le maintien des synapses GABAergiques des neurones pyramidaux.

Dans nos études précédentes nous avons montré que l'haplo-insuffisance en reelin n'altère pas la transmission glutamatergique médiée par les AMPAR dans le PFC (Figure 1C de l'article n°2). Des résultats similaires ont été observés dans l'hippocampe des souris HRM (Qiu, Korwek, et al. 2006). L'altération du ratio excitation/inhibition dans le PFC (Figure 3 de l'article n°3) et l'hippocampe des souris HRM (Qiu, Korwek, et al. 2006) semble donc être le résultat d'une altération de la transmission GABAergique. Une réduction de l'inhibition et une augmentation de la balance excitation/inhibition dans le PFC et l'hippocampe est reporté chez des patients atteints de maladies psychiatriques et dans des modèles murins de ces troubles mentaux (Yizhar et al. 2011; Kehrer et al. 2008; Wassef et al. 2003; Gatto & Broadie 2010; Benes 1999; Keverne 1999).

## **5. Réactivation des réponses de peur**

La principale perturbation comportementale observée dans notre analyse comportementale est une diminution de la réactivation de la peur chez les HRM juvéniles et adolescents (Figure 1C et 6 de l'article n°1, Figure 1D de l'article n°2). Comme nous l'avons mentionné dans l'introduction, le mPFC joue un rôle crucial dans les processus d'extinction et de réactivation de la mémoire de peur. Une étude a montré qu'avant la troisième semaine de vie chez les rongeurs et l'apparition des réseaux périneuronaux, (un composant de la matrice extracellulaire), l'extinction conduit à l'effacement de la mémoire de peur

observée lors du test de réactivation. La réactivation de la mémoire de peur devient ensuite stable au cours de la maturation (Gogolla et al. 2009). Chez les animaux HRM, l'effacement de la mémoire s'effectuerait sur une période prolongée jusqu'à l'adolescence.

Une diminution des réponses lors de la réactivation chez les HRM pourrait s'expliquer par différents mécanismes. En absence de sessions d'extinction, les HRM expriment des réponses élevées comparables aux réponses des animaux sauvages lors du test de réactivation de la mémoire (Figure 1D et 6D de l'article n°1). Le délai entre l'acquisition et la réactivation ne suffit donc pas à altérer la mémoire de peur chez les HRM. D'après ces résultats, nous avons émis l'hypothèse d'un effacement de la mémoire de peur lors des sessions d'extinction chez les HRM. Cette hypothèse a déjà été suggérée par l'étude impliquant une altération des réseaux périneuronaux (Gogolla et al. 2009). L'insuffisance en reelin pourrait perturber la stabilité de la mémoire de peur qui serait plus labile lors de l'extinction.

La LTP pourrait aussi intervenir dans ce phénomène. En effet, la LTP et les réponses de peur lors de la réactivation de la mémoire sont corrélées (Figure 1D de l'article n°2). On peut donc suggérer que la potentialisation de la force synaptique du PFC est nécessaire à l'expression de la mémoire de peur lors de la réactivation. Une corrélation entre l'altération de la LTP dans l'amygdale et la diminution de la réactivation de la mémoire a été mise en évidence après dégradation de la matrice extracellulaire par l'enzyme ChABC (Gogolla et al. 2009). Une autre étude montre que l'extinction induit la formation de nouvelles épines dendritiques au niveau des neurones de la couche V du PFC (Lai et al. 2012).

Une augmentation du nombre de synapses permettrait de renforcer les connexions réciproques entre le mPFC et l'amygdale (Little & Carter 2013). Ces connexions pourraient permettre au mPFC de contrôler en amont les réponses de peur pour les adapter au contexte et une éventuelle perturbation de cette connectivité chez les HRM pourrait altérer ce contrôle cognitif. Pour vérifier cette hypothèse, une analyse précise de la densité des épines du PLC connectées par des afférences en provenance du complexe amygdalien pourrait être effectuée après les différentes étapes du paradigme comportemental (acquisition, extinction précoce, rappel de l'extinction, réactivation de la peur).

Une dernière hypothèse envisagée serait que lors du test de réactivation, les HRM ne seraient pas capables de différencier le contexte d'acquisition et le contexte d'extinction auxquels elles ont été exposées. Pour tester cette hypothèse, des expériences complémentaires seraient nécessaires. En effet, nous n'avons pas encore déterminé l'effet du changement de contexte dans notre paradigme. Pour cela, les sessions d'extinction devraient être réalisées dans le même contexte que l'acquisition pour ensuite comparer les réponses de peur lors du test de réactivation entre les deux génotypes.

L'apprentissage associatif du conditionnement de peur est un comportement impliquant l'amygdale. Lors de l'extinction, le PFC est recruté et influence le réseau amygdalien par sa connexion réciproque avec certains noyaux de ce complexe. Est-ce que la dysfonction du PFC entraînée par une réduction des taux de reelin pourrait aussi perturber d'autres comportements ? Par la grande diversité des connexions du mPFC, d'autres systèmes pourraient aussi être affectés par le dysfonctionnement du PFC chez les HRM. Il serait intéressant de tester les animaux HRM dans des apprentissage par renforcement impliquant le système de récompense (dont le PFC, le Nacc et l'VTA), dans des tests de rappel mnésique impliquant la efférence de l'hippocampe vers le PFC, ainsi que dans des tests évaluant les processus attentionnels impliquant la réciprocity des connexions du mPFC avec les noyaux du tronc cérébral et la thalamus.

## II. Isolement social post-sevrage

Plusieurs études se sont intéressées aux effets de l'isolement social sur le comportement des rongeurs et sur la neurochimie de leurs synapses, notamment dans le PFC. Les défauts décrits dans la littérature indiquent que l'isolement social chez le rongeur pourrait constituer un modèle de grande valeur pour l'étude des maladies psychiatriques, particulièrement la schizophrénie (Powell & Miyakawa 2006; Piotr Ratajczak et al. 2013). De nombreux auteurs suggèrent que ces maladies soient des synaptopathies; en d'autres termes, elles seraient associées à des altérations morpho-fonctionnelles des synapses, se traduisant, entre autre, par des défauts de la transmission et/ou de la plasticité synaptique, notamment au niveau du PFC (Garey et al. 1998; Malenka & Bear 2004). Toutefois, aucune étude n'a décrit l'impact que l'isolement social peut avoir sur le fonctionnement électrophysiologique des synapses dans le PFC.

### 1. Altérations de la transmission synaptique glutamatergique

Les études précédentes qui se sont intéressées à l'effet de l'isolement social sur les synapses glutamatergiques excitatrices du PFC se sont focalisées principalement sur leur aspect morphologique, en étudiant le nombre et la morphologie des épines dendritiques. Ces études ont montré une diminution de la densité et de la longueur des épines dendritiques (Pascual & Zamora-León 2007; Silva-Gómez et al. 2003; Comery et al. 1995; Comery et al. 1996; Murphy et al. 2010). Nous avons pu confirmer ce phénotype dans nos conditions expérimentales ; en effet notre étude révèle une diminution de la densité des épines sur les dendrites obliques des neurones pyramidaux de la couche V du PFC de souris ayant subi un isolement social post-sevrage de huit semaines par rapport aux contrôles sociabilisés. Cette diminution de densité d'épines pourrait être due à des altérations des mécanismes de formation, de stabilisation et/ou d'élimination de synapses. Une étude suggère que l'isolement social post-sevrage chez le rongeur affecterait le processus de formation de synapses (Murphy et al. 2010). Leur hypothèse découle de l'observation que le nombre de synapses augmentent entre P60 et P80 dans le PFC de rat socialisés mais pas chez les rats socialement isolés. Toutefois, dans l'une de nos études (Article n°2), nous avons étudié l'évolution de la densité d'épines dendritiques dans le PFC au cours de la maturation postnatale et nos résultats n'indiquent aucun changement de ce paramètre entre le stade juvénile et l'âge adulte chez les souris sauvages socialisées. Nos résultats suggèrent donc que l'isolement social altère le processus de stabilisation des synapses. La différence entre les observations reportées dans notre étude (article n°2) et celles de Murphy et collaborateurs, pourrait être due à plusieurs raisons, telles le modèle animal (souris, rat) et/ou la technique (microscopie confocale, microscopie électronique) utilisée. De plus, nos études se focalisent sur les épines des dendrites obliques des neurones pyramidaux des couches profondes du PFC, alors que l'étude de Murphy et al. Collaborateurs s'est intéressée aux synapses de la couche III. Une étude

approfondie demeure donc nécessaire pour comprendre les mécanismes d'action de l'isolement social sur les processus de réarrangements synaptiques dans les différents types de dendrites des différentes populations de neurones préfrontaux. Nous pouvons tout de même conclure que l'isolement social affecte les mécanismes de réarrangements synaptiques dans le PFC.

Nous sommes les premiers à révéler qu'un isolement social post-sevrage de huit semaines altère les propriétés électrophysiologiques des synapses excitatrices du PFC chez le rongeur (Article n°4). Nous avons montré qu'une augmentation du transfert de charge des spontanés EPSC-AMPA dans le PFC de souris sauvages socialement isolées. Les résultats de PPR indiquent que cette augmentation n'est pas due à une altération dans la machinerie présynaptique de libération de glutamate, suggérant ainsi que les altérations touchent principalement les postsynapses. Nous avons apporté un autre argument en faveur de cette hypothèse grâce à la technique de blocage progressif dans récepteurs NMDAR. Cette technique qui consiste à enregistrer des évoqués EPSC-NMDA en présence du MK-801, un antagoniste irréversible des récepteurs NMDAR qui ne s'y fixe que lorsque ces derniers sont ouverts ; l'amplitude des réponses est donc progressivement réduite en raison de l'augmentation du nombre de récepteurs qui sont bouchés par le MK-801 après leur activation. La cinétique de cette réduction progressive dépend de la fréquence à laquelle le glutamate est libéré (Branco & Staras 2009). Les résultats de ces expériences ne révèlent aucun défaut dans la machinerie présynaptique de libération de glutamate entre les souris socialement groupées et socialement isolées (données non montrées). L'ensemble de ces données indique que l'isolement social chez les souris sauvages induit une augmentation de la force de la transmission glutaminergique basale médiée par les AMPAR, et que cet effet est probablement dû à des altérations postsynaptiques. Des études ont montré qu'un isolement social post-sevrage de six semaines induit une augmentation de l'expression des sous-unités de AMPA-R de type GluR1, GluR2 et GluR3 et de la phosphorylation la serine 845 de la sous-unité GluR1 dans le PFC (Levine et al. 2007; Araki et al. 2014). La phosphorylation de la serine 845 des GluR1 augmente les courants AMPA en augmentant la probabilité et le temps d'ouverture de ces canaux (Roche et al. 1996). Ainsi, l'augmentation des courants AMPA que nous avons observés, serait due à défauts postsynaptiques impliquant une augmentation de l'expression et/ou d'activité d'une ou plusieurs types de sous-unités des AMPAR.

Les résultats présentés dans l'article n°4 montrent que le ratio AMPA/NMDA est augmenté dans le PFC des souris sauvages socialement isolées par rapport aux souris sauvages élevées en groupes. Ces observations combinées aux données indiquant une augmentation de la charge de transfert des sp EPSC-AMPA indiquent une forte augmentation des courants de type NMDA. Par ailleurs, aucune étude n'a décrit une augmentation des courants NMDA chez les animaux isolés et les données bibliographiques concernant les effets de l'isolement social sur l'expression des NMDAR dans le PFC sont très contradictoires (Hermes et

al. 2011; Sestito et al. 2010; Murphy et al. 2010). Il serait donc intéressant d'étudier l'expression et l'activité des récepteurs NMDAR dans le PFC de souris socialement isolées afin de vérifier notre hypothèse sur l'augmentation des courants NMDA chez ces animaux.

Dans les articles n°1, 2 et 4 nous avons montré que la diminution du ratio AMPA/NMDA est corrélée à une abolition de la LTP NMDA-dépendante chez les souris HRM juvéniles et les souris HRM isolées adultes. D'autres études reportent une corrélation similaire (Esteban et al. 2003; Brown et al. 2005). De manière surprenante, les souris sauvages socialement isolées ne présentent pas une abolition de cette forme de plasticité (Figure Article n°4). Comme je l'ai mentionné dans le paragraphe précédent, les souris sauvages isolées présenteraient à la fois une diminution du ratio AMPA/NMDA et une augmentation des courants NMDA et AMPA ; une augmentation plus forte pour les courants NMDA seraient à base de la diminution du ratio AMPA/NMDA chez ces animaux. Au contraire, chez les souris HRM juvéniles et isolées, les courants AMPA ne sont pas affectés. En d'autres termes, malgré la baisse du ratio AMPA/NMDA chez les souris sauvages isolées, la LTP-NMDA-dépendante serait préservée grâce à l'augmentation de la force des sp EPSC-AMPA. Même si cette hypothèse à rester à prouver, nous pouvons néanmoins noter qu'elle va dans le sens des nos résultats de l'article n°1 indiquant qu'une augmentation des courants AMPA mais pas NMDA suite à une injection de kétamine restore la LTP-NMDA-dépendante chez les souris HRM juvéniles. Je discuterai cet effet de la kétamine plus tard dans cette discussion.

## **2. Altérations de la transmission et de la plasticité synaptiques GABAergiques**

La transmission synaptique GABAergique joue un rôle important dans le contrôle et l'orchestration de l'activité des assemblées de neurones pyramidaux (Buzsáki 2001; Riga et al. 2014). Plusieurs évidences indiquent que la transmission GABAergique est altérée dans des maladies psychiatriques, telle que la schizophrénie (Nutt & Malizia 2001; Gonzalez-Burgos & Lewis 2008; Williams & Boksa 2010; Insel 2010).

Nos résultats montrent que l'isolement social diminue le transfert de charge des spIPSC-GABA, indiquant ainsi une réduction de l'efficacité de la transmission inhibitrice médiée par les GABA-A-R. Cette réduction est due à la fois à une baisse de l'amplitude et de la fréquence des spIPSC-GABA (données non montrées). De plus, il semblerait que ce défaut ne soit pas lié à une perturbation dans la machinerie présynaptique de libération de GABA, comme le montre les résultats des PPR-eIPSC (Figure 2G de l'article n°4). Ceci suggère que la diminution de la transmission GABAergique serait plutôt liée à des altérations postsynaptiques (diminution de l'expression des GABA-A-R, par exemple) ou à une baisse du nombre des synapses GABAergiques. Des données bibliographiques rapportent une diminution du nombre de neurones GABAergiques et de l'expression des récepteurs au GABA-A dans le PFC de rongeurs ayant subi un

isolement social post-sevrage (Serra et al. 2007; Murphy et al. 2010; Sanna et al. 2011; Bloomfield et al. 2008; Pisu et al. 2011). L'ensemble de ces données peut refléter la «down-régulation» du système GABAergique observée en post-mortem dans les cerveaux de patients schizophrènes (Benes 2000; Costa et al. 2001; Guidotti et al. 2005). De plus, ce défaut est observé dans plusieurs modèles murins de schizophrénie (C. A. Jones et al. 2011), qu'ils soient génétiques, tel que le knock-out pour DISC1 (Wei et al. 2015), développementaux, tel que le traitement à l'antimitotique methylazoxymethanol (MAM) durant la gestation (Bloomfield et al. 2008), lésionnels, telle que la lésion néonatale de l'hippocampe ventral (Beninger et al. 2009; Lipska et al. 2003), pharmacologiques, tel que l'injection la phencyclidine (PCP) (Beninger et al. 2010; Choi et al. 2009). Toutefois, les mécanismes sous-tendant cette diminution de l'activité du système GABAergique observée dans la schizophrénie et les modèles murins qui la reproduisent demeurent inconnus.

L'ensemble des données sur les transmissions synaptiques glutamatergique et GABAergique montrent que le ratio excitation/inhibition est augmenté chez les souris sauvages socialement isolées. Il est suggéré que plusieurs déficits comportementaux observés dans des maladies psychiatriques tels que la schizophrénie et l'autisme seraient dus à une augmentation de la balance excitation/inhibition (Yizhar et al. 2011). En effet, outre notre l'isolement social, d'autres modèles animaux de maladies psychiatriques présentent des altérations de la balance excitation/inhibition, tels que les modèles de schizophrénie (Kehrer et al. 2008; Wassef et al. 2003) et d'autisme (Gatto & Broadie 2010).

### **3. Altérations de la plasticité des synapses GABAergiques**

Une multitude travaux de recherche indiquent que des altérations de la plasticité synaptique, notamment au niveau du PFC, sont à l'origine de nombreuses neuropathologies (Garey et al. 1998; Malenka & Bear 2004; Harrison & Weinberger 2005). De plus, des études montrent que la plasticité synaptique est altérée dans des modèles de maladies psychiatriques (Goto & Grace 2008). Notre étude est la première à décrire une altération de la plasticité des synapses GABAergiques inhibitrices (i-LTD) dans un modèle de maladie psychiatrique, à savoir l'isolement social post-sevrage chez le rongeur. Cette forme de plasticité décrite la première fois par Chiu et collaborateur en 2010, est dépendante de l'activité synergique des récepteurs à la dopamine de type D2-R et des récepteurs aux endocannabinoïdes (eCB) de type CB1-R (Chiu et al. 2010). Une activation des D2-R avec des faibles doses de quinpirole facilite l'activation de la signalisation eCB au niveau des synapses GABAergiques durant le déclenchement de la i-LTD. Des évidences indiquent que cette forme de plasticité mettrait en jeu des mécanismes présynaptiques; tout d'abords, les D2-R et CB1-R colocalisent aux niveaux des terminaisons axonales des neurones GABAergiques, de plus, les PPR eIPSC sont modifiés après le déclenchement de la i-LTD, et finalement, l'inhibition de la PKA ou la chélation du calcium dans le neurone postsynaptique n'affectent pas la i-LTD (Pickel et al. 2006; Chiu et al. 2010). En

outre, plusieurs études montrent que l'activation des CB1-R ou des D2-R dans le PFC ou dans d'autres aires néocorticales réduit l'efficacité de la transmission inhibitrice en réduisant la libération du GABA (Trettel & Levine 2002; Bodor et al. 2005; Hill et al. 2007; Galarreta et al. 2008; Retaux et al. 1991; Seamans et al. 2001). Toutefois, nos résultats de PPR ne sont pas en faveur d'une altération du processus de libération du GABA (Figure 2G de l'article n°4). L'abolition de la i-LTD chez les souris sauvages socialement isolées pourrait être due à une altération de la neuromodulation dopaminergique ou endocannabinoïde. En effet l'innervation dopaminergique du PFC est façonnée pendant l'adolescence ; elle augmente à la puberté avant de diminuer au stade adulte (Kalsbeek et al. 1988). De plus, le profil d'expression des D2-R et leur abondance dans le PFC se développent conjointement avec celle des CB1-R durant l'adolescence (Fitzgerald et al. 2013). Ces faits suggèrent que l'expression et/ou la distribution des récepteurs D2-R et CB1-R peuvent être influencées par l'environnement social des adolescents.

Une hypofonction de la transmission dopaminergique semble être présente dans le mPFC de rats adultes ayant subi un isolement social post-sevrage (Fabricius et al. 2010; Fabricius et al. 2011; Han et al. 2011; Peters et al. 2005). L'isolement social altère les profils de décharge des neurones dopaminergiques dans la VTA, principale source de dopamine du le mPFC (Fabricius et al. 2010; Euston et al. 2012). Le turnover de la dopamine et l'expression des D2-R sont également diminués dans le mPFC chez les rongeurs socialement isolés (Heidbreder et al. 2000; Fitzgerald et al. 2013). Cette hypofonction du système dopaminergique pourrait expliquer l'abolition de la i-LTD que nous avons observé. Des défauts similaires sont également observés dans d'autres modèles murins de schizophrénie, tels que les modèles de lésion de l'hippocampe ventral et le modèle inflammatoire d'injection de lipopolysaccharide (LPS) (Tseng et al. 2009; Feleder et al. 2010). L'isolement social et d'autres facteurs de stress altèrent la signalisation eCB dans le PFC. L'expression des gènes codant les CB1-R et d'autres protéines impliquées dans la signalisation eCB est altérée par l'isolement (Robinson et al. 2010). Une diminution de l'expression des récepteurs mGluR1 et mGluR5, impliqués dans la signalisation eCB, est observée dans le mPFC de rongeurs isolés (Melendez et al. 2004). D'autres études indiquent une augmentation de la quantité des agonistes endogènes des CB1-R, l'anandamide et 2-arachidonoylglycérol (2-AG) dans le PFC, ce qui peut conduire à une désensibilisation des CB1-R (Sciolino et al. 2010; Chanda et al. 2010). Les altérations de la signalisation eCB ont, en outre, été impliquée dans des maladies psychiatriques comme la schizophrénie (Fernandez-Espejo et al. 2009). De plus, l'abus de marijuana, qui exerce son effet psychoactif via les CB1-R, est considéré comme un facteur de risque à la schizophrénie (Semple et al. 2005).

Ainsi, il serait intéressant d'étudier plus en détails les mécanismes qui sous-tendent cette abolition de la iLTD chez les souris sauvages isolées, en déterminant si l'expression et l'activité des D2R, CB1 ou mGluR

sont diminuées, si leur distribution est changée, et en testant les différents composants des voies de signalisation que ces récepteurs activent.

#### **4. Altération de la mémoire de récence**

Une multitude de preuves obtenus en utilisant des techniques d'électrophysiologie, d'optogénétiques, d'imagerie optique et de génétique moléculaire conjointement avec des analyses comportementales appropriées soutiennent l'idée que le changement de la force des connexions entre les neurones, ou plasticité synaptique, est l'un des principaux mécanismes par lesquels les engrammes mnésiques sont stockées dans le cerveau (Takeuchi, Duzskiewicz, Morris, 2013). En vue de ces évidences, nous avons voulu savoir si les altérations de la transmission et de la plasticité synaptique dans le PFC de souris socialement isolées affectent les fonctions mnésiques dépendantes du PFC. Comme nous l'avons mentionné dans l'introduction, le PFC joue un rôle crucial dans la mémoire de l'ordre temporel (ou mémoire de récence) (Nelson AJ. et al., 2011 ; Akirav I. et Maroun M., 2006 ; M.C. Martinez, et al., 2014 ; Barker GR., Warburton EC., 2011a et 2011b). Nous avons démontré que l'isolement social post-sevrage altère la mémoire de récence (Figure 4H de l'article n°4).

Nos résultats indiquent que cette altération de mémoire de récence, n'est pas due à une altération de l'activité exploratoire ou locomotrice (Figure 4A-C de l'article n°4). De plus, nous n'avons observé aucune différence entre les souris socialisées et isolées sur la distance totale parcourue et le nombre total d'entrées dans tous les bras de l'EPM (données non montrées), confirmant ainsi l'absence de défauts exploratoire et locomoteur chez les souris ayant subi un isolement social post-sevrage observée dans les expériences d'open field. Ces résultats vont dans le sens des études qui démontrent que contrairement à plusieurs autres lignées de rats ou de souris, les souris C57BL/6J socialement isolés ne présentent pas une altération de l'activité locomotrice (Pietropaolo et al., 2008 ; Varty et al., 2006 ; Voikar et al., 2005 ; Gresack et al., 2010). Ceci est très probablement dû à un effet protecteur du fond génétique. Par ailleurs, nous avons observé une augmentation des comportements de type anxieux chez les souris socialement isolées (Figure 4E-G de l'article n°4). Ces résultats pourraient expliquer l'altération de la mémoire de récence observée chez les souris isolées ; en effet, plusieurs études indiquent que le stress affecte la plasticité synaptique et la mémoire de récence (Diamond et al., 1992 ; Groc et al., 2008 ; Krugers et al., 2010 ; van der Kooji et al., 2014 ; Yuen et al., 2012).

La mémoire de récence est une forme de mémoire épisodique dépendante du PFC ; toutefois, comme toute autre fonction mnésique ou cognitive, d'autres régions cérébrales sont indispensables au bon fonctionnement de ce type de mémoire. Des études ont montré qu'en plus des lésions du mPFC, des lésions touchant l'hippocampe et le cortex périrhinal altèrent la mémoire de récence dans le test d'ordre temporel

(Barker et al. 2007 ; Barker et Warburton, 2011). L'hippocampe est responsable du traitement des informations spatiales et contextuelles que le mPFC utilise dans la mémoire de récence. Plusieurs travaux indiquent que l'isolement social induit des changements morpho-fonctionnels dans l'hippocampe, en affectant le nombre de synapses, la transmission et la plasticité synaptique par exemple (Lu et al., 2003 ; Silva-Gomez et al., 2003 ; Ibi et al., 2008 ; Chang et al., 2014). Cependant, les données dans la littérature sont très contradictoires concernant l'impact de l'isolement social sur l'acquisition et la rétention des informations spatiales testé dans la piscine de Morris par exemple (Lapiz et al., 2003; Schrijver et al., 2004 ; Wongwitdecha et Marsden, 1996 ; Hellemans et al., 2004). Il est donc important d'étudier la mémoire spatiale dans nos conditions. A ma connaissance aucune donnée bibliographique ne montre une altération du cortex périrhinal. Comme je l'ai mentionné dans l'introduction, cortex périrhinal est impliqué dans la mémoire des objets familiers dont l'altération pourrait affecter négativement la mémoire de récence (Barker et al. 2007 ; Barker et Warburton, 2011). L'isolement social n'altère cette forme de mémoire que si le délai entre les deux sessions du test est supérieure à deux heures, suggérant ainsi que les défauts touchent plutôt le PFC que le cortex périrhinal (Lapiz et al., 2000 ; Bianchi et al., 2006 ; King et al., 2009 ; McLean et al., 2010 ; Marsden et al., 2011). Il serait intéressant de vérifier dans nos conditions si la mémoire de familiarité est altérée.

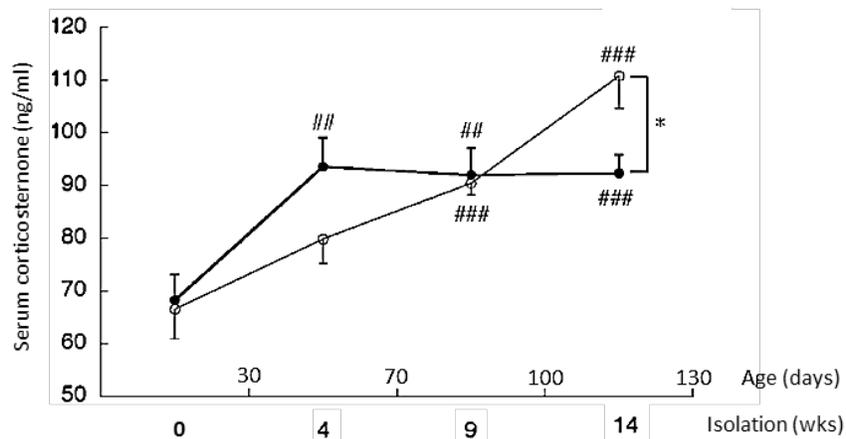
En conclusion, nous avons montré que l'isolement social altère une forme de mémoire épisodique dépendante du PFC, la mémoire de récence, et que ce déficit est corrélé à des altérations morpho-fonctionnelles des synapses du PFC et à des niveaux élevés d'anxiété. Notons que des altérations de la mémoire épisodique sont également observés chez des patients atteints de schizophrénie (Young et al., 2009 ; McClure et al., 2007 ; Nestor et al., 2007).

## **5. Augmentation des niveaux d'anxiété**

L'isolement social post-sevrage est considéré comme un modèle de stress chronique anxiogénique qui induit une réactivité anormale de l'axe HPA aux stimuli environnementaux (Einon & Morgan 1977; Hall 1998; Serra et al. 2007; Jodi L Lukkes et al. 2009). En effet, une augmentation des comportements de types anxieux chez les rongeurs isolés a été observée dans de nombreuses études (Parker and Morinan, 1986 ; Wright et al., 1991 ; Bickerdike et al., 1993 ; Hellemans et al., 2004 ; Kwak et al 2009; Bledsoe et al., 2011 ; Lukkes et al., 2012) (Parker & Morinan 1986; Wright et al. 1991; Bickerdike et al. 1993; Hellemans et al. 2004; Kwak et al. 2009; Bledsoe et al. 2011; Lukkes et al. 2012) . Dans l'article n°4, nous avons confirmé avec deux tests comportementaux (open-field et EPM) que l'isolement social augmente les niveaux d'anxiété chez les souris sauvages et HRM.

Comme déjà mentionné dans l'introduction, le mPFC et le PLC en particulier, exerce un contrôle top-down sur l'axe de stress HPA ; une dysfonction du PLC, comme celle observée dans notre étude, peut donc expliquer l'augmentation des niveaux d'anxiété chez les souris socialement isolées (Diorio et al. 1993; Figueiredo et al. 2003; Spencer et al. 2005; Radley et al. 2006; V. Vialou et al. 2014).

L'action de l'axe HPA dépend des hormones glucocorticoïdes (cortisol chez les humains et la plupart des mammifères, et corticostérone chez les rongeurs) qu'il libère dans la circulation sanguine. Plusieurs études indiquent que l'isolement social post-sevrage affecte les niveaux basaux de glucocorticoïdes (Figure 44).



**Figure 44 : Cinétique des taux de corticostérone dans le sérum.**

Les taux de corticostérone sont mesurés à différents âges chez des souris élevées en groupes sociaux (cercles blancs) et des souris ayant subi un isolement social post-sevrage (cercles noirs). Adapté de Chida et al., 2005

Dans les conditions normales, où les animaux sont sociabilisés, les niveaux de corticostérone sériques augmentent progressivement avec l'âge (Chida et al. 2005). Cependant, les taux de corticostérone évoluent différemment chez les rongeurs isolés à partir du sevrage. Durant la première heure d'isolement, correspondant à la phase aiguë de ce stress, les niveaux de cette hormone glucocorticoïde augmentent entre 5 et 15 minutes post-isolement, puis se stabilisent pendant 30 minutes, avant de revenir aux niveaux de base 90 minutes après le début de l'isolement (Ferland & Schrader 2011; Pournajafi-Nazarloo et al. 2011). Des mesures réalisées entre 4 jours et 4 semaines d'isolement, révèlent que les niveaux de corticostérone sont plus élevés chez les rongeurs isolés par rapport aux contrôles socialement groupés (Chida et al. 2005; Ruscio et al. 2007; Pournajafi-Nazarloo et al. 2011). Toutefois, par la suite, les taux corticostérone ne continuent pas à augmenter comme chez les contrôles (Chida et al. 2005). Par conséquent, entre 7 et 9 semaines d'isolement, les courbes des niveaux de corticostérone chez les rongeurs sociabilisés et isolés s'entrecroisent, ce qui fait que les études qui mesurent les taux de cette hormone de stress durant cette phase ne détectent aucune différence entre ces deux conditions (Weiss et al. 2004; Chida et al. 2005; Djordjevic et al. 2010; Garrido et al. 2013; Hawkley et al. 2012b; Zlatković & Filipović 2012; Zlatković et al. 2014;

Cacioppo et al. 2015b). Après cette phase, et du fait que les niveaux de corticostéroïdes dans le sérum continuent à augmenter chez les rongeurs socialisés mais pas chez les rongeurs isolés, les niveaux de corticostéroïdes chez les animaux socialement isolés sont significativement inférieurs à ceux des animaux témoins (Sánchez et al. 1998; Hermes et al. 2005; Chida et al. 2005; Serra et al. 2005; Weintraub et al. 2010; Hawkley et al. 2012b). L'ensemble de ces données bibliographiques suggèrent qu'une mesure des taux basaux de corticostéroïdes dans nos conditions expérimentales ne révélerait pas une différence entre les souris socialisées et isolées, car notre protocole d'isolement social post-sevrage dure huit semaines. Toutefois, il est très important de vérifier cette hypothèse dans nos conditions.

Des recherches scientifiques ont démontré un effet potentialisant de l'isolement social sur les réponses au stress aigu, et ce en utilisant des facteurs tels que l'immobilisation, le froid, le sursaut acoustique et le choc électrique plantaire (par exemple, Norman et al. 2010). Conformément au concept d'amorçage de la réponse de l'axe HPA par l'isolement chronique, les taux de corticostéroïdes suite à un stress aigu sont plus importants chez les souris, les rats et les hamsters soumis à un isolement social post-sevrage à long terme (21 jours à 18 semaines) par rapport aux animaux contrôles élevés en groupe (Detillion et al. 2004; Dronjak et al. 2004; Weiss et al. 2004; Hermes et al. 2005; Grippo et al. 2007; Grippo et al.; Jodi L Lukkes et al. 2009; Williams et al. 2009; Weintraub et al. 2010; Bledsoe et al. 2011; Ferland & Schrader 2011; Toth et al. 2011; Cacioppo et al. 2015b). L'effet exagéré du stress aigu sur l'activité HPA chez les animaux socialement isolés a des implications sur les processus régulés par les glucocorticoïdes. Par exemple, les réponses de corticostéroïde à un stress aigu chez les rongeurs socialement isolés affectent l'activité neuronale. En effet, courir induit chez les rats groupés une neurogenèse hippocampique, alors qu'il inhibe ce phénomène chez les rats socialement isolés. Cet effet semble être lié aux plus grandes réponses de corticostéroïde déclenchées par le stress supplémentaire de la manipulation par l'expérimentateur chez les rats isolés (Stranahan et al. 2006). L'augmentation des niveaux d'anxiété et l'altération de la mémoire de récence observées dans notre étude pourraient donc être dues à, ou exacerbées par, une plus grande réactivité des souris isolées au stress de la manipulation par l'expérimentateur juste avant les tests comportementaux (Sorge et al. 2014). Un moyen de tester cette hypothèse aurait pu être d'habituer les souris à l'expérimentateur par des manipulations quotidiennes de quelques minutes, quelques semaines avant le début des expérimentations (Hirsjärvi et al. 1990; Dewsbury 1992; Deacon 2006; Meijer et al. 2007), mais il a été suggéré qu'une manipulation excessive par l'expérimentateur peut annuler les effets de l'isolement social (K C F Fone & Porkess 2008). Toutefois, nous pouvons conclure que l'ensemble de ces données indiquent que l'isolement social affecte le circuit du stress et la réactivité des animaux aux stimuli environnementaux anxiogènes.

Il est intéressant de noter que des résultats similaires sont observés chez les humains et chez une grande variété d'espèces mammifères. Par exemple, il a été montré que l'isolement social exacerbe l'augmentation des niveaux de cortisol après un stress aigu chez les grands mammifères domestiques tels que les porcs et les bovins (Creel & Albright 1988; Kanitz et al. 2009). Concernant l'effet aigu de l'isolement social durant les premières heures, les niveaux de cortisol chez les bovins et les ovins suivent une dynamique temporelle similaire à celle des taux de corticostérone chez les rongeurs (Parrott et al. 1988; Rushen et al. 1999). De plus, chez les primates non humains, l'isolement aigu ou chronique affecte les niveaux basaux de cortisol. Ceci a été montré chez des macaques rhésus, des bonobos et différentes espèces de ouistiti, isolés durant 15 min, 11 heures, 4 jours, 6 semaines et 20 semaines (Higley et al. 1992; Lyons et al. 1995; Sapolsky et al. 1997; Smith & French 1997; Lyons et al. 1999; Cross et al. 2004). Chez les humains, des études réalisées chez des individus socialement inactifs ou qui ont peu de personnes proches dans leur réseau social, démontrent que les taux de cortisol sont augmentés par l'isolement social ou par le sentiment chronique de solitude (Arnetz et al. 1983; Cacioppo et al. 2000; Steptoe et al. 2004; Pressman et al. 2005; Grant et al. 2009; Doane & Adam 2010). Une étude récente a démontré qu'après un stress psychologique aigu, des patients schizophrènes ont présenté une plus grande élévation des niveaux de cortisol salivaires par rapport aux contrôles (Nugent et al. 2015). En 2010, Andrew J. Bradley et Timothy G. Dinan ont publié une méta-analyse de 77 études portant sur les mesures des niveaux de base de cortisol sur un total de 1928 patients schizophrènes et 1699 individus sains (Bradley & Dinan 2010). L'analyse de toutes ces études a révélé que par rapport aux contrôles, les patients schizophrènes présentent des niveaux basaux de cortisol significativement plus élevés dans 44,2% des cas, pas différents dans 57,1% des cas et significativement plus faibles dans 5,2% des cas. Les niveaux élevés de cortisol sont principalement rapportés dans les études incluant des patients avec une psychose aiguë (Albus et al. 1982; Gil-Ad et al. 1986; Whalley et al. 1989a; Whalley et al. 1989b; Muck-Seler et al. 2004), chez les patients décrits comme étant plus stables (Breier & Buchanan 1992; Gallagher et al. 2007; Yilmaz et al. 2007) et chez les patients présentant des symptômes négatifs importants et une absence de symptômes positifs (Altamura et al., 1989 ; Shirayama et al., 2002). Ces études démontrent que les niveaux de cortisol chez les patients atteints de schizophrénie varient selon les phases, la sévérité et les types de symptômes de la maladie. L'ensemble de ces données démontre la pertinence de l'isolement social post-sevrage comme modèle murin de schizophrénie et suggère une grande implication du stress dans l'étiologie de ce trouble psychiatrique.

### III. Interaction isolement social et haploinsuffisance en reelin

Tout comme les affections neurologiques ou métaboliques, les troubles psychiatriques semblent résulter d'interactions entre un terrain de susceptibilité, génétiquement déterminé, et des facteurs de l'environnement. Du fait de ces interactions, il est souvent difficile de dissocier les effets dus aux altérations génétiques de ceux déclenchés par des atteintes environnementales. Le discernement des effets génétiques et environnementaux est d'autant plus difficile que ces facteurs peuvent agir de manière synergique ou antagoniste. Dans nos études (n°1 à 4), l'utilisation de trois modèles de maladies psychiatriques : génétique, environnemental et d'interaction gène-environnement, nous a permis d'aborder cette question pour deux facteurs de risques à ces maladies, à savoir : l'haplo-insuffisance en reelin (d'origine génétique) et l'isolement social (un stress environnemental). Comme je l'ai mentionné dans l'introduction, plusieurs évidences suggèrent que le gène codant la reelin est impliqué dans l'étiologie de maladies psychiatriques (Impagnatiello et al. 1998; Fatemi 2001b; Fatemi et al. 2002) . De par son profil d'expression spatiotemporel et son rôle dans la construction et le fonctionnement de plusieurs régions du cerveau tel que le PFC, il est tout à fait logique que des altérations de l'expression ou de la fonction de la reelin soient liées à ces synapthopathies. En parallèle, des perturbations de l'environnement psychosocial, modifient le cerveau et déclenchent des troubles mentaux. Un isolement social ou un comportement de retrait social, particulièrement durant l'enfance et l'adolescence, sont associés à des maladies psychiatriques telles que la schizophrénie et la dépression (Arrigo & Bullock 2008; Matheson et al. 2013). Des données bibliographiques suggèrent que les atteintes environnementales ont d'autant plus d'effets lorsqu'elles surviennent chez des individus avec une vulnérabilité génétique (Tsuang & Faraone 2000; C. Jones et al. 2011). De plus, l'exposition à un événement extérieur stressant semble exacerber les défauts d'une vulnérabilité génétique préexistante (Jaffee et al. 2009). Nos résultats présentés dans les articles n°1 et 2, suggèrent l'existence chez les souris HRM d'une période de vulnérabilité étendue. D'autres études indiquent une interaction bidirectionnelle entre les niveaux de reelin et les interactions sociales. Les souris HRM présentent des altérations du comportement social (Podhorna & Didriksen 2004) et la modulation de l'expression de la reelin chez des souris sauvages par hyperméthylation du promoteur du gène reelin réduit la durée des interactions sociales (Tremolizzo et al. 2005). Par ailleurs, l'isolement social post-sevrage affecte les taux de reelin dans le PFC ( a W. Cassidy et al. 2010). L'ensemble de ces données nous a conduit à examiner si les effets d'un stress environnemental tel que l'isolement social interagissent avec ceux de l'haplo-insuffisance en reelin d'origine génétique.

Un grand nombre des défauts observés chez les souris HRM socialement isolées dans notre étude, sont uniquement dus à l'isolement social. En effet, la diminution de la densité d'épines dendritiques et du ratio AMPA/NMDA, l'augmentation des niveaux d'anxiété et l'altération de la mémoire de récentes sont

similaires chez les souris sauvages et HRM socialement isolées. Ces données suggèrent peu ou pas d'interaction entre la reelin et l'environnement social sur ces paramètres.

En comparaison aux souris sauvages socialisées, les souris HRM isolées présentent une diminution du transfert de charge des courants GABA et aucune altération de la transmission glutamatergique médiée par les AMPAR (Figure 2C,D de l'article n°4). Ainsi, l'augmentation du ratio excitation/inhibition chez les souris HRM isolées par rapport aux contrôles sauvages socialisées est due à une diminution de la transmission GABAergique (Figure 2C de l'article n°4). De manière intéressante, cette diminution de l'efficacité de la transmission synaptique GABAergique observée chez les souris HRM isolées pourrait être due uniquement à une baisse des taux de reelin. En effet, cette réduction de la charge des spIPSC-GABA est similaire à celle observée chez les souris HRM socialement groupées. Toutefois, les souris sauvages isolées présentent également une diminution de la charge des spIPSC-GABA. Ce dernier résultat pourrait être expliqué par une baisse des taux de reelin suite à l'isolement social ; en effet, comme mentionné dans l'introduction (Figure 19), il a été montré qu'un isolement social de huit semaines réduit les taux de reelin dans le PFC (Cassidy et al. 2010). Nos données suggèrent donc qu'en dessous d'un certain taux de reelin au stade adulte, la transmission GABAergique est réduite. Cette hypothèse peut être vérifiée par exemple, par l'isolement social de souris transgéniques conditionnelles surexprimant la reelin (Pujadas et al. 2010). Une mesure des taux de reelin dans nos conditions semble également nécessaire à la validation de cette hypothèse.

Les résultats présentés dans l'article n°4 montrent que la LTP NMDA-dépendante déclenchée par un protocole de TBS est abolie dans le PFC de souris HRM ayant subi un isolement social post-sevrage de huit semaines (Figure 3E,F de l'article n°4). Comme dans nos études précédentes (Figure 2a de l'article n°1 ; Figure 1b et 1c de l'article n°2), ce défaut est corrélé à une réduction du nombre d'épines dendritiques (Figure 1b de l'article n°1 ; Figure 2 de l'article n°2 ; Figure 1C de l'article n°4) et une diminution du ratio AMPA/NMDA (Figure 3a l'article n°2 ; Figure 1A de l'article n°4). Etant donné que la transmission médiée par les récepteurs AMPAR n'est pas altérée chez les souris HRM isolées, la diminution du ratio AMPA/NMDA observée chez ses souris ne peut être due qu'à une augmentation de la charge de transfert des courants de type NMDA. L'abolition de la LTP NMDA-dépendante chez les souris HRM juvénile est, comme mentionné précédemment, également corrélée à une augmentation la transmission médiée par les NMDAR (Figure 3d l'article n°2). Ainsi, comme chez les souris HRM juvéniles, l'altération de la LTP chez les souris HRM isolées pourrait être due à un phénomène d'occlusion dû à une saturation des NMDAR ; toutefois, ceci reste à déterminer. Les souris sauvages isolées présentent également une diminution de la densité des épines dendritiques et du ratio AMPA/NMDA mais la LTP NMDA-dépendante est intacte chez ces animaux (Figure 3D,F de l'article n°4). L'abolition de cette forme de plasticité chez les souris HRM

isolées mais pas les souris sauvages isolées pourrait être liée au fait que contrairement qu'à ces dernières, les souris HRM isolées ne présentent pas une augmentation des courants AMPA (Figure 2D de l'article n°4).

De manière intéressante, les défauts morpho-fonctionnels des synapses glutaminergiques des neurones pyramidaux de la couche V du PFC des souris HRM isolées sont similaires aux altérations que présentent les mêmes synapses chez les souris HRM juvéniles. L'ensemble de ces données suggère que l'augmentation de l'intensité des interactions sociales entre le sevrage et la fin de l'adolescence (Panksepp 1981) permettait aux souris HRM socialisés de corriger les défauts morpho-fonctionnels des synapses glutaminergiques du PFC qu'elles présentaient au stade juvénile, expliquant ainsi l'absence de défauts majeurs au niveau de ces synapses chez les souris HRM au stade adulte.

Nous avons observés que l'interaction de l'haplo-insuffisance en reelin et de l'isolement social produisait un effet comportemental que ces deux atteintes ne produisent pas séparément, à savoir une augmentation du comportement de toilettage (grooming) (Figure 4D de l'article n°4). Le toilettage est décrit comme un schéma d'actions très stéréotypées et extrêmement similaires entre individus d'une même espèce (Gardner 1988). Les comportements de toilettage sont importants pour l'adaptation et la survie et sont hautement ubiquitaires dans le règne animal. En effet ils sont observés chez des mammifères, des oiseaux et des insectes, et sont de ce fait, probablement très anciens d'un point de vue évolutif (Sachs 1988; American Psychiatric Association; 2000). Le siège de ce comportement est localisé dans une structure cérébrale phylogénétiquement ancienne, le tronc cérébral. Des expériences de décérébration progressives ont fourni la preuve que le tronc cérébral est nécessaire et suffisant pour générer la séquence motrice de toilettage (Cromwell & Berridge 1996; Berridge 1989). Toutefois, le toilettage est un comportement complexe qui peut être régulé par différents systèmes de neurotransmetteurs (Stam et al. 1989; Daly & Waddington 1993; Deveney & Waddington 1995; Deveney & Waddington 1997) et par plusieurs structures cérébrales telles que l'hippocampe, la VTA, le cervelet, le striatum et le PFC (Isaacson 1984; Berntson et al. 1988; Stam et al. 1989; Wachtel et al. 1992; Berridge & Whishaw 1992; Tzschentke & Schmidt 1998; Strazielle & Lalonde 1998; Vittoz & Berridge 2006). Chez les rats adultes, la lésion de l'hippocampe réduit le toilettage (Nyakas et al. 1983). La diminution des comportements de toilettage chez les animaux ayant subi des lésions de l'hippocampe peut être annulée ou compensée par des lésions néonatales du PFC (Flores et al. 2005). La lésion du PFC chez les rats adultes produit une augmentation des comportements de toilettage (Tzschentke & Schmidt 1998). Un toilettage excessif est considéré comme un comportement compulsif et est reporté dans des modèles de maladies psychiatriques et chez des patients atteints de troubles mentaux (Feusner et al. 2010). Le PFC, et le PLC en particulier est crucial pour le contrôle cognitif inhibiteur des comportements compulsifs (Chudasama & Robbins 2004). Les comportements compulsifs sont principalement associés à une neurophysiologie anormale des structures corticales préfrontales

(Ridderinkhof et al. 2002). Ainsi, les altérations synaptiques que nous avons observées dans le PFC des souris HRM isolées pourraient être impliquées dans l'augmentation de la fréquence de ce comportement stéréotypé. Etant donné que les souris HRM isolées et les souris HRM juvéniles présentent des défauts similaires au niveau des synapses glutamatergiques du PFC, il serait intéressant d'étudier le comportement de toilettage chez les souris HRM juvéniles. Il serait également intéressant d'examiner l'effet du RU486 sur ce défaut comportemental.

## IV. Pharmacothérapies

Afin de corriger les défauts observés chez les souris HRM juvéniles et HRM isolées nous avons testé deux approches pharmacothérapeutiques qui consistent en une injection unique de kétamine, un antagoniste NMDAR, ou de RU486, un antagoniste des récepteurs aux glucocorticoïdes.

### 1. Kétamine, Reelin et mTOR :

La première constatation du rôle des récepteurs NMDA dans la dépression, fut observée en 1959 lors du traitement à base de cycloserine, un agoniste partiel du site glycine des NMDAR, de patients atteint de tuberculose montrant des signes de dépression dont l'humeur était ensuite améliorée (pour revue Zunszain et al. 2013). Depuis, plusieurs pharmacothérapies ciblant les NMDAR ont été envisagée dans diverses pathologies (Figure 75).

Les traitements antidépresseurs ont le désavantage d'agir avec un certain délai et une proportion non négligeable de patients sont résistants à ces traitements (Crupi et al. 2011). En 2000, une injection unique de kétamine à faible dose chez des patients atteint de dépression montra pour la première fois un effet antidépresseur rapide et durable (Berman et al. 2000). Depuis, les mécanismes d'action de cette drogue ont été étudiés pour comprendre son mode d'action au niveau synaptique.

Disease indications	Key NMDAR-subunit related alterations	Therapeutic treatments
Depression	Inhibitors of NMDARs, in particular GluN2B-containing receptors, induce rapid (hours) and sustained (days) reduction in depressive symptoms	NMDAR antagonists (ketamine) or GluN2B-selective antagonists
Autism spectrum disorders	Either reduced or enhanced NMDAR function is implicated. Mechanisms are unclear and there is no clear subunit specificity	Potential interest for NMDAR antagonists or NMDAR potentiators
Schizophrenia	Reduced NMDAR presence and/or activity, probably in GABAergic inhibitory neurons, which leads to an imbalance in neural network activity. Suggestions for a preferential loss of GluN2A-containing receptors	<ul style="list-style-type: none"><li>• NMDAR potentiators</li><li>• D-serine, glycine and glycine transporter 1 inhibitors</li><li>• Potential interest for GluN2A-selective potentiators</li></ul>

Figure 45: Contribution des sous-unités NMDAR et traitement thérapeutique dans certaines pathologies. Modifié de Paoletti et al, 2013.

Il a été montré qu'une injection de kétamine à dose sous anesthésique par voie intrapéritonéale augmente le taux de glutamate extracellulaire dans le PFC de rat à partir de 40 min après l'injection jusqu'à 100 min (Moghaddam et al. 1997). De plus, l'incubation de kétamine sur des tranches d'hippocampe durant 30 min augmente rapidement la transmission synaptique basale (Autry et al. 2011). La kétamine est un antagoniste

NMDAR mais son effet antidépresseur nécessiterait aussi les récepteur AMPA (Li et al. 2010b). L'effet de la kétamine s'effectue aussi via la synthèse protéique car l'effet antidépresseur est inhibé en présence d'anisomycine (Autry et al. 2011). On peut donc distinguer un effet aigu et un effet prolongé de la kétamine.

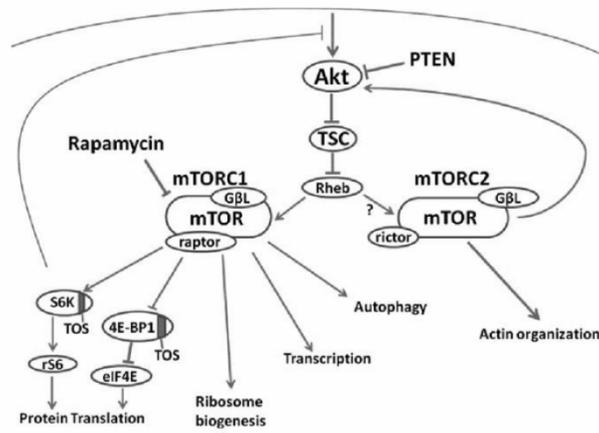
La kétamine et d'autres antagonistes NMDAR altère la mémoire de travail, induit des psychoses et à forte dose un état anesthésique. Cet effet aigu des antagonistes NMDAR a été utilisé pour développer des modèles de psychoses et tester l'efficacité d'antipsychotiques (Farber 2003). Une fois la kétamine métabolisée, un effet antidépresseur est observée durant plusieurs jours (Autry et al. 2011; Li et al. 2010). En effet, l'injection de kétamine induit premièrement une activation rapide et transitoire de mTOR puis une expression de protéines synaptiques telles que synaptophysin, PD95, et GluR1 corrélée à une augmentation des épines dendritiques après 24h (Li et al. 2010).

L'exposition chronique à un stress imprévisible chez le rongeur reproduit certaines caractéristiques morphologiques observées chez les patients atteints dépression ainsi qu'une anhédonie et une résignation dans le test de nage forcé (Hill et al. 2012). Une injection unique de kétamine dans ce modèle de dépression chez les rongeurs est capable de restaurer la diminution du nombre d'épines au niveau des dendrites apicaux des neurones de la couche V du PFC (Li et al, 2010), ainsi que la diminution d'épines dendritiques et la LTP dans un notre modèle insuffisant pour la protéine reelin (Article n°1). De plus, l'injection de kétamine permettrait d'augmenter l'expression des récepteurs AMPA à la synapse (Tizabi et al. 2012; Iafrati et al. 2014). Une majorité des effets antidépresseurs de la kétamine sont dépendant de la voie mTOR. Quel est donc le rôle de la voie mTOR et quel est l'impact de sa perturbation?

L'interaction de mTOR avec différentes protéines forme deux complexes multiprotéiques appelés mTORC1 et mTORC2 dont la régulation dépend de phosphorylations effectuées sur des domaines répresseurs, ainsi que des interactions protéine-protéine nécessaire à l'assemblage des complexes et à leur fonctionnement (pour revue Laplante & Sabatini 2009). Les fonctions de ces deux complexes peuvent être dissociées par l'inhibition sélective du complexe 1 par la rapamycine. mTORC1 intervient majoritairement dans la régulation de la traduction, dans la croissance et le métabolisme alors que mTORC2, insensible à la rapamycine, intervient préférentiellement dans l'organisation du cytosquelette (Figure 77) (Jacinto et al. 2004; Huang et al. 2013).

Dans le SNC, mTOR est présent au niveau synaptique (Tang & Schuman 2002) et son activité est notamment influencée par certains récepteurs membranaires tels que les récepteurs ionotropiques au glutamate de type NMDA, les récepteurs métabotropiques au glutamate, les récepteurs au Bdnf et à la dopamine qui partage tous une voie de signalisation commune via PI3K, PDK1 et Akt (Hoeffler & Klann 2010). L'activation de cette voie induit une inhibition du complexe Tsc1/2 (Figure 77) (tuberous sclerosis

complex proteins) qui inhibe en état basal mTOR et mène donc à une désinhibition de mTOR (Figure 77). De ce fait, mTOR est régulé par différents neurotransmetteurs et par divers stimuli extérieurs (pour revue, voir Hoeffler & Klann 2010).



**Figure 46: Représentation schématique simplifiée de la voie mTOR.** D'après Dobashi et al 2011.

La dérégulation de la voie mTOR a été impliquée dans de multiples pathologies humaines et notamment certaines maladies neurodéveloppementales (Hoeffler et Klann, 2009). Des mutations monogéniques impliquées dans les troubles du spectre autistique induisent fréquemment une dérégulation en amont ou en aval de mTOR (Hoeffler et Klann, 2009). Par exemple, une altération de la protéine phosphatase PTEN inhibant normalement la voie PI3K/AKT/mTOR a été retrouvée dans un faible pourcentage de patients autistiques. De nombreux patients atteints de sclérose tubéreuse de Bourneville due à une mutation pour Tsc1 ou Tsc2 (tuberous sclerosis complex) présentent un retard mental et des traits communs avec les troubles autistiques. De plus, la mutation de la protéine FMRP induisant le syndrome du X fragile chez l'homme, semble favoriser l'activité de mTOR (pour revue Wang et al. 2012). Ces données suggèrent que la dérégulation de la signalisation mTOR pourrait être une caractéristique moléculaire commune dans les troubles du spectre autistique. De plus, une hypofonction de la voie mTOR a été observée chez des patients atteints de dépression majeure (Jernigan et al. 2011). Est-ce qu'une insuffisance en protéine reelin observée dans certaines pathologies psychiatriques et neurodéveloppementales pourraient conduire à réguler négativement la voie mTOR ?

Plusieurs évidences permettent de suggérer une relation entre l'insuffisance en reelin et la perturbation de la voie mTOR. Tout d'abord, la voie de signalisation en aval de reelin est similaire à la voie d'activation de mTOR qui s'effectue via PI3K/Akt. En effet, la reelin pourrait activer les complexes mTOR notamment par l'activation d'Akt qui stimule mTOR en inhibant son principal inhibiteur TSC1/2 mais aussi par d'autres

voies intracellulaires telles que Rheb (Ras homolog enriched in brain), Rho et Rac (Jossin et al. 2007). De plus, deux études *in vitro* ont montré que la supplémentation en reelin sur des neurones d'hippocampe et de cortex en culture induisent une phosphorylation de mTOR (Jossin et al. 2007; Ventruti et al. 2011a). Il serait intéressant d'examiner la phosphorylation de mTOR chez les HRM en condition basale ainsi qu'après l'exécution d'une tâche comportementale ou l'injection de kétamine.

A partir de nos résultats, nous avons ciblé les principales perturbations observées chez les HRM pour élaborer une stratégie thérapeutique. L'augmentation de l'amplitude des courants de type NMDA, la diminution du ratio AMPA/NMDA et l'abolition de la LTP dépendante des NMDAR, nous ont conduit à tester différents modulateurs des récepteurs NMDA et notamment certains antagonistes NMDAR qui semblaient appropriés pour restaurer ces déficits. De plus, la kétamine est utilisée couramment en médecine comme anesthésique et peut favoriser la synaptogenèse (De Roo et al. 2009). Or, les HRM présentent aussi une réduction de la densité des épines dendritiques dans le PFC.

Nous avons montré qu'une injection unique d'une dose anesthésique de kétamine induit une robuste LTP (Figure 3c de l'article n°1) ainsi qu'une forte augmentation de l'amplitude des courant AMPA (Figure 3b de l'article n°1) et une restauration de la densité des épines dendritiques chez les animaux HRM (Figure 3a de l'article n°1). L'effet de la kétamine sur la LTP est d'autant plus remarquable que cette plasticité est complètement abolie chez les HRM contrôles et que la potentialisation est supérieure à celle des animaux sauvages. L'augmentation de la LTP par la kétamine est spécifique aux animaux HRM, aucune modification de la potentialisation n'est observé après injection de kétamine ou de rapamycine chez les animaux sauvages (Figure supplémentaire 4 de l'article n°1). Ces données suggèrent que l'activation de la voie mTOR durant cette période de développement permet de restaurer de façon spécifique les déficits synaptiques mais aussi comportementaux des animaux HRM (Figure 4 et 6 de l'article n°1). Les effets sur la LTP et les courants AMPA induit par la kétamine sont inhibés par l'injection préalable de rapamycine indiquant que la voie mTOR est recrutée. Cependant, l'augmentation de la densité des épines induite par la kétamine n'est pas inhibée par la rapamycine, on peut donc suggérer que l'injection de kétamine induit des réarrangements du cytosquelette qui sont indépendant de mTORC1 et pourrait s'effectuer par mTORC2 (Jacinto et al. 2004; Huang et al. 2013). Après l'injection de kétamine, l'augmentation du nombre d'épines dendritiques est corrélée à une augmentation de l'amplitude des courant de type AMPA sans modification de la fréquence des événements spontanés (Figure supplémentaire 2 de l'article n°1). Un phénomène similaire est observé lors de la formation de nouvelles épines sur des boutons présynaptiques existants et préalablement connectés (Knott et al. 2006). Ces données pourraient s'expliquer par des changements post-synaptiques spécifiques sur les AMPAR et la densité des épines. Une hypothèse serait la formation d'épines dendritiques qui connecteraient des synapses préalablement établies induisant des contacts dendritiques

multiplés sur le même bouton axonal. Ce phénomène a été observé à l'échelle de la synapse individuelle après stimulation induisant une potentialisation, la formation de double contacts dendritiques sur le même bouton axonal est favorisée (Toni et al. 1999; Harvey & Svoboda 2007). Au-delà d'un certain seuil de libération de glutamate, l'activation d'une épine fonctionnelle va induire une dynamique locale favorisant la plasticité morphologique d'épines adjacentes (Harvey & Svoboda 2007).

## **2. RU486, Reelin et isolement social**

Comme je l'ai mentionné précédemment, l'isolement social post-sevrage chez les rongeurs est considéré comme un modèle de stress chronique, qui altère les niveaux de l'hormone de stress, la corticostérone, et qui augmente la réactivité de l'axe HPA aux stress aigus (Einon & Morgan 1977; Hall 1998; Serra et al. 2008; Jodi L Lukkes et al. 2009; Norman et al. 2010; Hawkley et al. 2012b). Nous avons donc voulu savoir si les altérations de la plasticité synaptique et de la mémoire de récence observées chez les souris HRM isolées étaient liées à l'augmentation des niveaux d'anxiété et si elles impliquées des mécanismes dépendants des hormones de stress. Pour ce faire nous avons utilisé un inhibiteur des récepteurs aux glucocorticoïdes (GR), le RU486. Nos résultats montrent qu'une injection unique en sous-cutanée de RU486 24h avant les expérimentations restaure la LTP-NMDA-dépendante et la mémoire de récence (Figure 5 de l'article n°4). Ces résultats suggèrent que ces déficits sont liés à une altération de l'action du circuit du stress chez les souris HRM isolées.

Une étude récente a montré que l'isolement social induit une abolition de LTP dans l'hippocampe. Cette altération de la plasticité synaptique était corrélée à une augmentation des niveaux de corticostérone et le blocage des GR avec le RU486 a restauré ce déficit. Les auteurs ont démontré qu'une augmentation des taux de corticostérone reproduit l'altération de la LTP observée chez les souris socialement isolées. De manière intéressante, cette étude décrit une réduction de la LTP dépendante du fond génétique ; en effet, la réduction de la LTP était plus importante chez les souris isolées de la souche A/J en comparaison aux souris isolées C57BL/6J (Kamal et al. 2014). Ceci va dans le sens dans nos résultats indiquant une abolition de la LTP chez les souris HRM isolées mais chez les souris sauvages isolées (Figure 3D-F de l'article n°4). D'autres études ont montré qu'un stress aigu ou chronique abolie la LTP dans l'hippocampe et que le blocage des GR avec des RU486 a restaure ce déficit (Foy et al. 1987; Shors et al. 1989; Diamond & Goldman-Rakic 1989; Kim et al. 1996; Alfarez et al. 2002; Yang et al. 2004; Krugers et al. 2006). Un processus similaire peut sous-tendre l'abolition de la LTP dans le PFC que nous avons observé dans notre étude. La plasticité synaptique est un modèle cellulaire majeur pour les processus d'apprentissage et de mémoire (Collingridge & Bliss 1995). Par ailleurs, il a été reporté qu'un stress prolongé réduit les capacités mnésiques et cognitives à la fois chez les modèles animaux et chez l'Homme (Dachir et al. 1993; Luine et al. 1993; Bodnoff et al. 1995; Conrad et al. 1996; Krugers et al. 1997; Lupien & Lepage 2001; Conrad et al.

2001). Ainsi, une abolition de la LTP, comme celle observée chez les souris HRM isolées dans notre étude, peut être à la base de l'altération de la mémoire de récence. Toutefois, il reste à déterminer si l'altération de la transmission synaptique, la densité des épines, des niveaux d'anxiété et du comportement de toilettage sont restaurés par le traitement au RU486. Il serait également intéressant de déterminer l'effet du RU486 sur les défauts observés chez les souris sauvages isolées. Notre équipe a déjà entamé des expériences dans le but de répondre à ces questions.

Un mécanisme par lequel le stress peut altérer les processus de plasticité et de mémoire à long terme est peut être une réduction des taux de reelin. En effet, plusieurs études indiquent que l'augmentation des taux de corticostéroïdes induit une diminution dose-dépendante des taux de reelin dans le PFC et l'hippocampe de manière similaire chez les souris sauvages et HRM (Lussier et al. 2011; Buret & van den Buuse 2014; Romay-Tallon et al. 2015). Le blocage des GR par le RU486 pourrait donc prévenir les effets néfastes de la baisse des taux de reelin induite par le stress de l'isolement social.

# CONCLUSION

Mon travail de thèse a permis de décrire le phénotype de trois modèles de maladies psychiatriques : l'haploinsuffisance en reelin, d'origine génétique, l'isolement social de souris sauvages, un stress environnemental, et l'isolement social de souris haploinsuffisantes en reelin, un modèle d'interaction gène x environnement. Nous avons identifié à l'âge adulte des défauts spécifiquement dus à l'haploinsuffisance en reelin ou à l'isolement social, et d'autres dus à l'interaction de ces deux atteintes. Mon travail de thèse montre que les souris haploinsuffisantes en reelin et les souris sauvages ayant subi le stress d'un isolement social présentent des défauts de maturation morpho-fonctionnelle des circuits glutamatergiques et GABAergiques du PFC. Ces dysfonctionnements synaptiques sont corrélés à des altérations de la mémoire de peur ou de la mémoire de récence. D'autre part, nous avons montré que des taux réduits de reelin aggravent les effets néfastes de l'isolement social. La caractérisation des défauts synaptiques et comportementaux dus à l'haploinsuffisance en reelin ou à l'isolement social nous a permis de proposer des pistes thérapeutiques. Nous avons montré qu'un traitement aigu à l'aide d'antagonistes des récepteurs de type NMDA au stade juvénile ou d'antagoniste des récepteurs glucocorticoïdes au stade adulte réparent les dysfonctionnements structuraux, fonctionnels et comportementaux. L'ensemble de mes travaux renforce le lien entre le gène reelin, l'environnement social et l'étiologie de certaines maladies psychiatriques, et ouvrent ainsi des perspectives sur la compréhension de la physiopathologie de ces maladies et leur traitement.

En guise de conclusion, citons le psychologue William Greenough : « se demander ce qui est le plus important, l'inné ou l'acquis, revient à se demander ce qui est plus important dans un rectangle, sa longueur ou sa largeur » (« To ask what's more important, nature or nurture, is like asking what's more important to a rectangle, its length or its width »).

# BIBLIOGRAPHIE

- Adam, E.K. et al., 2006. Day-to-day dynamics of experience--cortisol associations in a population-based sample of older adults. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(45), pp.17058–63. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1636578&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 15, 2015].
- Advani, T., Hensler, J.G. & Koek, W., 2007. Effect of early rearing conditions on alcohol drinking and 5-HT1A receptor function in C57BL/6J mice. *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, 10(5), pp.595–607. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17134528> [Accessed November 16, 2015].
- van Aerde, K.I. & Feldmeyer, D., 2015. Morphological and physiological characterization of pyramidal neuron subtypes in rat medial prefrontal cortex. *Cerebral cortex*, 25(3), pp.788–805. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24108807>.
- Afonso, V.M. et al., 2007. Medial prefrontal cortex lesions in the female rat affect sexual and maternal behavior and their sequential organization. *Behavioral neuroscience*, 121(3), pp.515–526. Available at: <http://dx.doi.org/10.1037/0735-7044.121.3.515>.
- Aggleton, J.P. et al., 1997. Extensive cytotoxic lesions involving both the rhinal cortices and area TE impair recognition but spare spatial alternation in the rat. *Brain research bulletin*, 43(3), pp.279–87. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9227838> [Accessed November 15, 2015].
- Agmo, A. et al., 1995. Lesions of the medial prefrontal cortex and sexual behavior in the male rat. *Brain research*, 696(1-2), pp.177–86. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8574667> [Accessed November 15, 2015].
- Agmo, A. & Villalpando, A., 1995. Central nervous stimulants facilitate sexual behavior in male rats with medial prefrontal cortex lesions. *Brain research*, 696(1-2), pp.187–93. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8574668> [Accessed November 15, 2015].
- Akana, S.F. et al., 1992. Feedback and facilitation in the adrenocortical system: unmasking facilitation by partial inhibition of the glucocorticoid response to prior stress. *Endocrinology*, 131(1), pp.57–68. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1319329> [Accessed November 16, 2015].
- Akirav, I. et al., 2004. A Facilitative Role for Corticosterone in the Acquisition of a Spatial Task Under Moderate Stress. *Learning & Memory*, 11(2), pp.188–195. Available at: <http://dx.doi.org/10.1101/lm.61704>.
- Akirav, I. & Maroun, M., 2006. Ventromedial prefrontal cortex is obligatory for consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 16(12), pp.1759–65. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16421330> [Accessed November 14, 2015].
- Albus, M. et al., 1982. Situational reactivity of autonomic functions in schizophrenic patients. *Psychiatry research*, 6(3), pp.361–70. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6955823> [Accessed November 16, 2015].
- Alcántara, S. et al., 1998a. Regional and cellular patterns of reelin {mRNA} expression in the forebrain of the developing and adult mouse. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 18(19), pp.7779–7799.
- Alcántara, S. et al., 1998b. Regional and cellular patterns of reelin mRNA expression in the forebrain of the developing and adult mouse. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 18(19), pp.7779–7799.

- Aldinger, K.A. et al., 2011. SnapShot: genetics of autism. *Neuron*, 72(2), pp.418–8.e1. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22017998> [Accessed November 16, 2015].
- Alessandri, S.M., 1992. Attention, play, and social behavior in ADHD preschoolers. *Journal of abnormal child psychology*, 20(3), pp.289–302. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1619135> [Accessed November 15, 2015].
- Alexander, W.H. & Brown, J.W., 2011. Medial prefrontal cortex as an action-outcome predictor. *Nature neuroscience*, 14(10), pp.1338–44. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nn.2921> [Accessed November 15, 2015].
- Alfarez, D.N. et al., 2002. Corticosterone and stress reduce synaptic potentiation in mouse hippocampal slices with mild stimulation. *Neuroscience*, 115(4), pp.1119–26. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12453484> [Accessed November 16, 2015].
- Allen, G. V et al., 1991. Organization of visceral and limbic connections in the insular cortex of the rat. *The Journal of comparative neurology*, 311(1), pp.1–16. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1719041> [Accessed November 15, 2015].
- Amat, J. et al., 2005. Medial prefrontal cortex determines how stressor controllability affects behavior and dorsal raphe nucleus. *Nature neuroscience*, 8(3), pp.365–71. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15696163> [Accessed June 29, 2015].
- Amodio, D.M. & Frith, C.D., 2006. Meeting of minds: the medial frontal cortex and social cognition. *Nature reviews. Neuroscience*, 7(4), pp.268–77. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16552413> [Accessed July 23, 2015].
- Andersen, H.S. et al., 2000. A longitudinal study of prisoners on remand: psychiatric prevalence, incidence and psychopathology in solitary vs. non-solitary confinement. *Acta psychiatrica Scandinavica*, 102(1), pp.19–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10892605> [Accessed November 16, 2015].
- Andersen, H.S. et al., 2003. A longitudinal study of prisoners on remand: repeated measures of psychopathology in the initial phase of solitary versus nonsolitary confinement. *International journal of law and psychiatry*, 26(2), pp.165–77. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12581753> [Accessed November 16, 2015].
- Andersen, T.E. et al., 2002. A reeler mutant mouse with a new, spontaneous mutation in the reelin gene. *Brain research. Molecular brain research*, 105(1-2), pp.153–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12399118> [Accessed November 15, 2015].
- Andreasson, K.I. & Kaufmann, W.E., 2002. Role of immediate early gene expression in cortical morphogenesis and plasticity. *Results and problems in cell differentiation*, 39, pp.113–37. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12353466> [Accessed November 16, 2015].
- Anglada-Figueroa, D. & Quirk, G.J., 2005. Lesions of the basal amygdala block expression of conditioned fear but not extinction. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(42), pp.9680–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16237172> [Accessed November 6, 2015].
- Anon, 1993 Kawaguchi\_groupings\_nonpyramidals\_pyramidals.pdf.
- Antoni, F.A., 1986. Hypothalamic control of adrenocorticotropin secretion: advances since the discovery of 41-residue corticotropin-releasing factor. *Endocrine reviews*, 7(4), pp.351–78. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3023041> [Accessed November 16, 2015].
- Arakawa, H., 2007a. Age-dependent change in exploratory behavior of male rats following exposure to threat stimulus: effect of juvenile experience. *Developmental psychobiology*, 49(5), pp.522–30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17577238> [Accessed November 16, 2015].
- Arakawa, H., 2007b. Ontogenetic interaction between social relationships and defensive burying behavior in the rat.

- Physiology & behavior*, 90(5), pp.751–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17291551> [Accessed November 16, 2015].
- Arakawa, H., 2003. The effects of isolation rearing on open-field behavior in male rats depends on developmental stages. *Developmental psychobiology*, 43(1), pp.11–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12794774> [Accessed November 16, 2015].
- Araki, R. et al., 2014. Involvement of prefrontal AMPA receptors in encounter stimulation-induced hyperactivity in isolation-reared mice. *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, 17(6), pp.883–93. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24405605> [Accessed November 15, 2015].
- Del Arco, A. et al., 2004. Hyperactivity to novelty induced by social isolation is not correlated with changes in D2 receptor function and binding in striatum. *Psychopharmacology*, 171(2), pp.148–55. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13680076> [Accessed November 16, 2015].
- Arikuni, T., Sakai, M. & Kubota, K., 1983. Columnar aggregation of prefrontal and anterior cingulate cortical cells projecting to the thalamic mediodorsal nucleus in the monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 220(1), pp.116–125. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/cne.902200111>.
- Arion, D. et al., 2007. Molecular evidence for increased expression of genes related to immune and chaperone function in the prefrontal cortex in schizophrenia. *Biological psychiatry*, 62(7), pp.711–21. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2080683&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Armbruster, D.J.N. et al., 2012. Prefrontal cortical mechanisms underlying individual differences in cognitive flexibility and stability. *Journal of cognitive neuroscience*, 24(12), pp.2385–99. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22905818> [Accessed September 10, 2015].
- Arnetz, B.B. et al., 1983. An experimental study of social isolation of elderly people: psychoendocrine and metabolic effects. *Psychosomatic medicine*, 45(5), pp.395–406. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6227027> [Accessed November 9, 2015].
- Arnsten, A.F.T., 2009. Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. *Nature reviews. Neuroscience*, 10(6), pp.410–22. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn2648> [Accessed July 10, 2014].
- Aron, A.R., Robbins, T.W. & Poldrack, R.A., 2004. Inhibition and the right inferior frontal cortex. *Trends in cognitive sciences*, 8(4), pp.170–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15050513> [Accessed July 12, 2014].
- Arrigo, B.A. & Bullock, J.L., 2008. The psychological effects of solitary confinement on prisoners in supermax units: reviewing what we know and recommending what should change. *International journal of offender therapy and comparative criminology*, 52(6), pp.622–40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18025074> [Accessed November 12, 2015].
- Assadi, A.H. et al., 2003. Interaction of reelin signaling and Lis1 in brain development. *Nature genetics*, 35(3), pp.270–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14578885> [Accessed July 15, 2015].
- Assaf, M. et al., 2010. Abnormal functional connectivity of default mode sub-networks in autism spectrum disorder patients. *NeuroImage*, 53(1), pp.247–56. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3058935&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Aston-Jones, G. & Bloom, F.E., 1981. Norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to non-noxious environmental stimuli. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 1(8), pp.887–900. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7346593> [Accessed

November 15, 2015].

- Aston-Jones, G., Rajkowski, J. & Cohen, J., 1999. Role of locus coeruleus in attention and behavioral flexibility. *Biological psychiatry*, 46(9), pp.1309–20. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10560036> [Accessed October 6, 2015].
- Autry, A.E. et al., 2011. NMDA receptor blockade at rest triggers rapid behavioural antidepressant responses. *Nature*, 475(7354), pp.91–5. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3172695&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed September 26, 2015].
- Avale, M. et al., 2011. Prefrontal nicotinic receptors control novel social interaction between mice. *The {FASEB} Journal*, 25(7), pp.2145–2155. Available at: <http://dx.doi.org/10.1096/fj.10-178558>.
- Baarendse, P.J.J. et al., 2013. Early social experience is critical for the development of cognitive control and dopamine modulation of prefrontal cortex function. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 38(8), pp.1485–94. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3682143&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Backström, T. & Winberg, S., 2013. Central corticotropin releasing factor and social stress. *Frontiers in Neuroscience*, 7(7 JUL), pp.1–10.
- Baddeley, A. et al., 2000. The brain decade in debate: I. Neurobiology of learning and memory. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas médicas e biológicas / Sociedade Brasileira de Biofísica ... [et al.]*, 33(9), pp.993–1002. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10973129> [Accessed November 15, 2015].
- Baeg, E.H. et al., 2001. Fast spiking and regular spiking neural correlates of fear conditioning in the medial prefrontal cortex of the rat. *Cerebral cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 11(5), pp.441–51. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11313296> [Accessed November 15, 2015].
- Bailey, C.D.C. et al., 2012. Nicotinic  $\alpha 5$  subunits drive developmental changes in the activation and morphology of prefrontal cortex layer VI neurons. *Biological psychiatry*, 71(2), pp.120–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3788582&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Bakshi, V.P. & Geyer, M.A., 1999. Ontogeny of isolation rearing-induced deficits in sensorimotor gating in rats. *Physiology & behavior*, 67(3), pp.385–92. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10497957> [Accessed November 16, 2015].
- Balfour, M.E. et al., 2006. Potential contributions of efferents from medial prefrontal cortex to neural activation following sexual behavior in the male rat. *Neuroscience*, 137(4), pp.1259–1276. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.11.013>.
- Balleine, B.W. & Dickinson, A., 1998. Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates.
- Ballmaier, M. et al., 2002. Preferential alterations in the mesolimbic dopamine pathway of heterozygous reeler mice: an emerging animal-based model of schizophrenia. *European Journal of Neuroscience*, 15(7), pp.1197–1205. Available at: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.01952.x>.
- Bar, I. et al., 1995. A YAC contig containing the reeler locus with preliminary characterization of candidate gene fragments. *Genomics*, 26(3), pp.543–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7607678> [Accessed November 15, 2015].

- Barbas, H., 2014. General Cortical and Special Prefrontal Connections: Principles from Structure to Function. *Annual review of neuroscience*, 38, pp.269–289. Available at: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-neuro-071714-033936>.
- Barbas, H. & Zikopoulos, B., 2007. The prefrontal cortex and flexible behavior. *The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 13(5), pp.532–545. Available at: <http://dx.doi.org/10.1177/1073858407301369>.
- Barbosa, F.F., Santos, J.R. & Meurer, Y.S.R., 2013. Differential cortical {c-Fos} and Zif-268 expression after object and spatial memory processing in a standard or episodic-like object recognition task.
- Barker, G.R. & Warburton, E.C., 2011. When is the hippocampus involved in recognition memory? *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(29), pp.10721–10731. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6413-10.2011>.
- Barker, G.R.I. et al., 2007. Recognition Memory for Objects, Place, and Temporal Order: A Disconnection Analysis of the Role of the Medial Prefrontal Cortex and Perirhinal Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 27(11), pp.2948–2957. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5289-06.2007>.
- Barr, A.M. et al., 2008. Heterozygous reeler mice exhibit alterations in sensorimotor gating but not presynaptic proteins. *The European journal of neuroscience*, 27(10), pp.2568–74. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18547243> [Accessed November 16, 2015].
- Bechara, A. & Damasio, A.R., 2005. The somatic marker hypothesis: A neural theory of economic decision. *Games and Economic Behavior*, 52(2), pp.336–372. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899825604001034> [Accessed July 11, 2014].
- Beckers, M.C. et al., 1994. A high-resolution genetic map of mouse chromosome 5 encompassing the reeler (rl) locus. *Genomics*, 23(3), pp.685–90. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7851897> [Accessed November 15, 2015].
- Beevers, C.G. et al., 2010. Depression symptoms and cognitive control of emotion cues: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroscience*, 167(1), pp.97–103. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2840066&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 29, 2015].
- Beffert, U. et al., 2006. Functional dissection of Reelin signaling by site-directed disruption of Disabled-1 adaptor binding to apolipoprotein E receptor 2: distinct roles in development and synaptic plasticity. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(7), pp.2041–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16481437> [Accessed November 15, 2015].
- Beffert, U. et al., 2005. Modulation of synaptic plasticity and memory by Reelin involves differential splicing of the lipoprotein receptor Apoer2. *Neuron*, 47(4), pp.567–79. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16102539> [Accessed November 15, 2015].
- Beffert, U. et al., 2002. Reelin-mediated signaling locally regulates protein kinase B/Akt and glycogen synthase kinase 3beta. *The Journal of biological chemistry*, 277(51), pp.49958–64. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12376533> [Accessed October 16, 2015].
- Bell, H.C. et al., 2009. The role of the medial prefrontal cortex in the play fighting of rats. *Behavioral Neuroscience*, 123(6), pp.1158–1168. Available at: <http://dx.doi.org/10.1037/a0017617>.
- Bell, H.C., Pellis, S.M. & Kolb, B., 2010. Juvenile peer play experience and the development of the orbitofrontal and medial prefrontal cortices. *Behavioural brain research*, 207(1), pp.7–13. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2009.09.029>.

- Bellon, A., Krebs, M.-O. & Jay, T.M., 2011. Factoring neurotrophins into a neurite-based pathophysiological model of schizophrenia. *Progress in neurobiology*, 94(1), pp.77–90. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21515336> [Accessed November 16, 2015].
- Bellone, C. & Nicoll, R.A., 2007. Rapid bidirectional switching of synaptic NMDA receptors. *Neuron*, 55(5), pp.779–85. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17785184> [Accessed October 12, 2015].
- Benchenane, K. et al., 2010. Coherent theta oscillations and reorganization of spike timing in the hippocampal- prefrontal network upon learning. *Neuron*, 66(6), pp.921–36. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20620877> [Accessed July 10, 2014].
- Benes, F.M., 2000. Emerging principles of altered neural circuitry in schizophrenia. *Brain research. Brain research reviews*, 31(2-3), pp.251–69. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10719152> [Accessed November 15, 2015].
- Benes, F.M., 1999. Evidence for altered trisynaptic circuitry in schizophrenic hippocampus. *Biological psychiatry*, 46(5), pp.589–99. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10472413> [Accessed November 15, 2015].
- Beninger, R.J. et al., 2009. Neonatal ventral hippocampal lesions in male and female rats: effects on water maze, locomotor activity, plus-maze and prefrontal cortical GABA and glutamate release in adulthood. *Behavioural brain research*, 202(2), pp.198–209. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19463702> [Accessed November 15, 2015].
- Beninger, R.J. et al., 2010. Subchronic phencyclidine in rats: alterations in locomotor activity, maze performance, and GABA(A) receptor binding. *Behavioural pharmacology*, 21(1), pp.1–10. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19949321> [Accessed November 15, 2015].
- Benton, A., 1991. Prefrontal injury and behavior in children. *Developmental Neuropsychology*. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/87565649109540495?journalCode=hdivn20> [Accessed November 15, 2015].
- van den Berg, C.L. et al., 1999. Play is indispensable for an adequate development of coping with social challenges in the rat. *Developmental psychobiology*, 34(2), pp.129–38. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10086231> [Accessed November 16, 2015].
- de Bergeyck, V. et al., 1997. A truncated Reelin protein is produced but not secreted in the “Orleans” reeler mutation (ReIn[rl-Orl]). *Brain research. Molecular brain research*, 50(1-2), pp.85–90. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9406921> [Accessed November 15, 2015].
- Berman, R.M. et al., 2000. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biological psychiatry*, 47(4), pp.351–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10686270> [Accessed November 16, 2015].
- Bernier, B. et al., 2000. Reelin mRNA expression during embryonic brain development in the chick. *The Journal of comparative neurology*, 422(3), pp.448–63. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10861519> [Accessed October 7, 2015].
- Bernier, B. et al., 1999. Reelin mRNA expression during embryonic brain development in the turtle *Emys orbicularis*. *The Journal of comparative neurology*, 413(3), pp.463–79. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10502252> [Accessed November 15, 2015].
- Berntson, G.G., Jang, J.F. & Ronca, A.E., 1988. Brainstem systems and grooming behaviors. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 525, pp.350–62. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3291669> [Accessed November 16, 2015].
- Berridge, K.C., 1989. Progressive degradation of serial grooming chains by descending decerebration. *Behavioural Brain Research*, 33(3), pp.241–253. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328\(89\)80119-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328(89)80119-6).

- Berridge, K.C. & Whishaw, I.Q., 1992. Cortex, striatum and cerebellum: control of serial order in a grooming sequence. *Experimental brain research*, 90(2), pp.275–90. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1397142> [Accessed November 16, 2015].
- Bianchi, M. et al., 2006. Isolation rearing induces recognition memory deficits accompanied by cytoskeletal alterations in rat hippocampus. *The European journal of neuroscience*, 24(10), pp.2894–902. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17116162> [Accessed November 16, 2015].
- Bickerdike, M.J., Wright, I.K. & Marsden, C.A., 1993. Social isolation attenuates rat forebrain 5-HT release induced by KCI stimulation and exposure to a novel environment. *Behavioural pharmacology*, 4(3), pp.231–236. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11224190> [Accessed November 16, 2015].
- Birrell, J.M. & Brown, V.J., 2000. Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 20(11), pp.4320–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10818167> [Accessed September 29, 2015].
- Blanc, G. et al., 1980. Response to stress of mesocortico-frontal dopaminergic neurones in rats after long-term isolation. *Nature*, 284(5753), pp.265–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7189015> [Accessed November 16, 2015].
- Bledsoe, A.C. et al., 2011. Anxiety states induced by post-weaning social isolation are mediated by {CRF} receptors in the dorsal raphe nucleus. *Brain Research Bulletin*, 85(3-4), pp.117–122. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.03.003>.
- Bliss, T. V & Lomo, T., 1973. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of physiology*, 232(2), pp.331–56. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1350458&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 31, 2014].
- Bloem, B., Poorthuis, R.B. & Mansvelder, H.D., 2014. Cholinergic modulation of the medial prefrontal cortex: the role of nicotinic receptors in attention and regulation of neuronal activity. *Frontiers in Neural Circuits*. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fncir.2014.00017>.
- Bloomfield, C. et al., 2008. Chandelier cartridges in the prefrontal cortex are reduced in isolation reared rats. *Synapse (New York, N.Y.)*, 62(8), pp.628–31. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18512213> [Accessed November 15, 2015].
- Blum, S., Runyan, J.D. & Dash, P.K., 2006. Inhibition of prefrontal protein synthesis following recall does not disrupt memory for trace fear conditioning. *BMC neuroscience*, 7, p.67. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1617114&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Bodnoff, S.R. et al., 1995. Enduring effects of chronic corticosterone treatment on spatial learning, synaptic plasticity, and hippocampal neuropathology in young and mid-aged rats. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(1 Pt 1), pp.61–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7823152> [Accessed November 16, 2015].
- Bodor, A.L. et al., 2005. Endocannabinoid signaling in rat somatosensory cortex: laminar differences and involvement of specific interneuron types. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(29), pp.6845–56. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16033894> [Accessed November 15, 2015].
- Bontempi, B. et al., 1999. Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature*, 400(6745), pp.671–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10458162> [Accessed November 14, 2015].
- Borgdorff, A.J. & Choquet, D., 2002. Regulation of AMPA receptor lateral movements. *Nature*, 417(6889), pp.649–53.

Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12050666> [Accessed November 6, 2015].

- Borrell, V. et al., 2007. Reelin and mDab1 regulate the development of hippocampal connections. *Molecular and cellular neurosciences*, 36(2), pp.158–73. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17720534> [Accessed October 5, 2015].
- Borrell, V. et al., 1999. Reelin regulates the development and synaptogenesis of the layer-specific entorhino-hippocampal connections. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(4), pp.1345–58. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9952412> [Accessed November 15, 2015].
- Bosch, O.J. et al., 2005. Brain oxytocin correlates with maternal aggression: link to anxiety. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(29), pp.6807–15. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16033890> [Accessed November 11, 2015].
- Bouché, E. et al., 2013. Reelin induces EphB activation. *Cell research*, 23(4), pp.473–90. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3616423&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Bourgeois, J.P., Goldman-Rakic, P.S. & Rakic, P., Synaptogenesis in the prefrontal cortex of rhesus monkeys. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 4(1), pp.78–96. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8180493> [Accessed November 16, 2015].
- Boyle, M.P. et al., 2011. Cell-type-specific consequences of Reelin deficiency in the mouse neocortex, hippocampus, and amygdala. *The Journal of comparative neurology*, 519(11), pp.2061–89. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21491433> [Accessed November 15, 2015].
- Bozikas, V.P. et al., 2006. Neuropsychological profile of cognitively impaired patients with schizophrenia. *Comprehensive psychiatry*, 47(2), pp.136–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16490572> [Accessed November 16, 2015].
- Bradley, A.J. & Dinan, T.G., 2010. Review: A systematic review of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in schizophrenia: implications for mortality. *Journal of Psychopharmacology*, 24(4 suppl), pp.91–9118. Available at: <http://dx.doi.org/10.1177/1359786810385491>.
- Braff, D.L., Geyer, M.A. & Swerdlow, N.R., 2001. Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. *Psychopharmacology*, 156(2-3), pp.234–58. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11549226> [Accessed October 14, 2015].
- Branco, T. & Staras, K., 2009. The probability of neurotransmitter release: variability and feedback control at single synapses. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(5), pp.373–383. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn2634>.
- Breier, A. & Buchanan, R.W., 1992. The effects of metabolic stress on plasma progesterone in healthy volunteers and schizophrenic patients. *Life sciences*, 51(19), pp.1527–34. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1435061> [Accessed November 16, 2015].
- Brenes, J.C., Rodr'iguez, O. & Fornaguera, J., 2008. Differential effect of environment enrichment and social isolation on depressive-like behavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in prefrontal cortex and ventral striatum. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 89(1), pp.85–93. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2007.11.004>.
- Brigman, J.L. et al., 2006. Executive Functions in the Heterozygous Reeler Mouse Model of Schizophrenia. *Behavioral Neuroscience*, 120(4), pp.984–988. Available at: <http://dx.doi.org/10.1037/0735-7044.120.4.984>.
- Brodmann, 1909. Vergleichende Lokalisationslehre - Title - Physische Anthropologie (Thomas Hösche Sammlung) - ZB MED - Leibniz-Informationszentrum Lebenswissenschaften. Available at: <http://digital.zbmed.de/zbmed/id/554966>

[Accessed November 15, 2015].

- Brosda, J., Dietz, F. & Koch, M., 2011. Impairment of cognitive performance after reelin knockdown in the medial prefrontal cortex of pubertal or adult rats. *Neurobiology of disease*, 44(2), pp.239–47. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21784155>.
- Brown, S.P. & Hestrin, S., 2009. Intracortical circuits of pyramidal neurons reflect their long-range axonal targets. *Nature*, 457(7233), pp.1133–6. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2727746&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Brown, T.C. et al., 2005. NMDA receptor-dependent activation of the small GTPase Rab5 drives the removal of synaptic AMPA receptors during hippocampal LTD. *Neuron*, 45(1), pp.81–94. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15629704> [Accessed November 15, 2015].
- de Bruin, J.P. et al., 1994. A behavioural analysis of rats with damage to the medial prefrontal cortex using the Morris water maze: evidence for behavioural flexibility, but not for impaired spatial navigation. *Brain research*, 652(2), pp.323–33. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7953746> [Accessed November 15, 2015].
- de Bruin, J.P., 1990. Social behaviour and the prefrontal cortex. *Progress in brain research*, 85, pp.485–96; discussion 497. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2094911> [Accessed November 15, 2015].
- Buret, L. & van den Buuse, M., 2014. Corticosterone treatment during adolescence induces down-regulation of reelin and {NMDA} receptor subunit {GLUN2C} expression only in male mice: implications for schizophrenia. *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum {{CINP}}*, 17(8), pp.1221–1232. Available at: <http://dx.doi.org/10.1017/S1461145714000121>.
- Burle, B. et al., 2004. Physiological evidence for response inhibition in choice reaction time tasks. *Brain and cognition*, 56(2), pp.153–64. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15518932> [Accessed November 15, 2015].
- Burton, B.G. et al., 2009. Lesion of the ventral and intermediate hippocampus abolishes anticipatory activity in the medial prefrontal cortex of the rat. *Behavioural brain research*, 199(2), pp.222–34. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19103227> [Accessed November 15, 2015].
- Burwell, R.D. & Amaral, D.G., 1998. Cortical afferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *The Journal of comparative neurology*, 398(2), pp.179–205. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9700566> [Accessed November 14, 2015].
- Bussey, T.J., Muir, J.L. & Aggleton, J.P., 1999. Functionally dissociating aspects of event memory: the effects of combined perirhinal and postrhinal cortex lesions on object and place memory in the rat. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(1), pp.495–502. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9870977> [Accessed October 3, 2015].
- Buynitsky, T. & Mostofsky, D.I., 2009. Restraint stress in biobehavioral research: Recent developments. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 33(7), pp.1089–98. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19463853> [Accessed November 16, 2015].
- Buzsáki, G., 2001. Hippocampal GABAergic interneurons: a physiological perspective. *Neurochemical research*, 26(8-9), pp.899–905. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11699941> [Accessed November 14, 2015].
- Buzsáki, G., Kaila, K. & Raichle, M., 2007. Inhibition and brain work. *Neuron*, 56(5), pp.771–83. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2266612&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 13, 2015].

- Cacioppo, J.T. et al., 2000. Lonely traits and concomitant physiological processes: the MacArthur social neuroscience studies. *International journal of psychophysiology: official journal of the International Organization of Psychophysiology*, 35(2-3), pp.143–54. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10677643> [Accessed November 16, 2015].
- Cacioppo, J.T. et al., 2015a. The Neuroendocrinology of Social Isolation. *Psychology*, 66(1), pp.733–767. Available at: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-psych-010814-015240>.
- Cacioppo, J.T. et al., 2015b. The neuroendocrinology of social isolation. *Annual review of psychology*, 66, pp.733–67. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25148851> [Accessed July 30, 2015].
- Calcott, R.D. & Berkman, E.T., 2014. Attentional flexibility during approach and avoidance motivational states: the role of context in shifts of attentional breadth. *Journal of experimental psychology. General*, 143(3), pp.1393–408. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4081535&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Calderwood, D.A. et al., 2003. Integrin beta cytoplasmic domain interactions with phosphotyrosine-binding domains: a structural prototype for diversity in integrin signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(5), pp.2272–7. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=151330&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Campo, C.G. et al., 2009. Reelin secreted by GABAergic neurons regulates glutamate receptor homeostasis. *PloS one*, 4(5), p.e5505. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2675077&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Campo, G.C. et al., 2009. Reelin secreted by GABAergic neurons regulates glutamate receptor homeostasis. *PLoS ONE*, 4(5), pp.1–11.
- Cannon, M. et al., 2001. Predictors of later schizophrenia and affective psychosis among attendees at a child psychiatry department. *The British journal of psychiatry: the journal of mental science*, 178, pp.420–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11331557> [Accessed November 16, 2015].
- Cannon, R.; et al., 2007. Practical Joking and Cingulate Cortex: A Standardized Low-Resolution Electromagnetic Tomography (sLORETA) Investigation of Practical Joking in the Cerebral Volume. *JOURNAL OF NEUROTHErapy*, 11(4), pp.51–63.
- Cannon, T.D. et al., 2000. The inheritance of neuropsychological dysfunction in twins discordant for schizophrenia. *American journal of human genetics*, 67(2), pp.369–82. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1287184&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Cantley, L.C., 2002. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science (New York, N.Y.)*, 296(5573), pp.1655–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12040186> [Accessed July 9, 2014].
- Carballo-Márquez, A. et al., 2007. Differential effects of muscarinic receptor blockade in prefrontal cortex on acquisition and memory formation of an odor-reward task. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 14(9), pp.616–24. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1994078&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Carballo-Márquez, A. et al., 2009. Muscarinic receptor blockade in ventral hippocampus and prefrontal cortex impairs memory for socially transmitted food preference. *Hippocampus*, 19(5), pp.446–55. Available at:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19004013> [Accessed November 14, 2015].

- Carboni, G. et al., 2004. Enhanced dizocilpine efficacy in heterozygous reeler mice relates to GABA turnover downregulation. *Neuropharmacology*, 46(8), pp.1070–81. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15111013>.
- Cardinal, R.N. et al., 2002. Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 26(3), pp.321–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12034134> [Accessed September 26, 2015].
- Cardinal, R.N. et al., 2003. The contribution of the amygdala, nucleus accumbens, and prefrontal cortex to emotion and motivated behaviour. *International Congress Series*, 1250, p.347370. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0531-5131\(03\)01013-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0531-5131(03)01013-6).
- Carli, M. et al., 1983. Effects of lesions to ascending noradrenergic neurones on performance of a 5-choice serial reaction task in rats; implications for theories of dorsal noradrenergic bundle function based on selective attention and arousal. *Behavioural brain research*, 9(3), pp.361–80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6639741> [Accessed October 27, 2015].
- Carr, D.B. & Sesack, S.R., 2000. Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 20(10), pp.3864–3873.
- Casanova, M.F., 1997. Functional and anatomical aspects of prefrontal pathology in schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 23(3), pp.517–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9327515> [Accessed November 16, 2015].
- Cassidy, a W. et al., 2010. Developmental emergence of reelin deficits in the prefrontal cortex of Wistar rats reared in social isolation. *Neuroscience*, 166(2), pp.377–85. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20035841>.
- Cassidy, A.W. et al., 2010. Reduced reelin protein synthesis in ventral hippocampus of isolation reared Wistar rats accompanies impaired avoidance conditioning. *Behavioural Brain Research*, 213(1), pp.130–134. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20438765> [Accessed November 16, 2015].
- Caviness, V.S., 1982. Neocortical histogenesis in normal and reeler mice: a developmental study based upon [3H]thymidine autoradiography. *Brain research*, 256(3), pp.293–302. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7104762> [Accessed October 10, 2015].
- Cenquizca, L.A. & Swanson, L.W., 2007. Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain research reviews*, 56(1), pp.1–26. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2171036&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed July 12, 2015].
- Chai, X. et al., 2009. Reelin stabilizes the actin cytoskeleton of neuronal processes by inducing n-cofilin phosphorylation at serine3. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 29(1), pp.288–99. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19129405> [Accessed November 15, 2015].
- Chanda, P.K. et al., 2010. Monoacylglycerol lipase activity is a critical modulator of the tone and integrity of the endocannabinoid system. *Molecular pharmacology*, 78(6), pp.996–1003. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20855465> [Accessed September 23, 2015].
- Changeux, J.P. & Danchin, A., Selective stabilisation of developing synapses as a mechanism for the specification of neuronal networks. *Nature*, 264(5588), pp.705–12. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/189195> [Accessed August 4, 2015].
- Chavis, P. & Westbrook, G., 2001. Integrins mediate functional pre- and postsynaptic maturation at a hippocampal synapse.

*Nature*, 411(6835), pp.317–321. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/35077101>.

- Chen, X. et al., 2012. Up-regulation of ATP binding cassette transporter A1 expression by very low density lipoprotein receptor and apolipoprotein E receptor 2. *The Journal of biological chemistry*, 287(6), pp.3751–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3281687&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Chen, Y. et al., 2002. On the epigenetic regulation of the human reelin promoter. *Nucleic acids research*, 30(13), pp.2930–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=117056&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Chen, Y. et al., 2005. Reelin modulates NMDA receptor activity in cortical neurons. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(36), pp.8209–16. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16148228> [Accessed November 12, 2015].
- Cheng, S.-Y., Taravosh-Lahn, K. & Delville, Y., 2008. Neural circuitry of play fighting in golden hamsters. *Neuroscience*, 156(2), pp.247–56. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18725269> [Accessed November 15, 2015].
- Chida, Y., Sudo, N. & Kubo, C., 2005. Social isolation stress exacerbates autoimmune disease in {MRL/lpr} mice. *Journal of Neuroimmunology*, 158(1-2), pp.138–144. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneuroim.2004.09.002>.
- Chin, J. et al., 2007. Reelin depletion in the entorhinal cortex of human amyloid precursor protein transgenic mice and humans with Alzheimer’s disease. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 27(11), pp.2727–33. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17360894> [Accessed November 15, 2015].
- Chiu, C.Q. et al., 2010. Dopaminergic Modulation of {Endocannabinoid-Mediated} Plasticity at {GABAergic} Synapses in the Prefrontal Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 30(21), pp.7236–7248. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0736-10.2010>.
- Cho, J.-H., Deisseroth, K. & Bolshakov, V.Y., 2013. Synaptic encoding of fear extinction in mPFC-amygdala circuits. *Neuron*, 80(6), pp.1491–507. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3872173&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 30, 2015].
- Choi, Y.K. et al., 2009. Subchronic effects of phencyclidine on dopamine and serotonin receptors: implications for schizophrenia. *Journal of molecular neuroscience: MN*, 38(3), pp.227–35. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19455435> [Accessed November 15, 2015].
- Chu, Z., Galarreta, M. & Hestrin, S., 2003. Synaptic interactions of late-spiking neocortical neurons in layer 1. *The Journal of neuroscience*, 23(1), pp.96–9102.
- Chudasama, Y., 2011. Animal models of prefrontal-executive function. *Behavioral neuroscience*, 125(3), pp.327–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21639603> [Accessed November 15, 2015].
- Chudasama, Y., Doobay, V.M. & Liu, Y., 2012. Hippocampal-prefrontal cortical circuit mediates inhibitory response control in the rat. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 32(32), pp.10915–10924. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1463-12.2012>.
- Chudasama, Y. & Robbins, T.W., 2003. Dissociable contributions of the orbitofrontal and infralimbic cortex to pavlovian autoshaping and discrimination reversal learning: further evidence for the functional heterogeneity of the rodent frontal cortex. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(25), pp.8771–80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14507977> [Accessed November 15, 2015].
- Chudasama, Y. & Robbins, T.W., 2004. Psychopharmacological approaches to modulating attention in the five-choice serial

- reaction time task: implications for schizophrenia. *Psychopharmacology*, 174(1), pp.86–98. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15071717> [Accessed November 15, 2015].
- Churchwell, J.C. et al., 2010. Prefrontal and hippocampal contributions to encoding and retrieval of spatial memory. *Neurobiology of learning and memory*, 93(3), pp.415–421.
- Cilia, J. et al., 2001. Long-term evaluation of isolation-rearing induced prepulse inhibition deficits in rats. *Psychopharmacology*, 156(2-3), pp.327–37. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11549233> [Accessed November 16, 2015].
- Cilia, J. et al., 2005. Long-term evaluation of isolation-rearing induced prepulse inhibition deficits in rats: an update. *Psychopharmacology*, 180(1), pp.57–62. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15650841> [Accessed October 13, 2015].
- Citri, A. & Malenka, R.C., 2007. Synaptic Plasticity: Multiple Forms, Functions, and Mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), pp.18–41. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.npp.1301559>.
- Clarke, D.M. & Currie, K.C., 2009. Depression, anxiety and their relationship with chronic diseases: a review of the epidemiology, risk and treatment evidence. *The Medical journal of Australia*, 190(7 Suppl), pp.S54–60. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19351294> [Accessed August 11, 2015].
- Cloud, D.H. et al., 2015. Public Health and Solitary Confinement in the United States. *American journal of public health*, 105(1), pp.18–26. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25393185>.
- Cohen, S., 2004. Social Relationships and Health. *American Psychologist*, pp.676 – 684. Available at: <http://repository.cmu.edu/psychology/687> [Accessed November 15, 2015].
- Collingridge, G.L. & Bliss, T. V., 1995. Memories of {NMDA} receptors and {LTP}. *Trends in Neurosciences*, 18(2), p.5456. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/0166-2236\(95\)93868-X](http://dx.doi.org/10.1016/0166-2236(95)93868-X).
- Comery, T.A. et al., 1996. Increased density of multiple-head dendritic spines on medium-sized spiny neurons of the striatum in rats reared in a complex environment. *Neurobiology of learning and memory*, 66(2), pp.93–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8946401> [Accessed November 15, 2015].
- Comery, T.A., Shah, R. & Greenough, W.T., 1995. Differential rearing alters spine density on medium-sized spiny neurons in the rat corpus striatum: evidence for association of morphological plasticity with early response gene expression. *Neurobiology of learning and memory*, 63(3), pp.217–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7670834> [Accessed November 15, 2015].
- Conrad, C.D. et al., 1996. Chronic stress impairs rat spatial memory on the Y maze, and this effect is blocked by tianeptine pretreatment. *Behavioral neuroscience*, 110(6), pp.1321–34. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8986335> [Accessed November 16, 2015].
- Conrad, C.D., Mauldin-Jourdain, M.L. & Hobbs, R.J., 2001. Metyrapone reveals that previous chronic stress differentially impairs hippocampal-dependent memory. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 4(4), pp.305–18. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2254512&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Conrad, K.L. & Winder, D.G., 2011. Altered anxiety-like behavior and long-term potentiation in the bed nucleus of the stria terminalis in adult mice exposed to chronic social isolation, unpredictable stress, and ethanol beginning in adolescence. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 45(6), pp.585–93. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3085602&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Corcoran, K.A. & Quirk, G.J., 2007. Activity in prelimbic cortex is necessary for the expression of learned, but not innate,

- fears. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 27(4), pp.840–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17251424> [Accessed June 23, 2015].
- Costa, E. et al., 2001. Dendritic spine hypoplasticity and downregulation of reelin and GABAergic tone in schizophrenia vulnerability. *Neurobiology of disease*, 8(5), pp.723–42. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11592844> [Accessed November 15, 2015].
- Costa, E. et al., 2002. REELIN and schizophrenia: a disease at the interface of the genome and the epigenome. *Molecular interventions*, 2(1), pp.47–57.
- Costagli, A. et al., 2002. Conserved and divergent patterns of Reelin expression in the zebrafish central nervous system. *The Journal of comparative neurology*, 450(1), pp.73–93. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12124768> [Accessed November 15, 2015].
- Courtin, J. et al., 2013. Medial prefrontal cortex neuronal circuits in fear behavior. *Neuroscience*, 240, pp.219–42. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23500092> [Accessed November 15, 2015].
- Cowen, S.L., Davis, G.A. & Nitz, D.A., 2012. Anterior cingulate neurons in the rat map anticipated effort and reward to their associated action sequences. *Journal of neurophysiology*, 107(9), pp.2393–407. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22323629> [Accessed November 15, 2015].
- Cowen, S.L. & McNaughton, B.L., 2007. Selective delay activity in the medial prefrontal cortex of the rat: contribution of sensorimotor information and contingency. *Journal of neurophysiology*, 98(1), pp.303–16. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17507507> [Accessed November 15, 2015].
- Cramer, N. & Galdzicki, Z., 2012. From abnormal hippocampal synaptic plasticity in down syndrome mouse models to cognitive disability in down syndrome. *Neural plasticity*, 2012, p.101542. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3403629&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 9, 2015].
- Creel, S. & Albright, J., 1988. The effects of neonatal social isolation on the behavior and endocrine function of Holstein calves. *Applied Animal Behaviour Science*, 21, pp.293–306.
- Crocker, L.D. et al., 2013. Relationships among cognition, emotion, and motivation: implications for intervention and neuroplasticity in psychopathology. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fnhum.2013.00261>.
- Cromwell, H.C. & Berridge, K.C., 1996. Implementation of action sequences by a neostriatal site: a lesion mapping study of grooming syntax. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 16(10), pp.3444–58. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8627378> [Accessed November 16, 2015].
- Crone, E.A. et al., 2006. Neurocognitive development of the ability to manipulate information in working memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(24), pp.9315–20. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1472660&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed September 21, 2015].
- Cross, N., Pines, M.K. & Rogers, L.J., 2004. Saliva sampling to assess cortisol levels in unrestrained common marmosets and the effect of behavioral stress. *American journal of primatology*, 62(2), pp.107–14. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14983468> [Accessed November 16, 2015].
- Cruikshank, S.J. et al., 2012. Thalamic control of layer 1 circuits in prefrontal cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 32(49), pp.17813–17823. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3231-12.2012>.
- Crupi, R., Marino, A. & Cuzzocrea, S., 2011. New therapeutic strategy for mood disorders. *Current medicinal chemistry*,

- 18(28), pp.4284–98. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21861822> [Accessed November 16, 2015].
- Crystal, J.D., 2012. Remembering the past and planning for the future in rats. *Behavioural processes*. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.beproc.2012.11.014>.
- Cui, Y. et al., 2011. Forebrain NR2B overexpression facilitating the prefrontal cortex long-term potentiation and enhancing working memory function in mice. *PloS one*, 6(5), p.e20312. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3105019&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Curtis, H.S., 1916. Education through play. *New York: Macmillan*.
- D’Arcangelo, G. et al., 1995. A protein related to extracellular matrix proteins deleted in the mouse mutant reeler. *Nature*, 374(6524), pp.719–23. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7715726> [Accessed October 30, 2015].
- D’Arcangelo, G. et al., 1999. Reelin is a ligand for lipoprotein receptors. *Neuron*, 24(2), pp.471–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10571240> [Accessed November 15, 2015].
- D’Arcangelo, G. et al., 1997. Reelin is a secreted glycoprotein recognized by the CR-50 monoclonal antibody. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(1), pp.23–31. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8987733> [Accessed November 15, 2015].
- D’Arcangelo, G. & Curran, T., 1998. Reeler: new tales on an old mutant mouse. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 20(3), pp.235–44. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9631651> [Accessed November 15, 2015].
- Dachir, S. et al., 1993. Cognitive deficits induced in young rats by long-term corticosterone administration. *Behavioral and neural biology*, 60(2), pp.103–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8117235> [Accessed November 16, 2015].
- Daenen, E.W.P.M. et al., 2002. The effects of neonatal lesions in the amygdala or ventral hippocampus on social behaviour later in life. *Behavioural brain research*, 136(2), pp.571–82. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12429419> [Accessed November 15, 2015].
- Dalley, J.W. et al., 2001. Distinct changes in cortical acetylcholine and noradrenaline efflux during contingent and noncontingent performance of a visual attentional task. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(13), pp.4908–14. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11425918> [Accessed November 15, 2015].
- Dalley, J.W., Cardinal, R.N. & Robbins, T.W., 2004. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 28(7), pp.771–784. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.006>.
- Dalley, J.W., Everitt, B.J. & Robbins, T.W., 2011. Impulsivity, Compulsivity, and Top-Down Cognitive Control. *Neuron*, 69(4), pp.680–694. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21338879> [Accessed April 16, 2015].
- Daly, S.A. & Waddington, J.L., 1993. Behavioural evidence for “D-1-like” dopamine receptor subtypes in rat brain using the new isochroman agonist A 68930 and isoquinoline antagonist BW 737C. *Psychopharmacology*, 113(1), pp.45–50. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7862827> [Accessed November 16, 2015].
- Davidson, R.J., Putnam, K.M. & Larson, C.L., 2000. Dysfunction in the neural circuitry of emotion regulation--a possible prelude to violence. *Science (New York, N.Y.)*, 289(5479), pp.591–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10915615> [Accessed October 1, 2015].
- Davis, J.F. et al., 2010. Lesions of the Medial Prefrontal Cortex Cause Maladaptive Sexual Behavior in Male Rats. *Biological Psychiatry*. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.12.029>.

- Davitz, J.R. & Mason, D.J., 1955. Socially facilitated reduction of a fear response in rats. *Journal of comparative and physiological psychology*, 48(3), pp.149–51. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13242680> [Accessed November 16, 2015].
- Day-Wilson, K.M. et al., 2006. Medial prefrontal cortex volume loss in rats with isolation rearing-induced deficits in prepulse inhibition of acoustic startle. *Neuroscience*, 141(3), pp.1113–21. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16750891> [Accessed November 16, 2015].
- Dazzo, E. et al., 2015. Heterozygous Reelin Mutations Cause {Autosomal-Dominant} Lateral Temporal Epilepsy. *The American Journal of Human Genetics*, 96(6), pp.992–991000. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.04.020>.
- Deacon, R.M.J., 2006. Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments. *Nature protocols*, 1(2), pp.936–46. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2006.120> [Accessed November 7, 2015].
- DeFelipe, J. & Fariñas, I., 1992. The pyramidal neuron of the cerebral cortex: morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs. *Progress in neurobiology*, 39(6), pp.563–607. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1410442> [Accessed October 11, 2015].
- Delatour, B. & Gisquet-Verrier, P., 1999. Lesions of the prelimbic-infralimbic cortices in rats do not disrupt response selection processes but induce delay-dependent deficits: evidence for a role in working memory? *Behavioral neuroscience*, 113(5), pp.941–55. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10571477> [Accessed November 16, 2015].
- Delatour, B. & Gisquet-Verrier, P., 1996. Prelimbic cortex specific lesions disrupt delayed-variable response tasks in the rat. *Behavioral neuroscience*, 110(6), pp.1282–98. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8986332> [Accessed November 16, 2015].
- Dembrow, N. & Johnston, D., 2014a. Subcircuit-specific neuromodulation in the prefrontal cortex. *Frontiers in Neural Circuits*, 8, p.54. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fncir.2014.00054>.
- Dembrow, N. & Johnston, D., 2014b. Subcircuit-specific neuromodulation in the prefrontal cortex. *Frontiers in neural circuits*, 8, p.54. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4046580&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Dembrow, N.C., Zemelman, B. V & Johnston, D., 2015. Temporal dynamics of L5 dendrites in medial prefrontal cortex regulate integration versus coincidence detection of afferent inputs. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 35(11), pp.4501–4514. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4673-14.2015>.
- Depaulis, A., Keay, K.A. & Bandler, R., 1992. Longitudinal neuronal organization of defensive reactions in the midbrain periaqueductal gray region of the rat. *Experimental brain research*, 90(2), pp.307–18. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1397145> [Accessed November 15, 2015].
- Derer, P., Derer, M. & Goffinet, A., 2001. Axonal secretion of Reelin by Cajal-Retzius cells: evidence from comparison of normal and ReIn(Orl) mutant mice. *The Journal of comparative neurology*, 440(2), pp.136–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11745613> [Accessed November 15, 2015].
- DeSilva, U. et al., 1997. The human reelin gene: isolation, sequencing, and mapping on chromosome 7. *Genome research*, 7(2), pp.157–64. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9049633> [Accessed November 15, 2015].
- Detillion, C.E. et al., 2004. Social facilitation of wound healing. *Psychoneuroendocrinology*, 29(8), pp.1004–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15219651> [Accessed November 16, 2015].

- Devauges, V. & Sara, S.J., 1990. Activation of the noradrenergic system facilitates an attentional shift in the rat. *Behavioural brain research*, 39(1), pp.19–28. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2167690> [Accessed November 15, 2015].
- Deveney, A.M. & Waddington, J.L., 1995. Pharmacological characterization of behavioural responses to SK&F 83959 in relation to “D1-like” dopamine receptors not linked to adenylyl cyclase. *British journal of pharmacology*, 116(3), pp.2120–6. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1908936&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Deveney, A.M. & Waddington, J.L., 1997. Psychopharmacological distinction between novel full-efficacy “D1-like” dopamine receptor agonists. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 58(2), pp.551–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9300618> [Accessed November 16, 2015].
- Devito, L.M. & Eichenbaum, H., 2011. Memory for the order of events in specific sequences: contributions of the hippocampus and medial prefrontal cortex. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(9), pp.3169–3175. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4202-10.2011>.
- DeVries, A.C., Glasper, E.R. & Detillion, C.E., 2003. Social modulation of stress responses. *Physiology & behavior*, 79(3), pp.399–407. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12954434> [Accessed November 16, 2015].
- Dewsbury, D., 1992. Studies of rodent-human interactions in animal psychology. *The Inevitable Bond. Examining ...* Available at: [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Studies of rodent-human interactions in animal psychology&author=DA Dewsbury&publication\\_year=1992&citation\\_inbook\\_title=The Inevitable Bond%3A Examining Scientist-Animal Interactions#0](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Studies+of+rodent-human+interactions+in+animal+psychology&author=DA+Dewsbury&publication_year=1992&citation_inbook_title=The+Inevitable+Bond%3A+Examining+Scientist-Animal+Interactions#0) [Accessed November 16, 2015].
- Diamond, A. & Goldman-Rakic, P.S., 1989. Comparison of human infants and rhesus monkeys on Piaget’s AB task: evidence for dependence on dorsolateral prefrontal cortex. *Experimental brain research*, 74(1), pp.24–40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2924839> [Accessed November 16, 2015].
- Dias, R. & Aggleton, J.P., 2000. Effects of selective excitotoxic prefrontal lesions on acquisition of nonmatching- and matching-to-place in the T-maze in the rat: differential involvement of the prelimbic-infralimbic and anterior cingulate cortices in providing behavioural flexibility. *The European journal of neuroscience*, 12(12), pp.4457–4466.
- Dias-Ferreira, E. et al., 2009. Chronic stress causes frontostriatal reorganization and affects decision-making. *Science (New York, N.Y.)*, 325(5940), pp.621–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19644122> [Accessed April 21, 2015].
- Dickinson, A., 1980. Contemporary Animal Learning Theory | Animal Behaviour | Cambridge University Press. Available at: <http://www.cambridge.org/fi/academic/subjects/life-sciences/animal-behaviour/contemporary-animal-learning-theory> [Accessed November 15, 2015].
- Ding, H.K., Teixeira, C.M. & Frankland, P.W., 2008. Inactivation of the anterior cingulate cortex blocks expression of remote, but not recent, conditioned taste aversion memory. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 15(5), pp.290–3. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18441286> [Accessed November 15, 2015].
- Diorio, D., Viau, V. & Meaney, M.J., 1993. The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 13(9), pp.3839–47. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8396170> [Accessed November 16, 2015].
- Disner, S.G. et al., 2011. Neural mechanisms of the cognitive model of depression. *Nature reviews. Neuroscience*, 12(8), pp.467–77. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21731066> [Accessed July 27, 2015].
- Dityatev, A. & Schachner, M., 2003. Extracellular matrix molecules and synaptic plasticity. *Nature reviews. Neuroscience*,

4(6), pp.456–68. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12778118> [Accessed November 15, 2015].

- Djordjevic, A. et al., 2010. Chronic social isolation suppresses proplastic response and promotes proapoptotic signalling in prefrontal cortex of Wistar rats. *Journal of neuroscience research*, 88(11), pp.2524–33. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20623537> [Accessed November 16, 2015].
- Doane, L.D. & Adam, E.K., 2010. Loneliness and cortisol: momentary, day-to-day, and trait associations. *Psychoneuroendocrinology*, 35(3), pp.430–41. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2841363&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 5, 2015].
- Dolan, R.J., 2002. Emotion, cognition, and behavior. *Science (New York, N.Y.)*, 298(5596), pp.1191–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12424363> [Accessed June 12, 2015].
- Domeney, A. & Feldon, J., 1998. The disruption of prepulse inhibition by social isolation in the Wistar rat: how robust is the effect? *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 59(4), pp.883–90. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9586844> [Accessed November 16, 2015].
- Dong, E. et al., 2003. A reelin-integrin receptor interaction regulates Arc mRNA translation in synaptoneurosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(9), pp.5479–84. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=154370&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Dong, E. et al., 2007. Histone hyperacetylation induces demethylation of reelin and 67-kDa glutamic acid decarboxylase promoters. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(11), pp.4676–81. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1815468&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Douglas, L.A., Varlinskaya, E.I. & Spear, L.P., 2004. Rewarding properties of social interactions in adolescent and adult male and female rats: impact of social versus isolate housing of subjects and partners. *Developmental psychobiology*, 45(3), pp.153–162. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/dev.20025>.
- Douglas, R.J. & Martin, K.A., 2004. Neuronal circuits of the neocortex. *Annual review of neuroscience*, 27, pp.419–451. Available at: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.neuro.27.070203.144152>.
- Drevets, W.C., 2000. Neuroimaging studies of mood disorders. *Biological psychiatry*, 48(8), pp.813–29. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11063977> [Accessed November 16, 2015].
- Dronjak, S. et al., 2004. Immobilization and cold stress affect sympatho-adrenomedullary system and pituitary-adrenocortical axis of rats exposed to long-term isolation and crowding. *Physiology & behavior*, 81(3), pp.409–15. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15135012> [Accessed October 19, 2015].
- Dudchenko, P.A., 2004. An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neuroscience and biobehavioral reviews*.
- Dulabon, L. et al., 2000. Reelin binds alpha3beta1 integrin and inhibits neuronal migration. *Neuron*, 27(1), pp.33–44. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10939329> [Accessed November 15, 2015].
- Duman, R.S. & Li, N., 2012. A neurotrophic hypothesis of depression: role of synaptogenesis in the actions of NMDA receptor antagonists. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 367(1601), pp.2475–84. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3405673&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 3, 2015].

- Dunnett, S.B., Nathwani, F. & Brasted, P.J., 1999. Medial prefrontal and neostriatal lesions disrupt performance in an operant delayed alternation task in rats. *Behavioural brain research*, 106(1-2), pp.13–28. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10595418> [Accessed November 15, 2015].
- Durand, G.M., Kovalchuk, Y. & Konnerth, A., 1996. Long-term potentiation and functional synapse induction in developing hippocampus. *Nature*, 381(6577), pp.71–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8609991> [Accessed November 16, 2015].
- Durstewitz, D. et al., 2010. Abrupt transitions between prefrontal neural ensemble states accompany behavioral transitions during rule learning. *Neuron*, 66(3), pp.438–448.
- Eastwood, S.L., Burnet, P.W. & Harrison, P.J., 1995. Altered synaptophysin expression as a marker of synaptic pathology in schizophrenia. *Neuroscience*, 66(2), pp.309–19. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7477874> [Accessed November 16, 2015].
- Eastwood, S.L., Burnet, P.W. & Harrison, P.J., 1997. GluR2 glutamate receptor subunit flip and flop isoforms are decreased in the hippocampal formation in schizophrenia: a reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) study. *Brain research. Molecular brain research*, 44(1), pp.92–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9030702> [Accessed November 16, 2015].
- Van Eden, C.G. & Uylings, H.B., 1985. Cytoarchitectonic development of the prefrontal cortex in the rat. *The Journal of comparative neurology*, 241(1983), pp.253–267.
- Eells, J.B., Mislis, J.A. & Nikodem, V.M., 2006. Early postnatal isolation reduces dopamine levels, elevates dopamine turnover and specifically disrupts prepulse inhibition in Nurr1-null heterozygous mice. *Neuroscience*, 140(4), pp.1117–1126.
- Einon, D.F. & Morgan, M.J., 1977. A critical period for social isolation in the rat. *Developmental Psychobiology*, 10(2), pp.123–132. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/838157> [Accessed October 22, 2015].
- Elliott, R. et al., 1995. Neuropsychological evidence for frontostriatal dysfunction in schizophrenia. *Psychological medicine*, 25(3), pp.619–30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7480441> [Accessed November 16, 2015].
- Elston, G.N. & Fujita, I., 2014. Pyramidal cell development: postnatal spinogenesis, dendritic growth, axon growth, and electrophysiology. *Frontiers in Neuroanatomy*, 8, p.78. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fnana.2014.00078>.
- Elston, G.N., Oga, T. & Fujita, I., 2009. Spinogenesis and Pruning Scales across Functional Hierarchies. *The Journal of Neuroscience*, 29(10), pp.3271–3275. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.5216-08.2009>.
- English, H.B., and E. A.C., 1958. A comprehensive dictionary of psychological and psychoanalytic terms. *New York: David McKay*.
- Ennaceur, A. & Delacour, J., 1988. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural brain research*, 31(1), pp.47–59. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3228475> [Accessed April 30, 2015].
- Ennaceur, A., Neave, N. & Aggleton, J.P., 1996. Neurotoxic lesions of the perirhinal cortex do not mimic the behavioural effects of fornix transection in the rat. *Behavioural brain research*, 80(1-2), pp.9–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8905124> [Accessed November 15, 2015].
- Ennaceur, A., Neave, N. & Aggleton, J.P., 1997. Spontaneous object recognition and object location memory in rats: the effects of lesions in the cingulate cortices, the medial prefrontal cortex, the cingulum bundle and the fornix. *Experimental brain research*, 113(3), pp.509–19. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9108217> [Accessed November 14, 2015].

- Erskine, M.S., Denenberg, V.H. & Goldman, B.D., 1978. Aggression in the lactating rat: effects of intruder age and test arena. *Behavioral biology*, 23(1), pp.52–66. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/567058> [Accessed November 6, 2015].
- Esteban, J.A. et al., 2003. PKA phosphorylation of AMPA receptor subunits controls synaptic trafficking underlying plasticity. *Nature neuroscience*, 6(2), pp.136–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12536214> [Accessed September 28, 2015].
- Euston, D.R., Gruber, A.J. & McNaughton, B.L., 2012. The Role of Medial Prefrontal Cortex in Memory and Decision Making. *Neuron*, 76(6), pp.1057–1070. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.002>.
- Evans, R.C. et al., 2012. The effects of NMDA subunit composition on calcium influx and spike timing-dependent plasticity in striatal medium spiny neurons. *PLoS computational biology*, 8(4), p.e1002493. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3334887&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Fabricius, K. et al., 2010. Increased dopaminergic activity in socially isolated rats: an electrophysiological study. *Neuroscience letters*, 482(2), pp.117–122. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2010.07.014>.
- Fabricius, K. et al., 2011. Socially isolated rats exhibit changes in dopamine homeostasis pertinent to schizophrenia. *International journal of developmental neuroscience: the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, 29(3), pp.347–50. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20884342> [Accessed November 15, 2015].
- Faccidomo, S., Bannai, M. & Miczek, K.A., 2008. Escalated aggression after alcohol drinking in male mice: dorsal raphe and prefrontal cortex serotonin and 5-HT(1B) receptors. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 33(12), pp.2888–99. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18305458> [Accessed October 29, 2015].
- Falconer, B.D.S., 1945. ( M U S M U S C U L U S L . ) Genetics Laboratory , Animal B , reeding and Genetics Research O ~ yanizatim ~ , Institute of : Animal Genetics , West Mains Road , Edinbu , ~ yh 9 The symptoms shown by Trembler heterozygotes appear first when the eyes have o.
- Falconer, D.S., 1951. Two new mutants, “trembler” and “reeler”, with neurological actions in the house mouse (*Mus musculus* L.). *Journal of genetics*, 50(2), pp.192–201. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24539699> [Accessed November 15, 2015].
- Fales, C.L. et al., 2008. Altered emotional interference processing in affective and cognitive-control brain circuitry in major depression. *Biological psychiatry*, 63(4), pp.377–84. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2268639&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed September 24, 2015].
- Farber, N.B., 2003. The NMDA receptor hypofunction model of psychosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1003, pp.119–30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14684440> [Accessed November 16, 2015].
- Farovik, A. et al., 2008. Medial prefrontal cortex supports recollection, but not familiarity, in the rat. *Journal of Neuroscience*, 28(50), pp.13428–13434. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-58149397547&partnerID=40&md5=5adc3fa28e141a0f3d631f02372ed643>.
- Fatemi, S.H., 2005. Reelin glycoprotein in autism and schizophrenia. *International review of neurobiology*, 71, pp.179–87. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16512351> [Accessed November 3, 2015].
- Fatemi, S.H., 2001a. Reelin mutations in mouse and man: from reeler mouse to schizophrenia, mood disorders, autism and lissencephaly. *Molecular Psychiatry*, 6(2). Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.mp.4000129>.

- Fatemi, S.H., 2001b. Reelin mutations in mouse and man: from reeler mouse to schizophrenia, mood disorders, autism and lissencephaly. *Molecular psychiatry*, 6(2), pp.129–133.
- Fatemi, S.H., Earle, J.A. & McMenomy, T., 2000. Reduction in Reelin immunoreactivity in hippocampus of subjects with schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *Molecular psychiatry*, 5(6), pp.654–63, 571. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11126396> [Accessed October 30, 2015].
- Fatemi, S.H., Sary, J.M. & Egan, E.A., 2002. Reduced blood levels of reelin as a vulnerability factor in pathophysiology of autistic disorder. *Cellular and molecular neurobiology*, 22(2), pp.139–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12363196> [Accessed November 16, 2015].
- Febo, M., 2011. Prefrontal cell firing in male rats during approach towards sexually receptive female: Interactions with cocaine. *Synapse*. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/syn.20843>.
- Feldman, D.E., 2012. The spike-timing dependence of plasticity. *Neuron*, 75(4), pp.556–71. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3431193&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed January 12, 2015].
- Feldman, M., 1984. Morphology of the neocortical pyramidal neuron. *Cerebral cortex*, 1.
- Feleder, C. et al., 2010. Neonatal intrahippocampal immune challenge alters dopamine modulation of prefrontal cortical interneurons in adult rats. *Biological psychiatry*, 67(4), pp.386–92. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2900781&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Fellows, L.K., 2007. Advances in understanding ventromedial prefrontal function: the accountant joins the executive. *Neurology*, 68(13), pp.991–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17389302> [Accessed November 14, 2015].
- Ferdman, N. et al., 2007. Weaning age, social isolation, and gender, interact to determine adult explorative and social behavior, and dendritic and spine morphology in prefrontal cortex of rats. *Behavioural brain research*, 180(2), pp.174–82. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17477981> [Accessed November 16, 2015].
- Ferland, C.L. & Schrader, L.A., 2011. Cage mate separation in pair-housed male rats evokes an acute stress corticosterone response. *Neuroscience letters*, 489(3), pp.154–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3036983&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Fernandez-Espejo, E. et al., 2009. Role of cannabis and endocannabinoids in the genesis of schizophrenia. *Psychopharmacology*, 206(4), pp.531–49. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19629449> [Accessed November 5, 2015].
- Fernández-Guasti, A. et al., 1994. Actions of sciatic nerve ligation on sexual behavior of sexually experienced and inexperienced male rats: effects of frontal pole decortication. *Physiology & behavior*, 55(3), pp.577–81. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8190779> [Accessed November 16, 2015].
- Ferris, C.F. et al., 1997. Vasopressin/serotonin interactions in the anterior hypothalamus control aggressive behavior in golden hamsters. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(11), pp.4331–40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9151749> [Accessed November 15, 2015].
- Feusner, J.D. et al., 2010. Abnormalities of visual processing and frontostriatal systems in body dysmorphic disorder. *Archives of general psychiatry*, 67(2), pp.197–205. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2853756&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].

- Figueiredo, H.F. et al., 2003. Stress integration after acute and chronic predator stress: differential activation of central stress circuitry and sensitization of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrinology*, 144(12), pp.5249–58. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12960031> [Accessed November 16, 2015].
- Fishell, G. & Rudy, B., 2011. Mechanisms of Inhibition within the Telencephalon: {“Where} the Wild Things Are.” *Neuroscience*, 34(1), pp.535–567. Available at: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113717>.
- Fitzgerald, M.L., Mackie, K. & Pickel, V.M., 2013. The impact of adolescent social isolation on dopamine D2 and cannabinoid {CB1} receptors in the adult rat prefrontal cortex. *Neuroscience*, 235. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.01.021>.
- Flaherty, L. et al., 1992. Chlorambucil-induced mutations in mice recovered in homozygotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(7), pp.2859–63. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=48762&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Flores, G. et al., 2005. Comparative behavioral changes in postpubertal rats after neonatal excitotoxic lesions of the ventral hippocampus and the prefrontal cortex. *Synapse*, 56(3). Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/syn.20140>.
- Floresco, S.B., 2014. The Nucleus Accumbens: An Interface Between Cognition, Emotion, and Action. *Annual review of psychology*, 66, pp.25–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25251489> [Accessed November 21, 2014].
- Floresco, S.B., Seamans, J.K. & Phillips, A.G., 1997. Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial-arm maze tasks with or without a delay. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(5), pp.1880–90. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9030646> [Accessed November 15, 2015].
- Folsom, T.D. & Fatemi, S.H., 2013. The involvement of Reelin in neurodevelopmental disorders. *Neuropharmacology*, 68, pp.122–35. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3632377&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 13, 2015].
- Fone, K.C.F. & Porkess, M. V, 2008. Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents—relevance to developmental neuropsychiatric disorders.
- Fone, K.C.F. & Porkess, M.V., 2008. Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents—Relevance to developmental neuropsychiatric disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32(6), pp.1087–1102. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763408000353>.
- Fortin, N.J., Wright, S.P. & Eichenbaum, H., 2004. Recollection-like memory retrieval in rats is dependent on the hippocampus. *Nature*, 431(7005), pp.188–91. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4053162&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 3, 2015].
- Forwood, S.E., Winters, B.D. & Bussey, T.J., 2005. Hippocampal lesions that abolish spatial maze performance spare object recognition memory at delays of up to 48 hours. *Hippocampus*, 15(3), pp.347–55. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15558543> [Accessed November 15, 2015].
- Fossati, P., 2012. Neural correlates of emotion processing: from emotional to social brain. *European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 22 Suppl 3, pp.S487–S491. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2012.07.008>.
- Foy, M.R. et al., 1987. Behavioral stress impairs long-term potentiation in rodent hippocampus. *Behavioral and neural biology*, 48(1), pp.138–49. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2820370> [Accessed November 16,

2015].

- Franco, S.J. et al., 2011. Reelin regulates cadherin function via Dab1/Rap1 to control neuronal migration and lamination in the neocortex. *Neuron*, 69(3), pp.482–97. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3056352&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Frankland, P.W., 2004. The Involvement of the Anterior Cingulate Cortex in Remote Contextual Fear Memory. *Science*, 304(5672), pp.881–883. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15131309> [Accessed October 3, 2015].
- Frotscher, M., 2010. Role for Reelin in stabilizing cortical architecture. *Trends in neurosciences*, 33(9), pp.407–14. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20598379> [Accessed November 4, 2015].
- Fujisawa, S. & Buzsáki, G., 2011. A 4 Hz oscillation adaptively synchronizes prefrontal, VTA, and hippocampal activities. *Neuron*, 72(1), pp.153–65. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3235795&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Fulford, A.J. & Marsden, C.A., 1997. Effect of isolation-rearing on noradrenaline release in rat hypothalamus and hippocampus in vitro. *Brain research*, 748(1-2), pp.93–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9067449> [Accessed November 16, 2015].
- Fuster, J.M., 1997. Network memory. *Trends in Neurosciences*, (20), pp.451–459.
- Fuster, J.M., 1991. The prefrontal cortex and its relation to behavior. *Progress in brain research*, 87, pp.201–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1907745> [Accessed November 16, 2015].
- Fuxjager, M.J. et al., 2010. Winning territorial disputes selectively enhances androgen sensitivity in neural pathways related to motivation and social aggression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(27), pp.12393–12398. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2901436&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 2, 2015].
- Gabbott, P. et al., 2005. Prefrontal cortex in the rat: Projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *Journal of Comparative Neurology*, 492(2), pp.145–177. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/cne.20738>.
- Gabbott, P.L. et al., 1997. Local-circuit neurones in the medial prefrontal cortex (areas 25, 32 and 24b) in the rat: morphology and quantitative distribution. *The Journal of comparative neurology*, 377(4), pp.465–99. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9007187> [Accessed November 15, 2015].
- Gadek-Michalska, A. & Bugajski, J., 2003. Repeated handling, restraint, or chronic crowding impair the hypothalamic-pituitary-adrenocortical response to acute restraint stress. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society*, 54(3), pp.449–59. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14566082> [Accessed November 16, 2015].
- Gainetdinov, R.R., Mohn, A.R. & Caron, M.G., 2001. Genetic animal models: focus on schizophrenia. *Trends in neurosciences*, 24(9), pp.527–33. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11506886> [Accessed November 16, 2015].
- Galarreta, M. et al., 2008. Cannabinoid sensitivity and synaptic properties of 2 GABAergic networks in the neocortex. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 18(10), pp.2296–305. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2536700&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Gallagher, S.M. et al., 2007. A comparison of smoking cessation treatments for persons with schizophrenia and other serious mental illnesses. *Journal of psychoactive drugs*, 39(4), pp.487–97. Available at:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18303706> [Accessed November 16, 2015].

- Gammie, S.C. et al., 2004. Corticotropin-releasing factor inhibits maternal aggression in mice. *Behavioral neuroscience*, 118(4), pp.805–14. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15301606> [Accessed November 15, 2015].
- Gander, M.J. and H.W.G., 1981. Child and adolescent development. *Boston: Little, Brown and Company*.
- Gao, Z. & Godbout, R., 2013. Reelin-Disabled-1 signaling in neuronal migration: splicing takes the stage. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 70(13), pp.2319–29. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4457513&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 16, 2015].
- Gardner, R., 1988. Psychiatric syndromes as infrastructure for intraspecific communications. In L. A. Erlbaum, ed. *Social Fabric of the Mind*.
- Garey, L.J. et al., 1998. Reduced dendritic spine density on cerebral cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 65(4), pp.446–53. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2170311&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 21, 2015].
- Garrido, P. et al., 2013. Differential effects of environmental enrichment and isolation housing on the hormonal and neurochemical responses to stress in the prefrontal cortex of the adult rat: relationship to working and emotional memories. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 120(5), pp.829–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23254925> [Accessed October 6, 2015].
- Gatto, C.L. & Broadie, K., 2010. Genetic controls balancing excitatory and inhibitory synaptogenesis in neurodevelopmental disorder models. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 2, p.4. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fnsyn.2010.00004>.
- Gaykema, R.P.A. et al., 2014. Characterization of excitatory and inhibitory neuron activation in the mouse medial prefrontal cortex following palatable food ingestion and food driven exploratory behavior. *Frontiers in neuroanatomy*, 8, p.60. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4076747&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 9, 2015].
- Gentsch, C., Lichtsteiner, M., Kraeuchi, K., et al., 1982. Different reaction patterns in individually and socially reared rats during exposures to novel environments. *Behavioural brain research*, 4(1), pp.45–54. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7055501> [Accessed August 13, 2015].
- Gentsch, C., Lichtsteiner, M. & Feer, H., 1982. Behavioural comparisons between individually- and group-housed male rats: effects of novel environments and diurnal rhythm. *Behavioural brain research*, 6(1), pp.93–100. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7126327> [Accessed November 16, 2015].
- Gentsch, C., Lichtsteiner, M. & Feer, H., 1983. Individually housed rats exceed group-housed animals in rotational movements when exposed to a novel environment. *Experientia*, 39(12), pp.1412–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6653734> [Accessed November 16, 2015].
- Gentsch, C., Lichtsteiner, M. & Feer, H., 1981. Locomotor activity, defecation score and corticosterone levels during an openfield exposure: a comparison among individually and group-housed rats, and genetically selected rat lines. *Physiology & behavior*, 27(1), pp.183–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7196593> [Accessed October 5, 2015].
- Geschwind, D.H. & Levitt, P., 2007. Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. *Current opinion in neurobiology*, 17(1), pp.103–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17275283> [Accessed November 10, 2014].

- Geyer, M.A. et al., 1993. Isolation rearing of rats produces a deficit in prepulse inhibition of acoustic startle similar to that in schizophrenia. *Biological psychiatry*, 34(6), pp.361–72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8218603> [Accessed October 6, 2015].
- Geyer, M.A. et al., 2001. Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: a decade in review. *Psychopharmacology*, 156(2-3), pp.117–54. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11549216> [Accessed November 16, 2015].
- Geyer, M.A., McIlwain, K.L. & Paylor, R., 2002. Mouse genetic models for prepulse inhibition: an early review. *Molecular Psychiatry*, 7(10), pp.1039–1053. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12476318> [Accessed September 30, 2015].
- Gheusi, G. et al., 2000. Importance of newly generated neurons in the adult olfactory bulb for odor discrimination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(4), pp.1823–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=26520&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 6, 2015].
- Gilbert-Juan, J., Moltó, M. & Nacher, J., 2012. Post-weaning social isolation rearing influences the expression of molecules related to inhibitory neurotransmission and structural plasticity in the amygdala of adult rats. *Brain research*, 1448, pp.129–136. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2012.01.073>.
- Gil-Ad, I. et al., 1986. Diurnal rhythm of plasma beta endorphin, cortisol and growth hormone in schizophrenics as compared to control subjects. *Psychopharmacology*, 88(4), pp.496–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2939487> [Accessed November 16, 2015].
- Gilmartin, M.R. et al., 2013. Prefrontal activity links nonoverlapping events in memory. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 33(26), pp.10910–10914. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0144-13.2013>.
- Gilmartin, M.R. & Helmstetter, F.J., 2010. Trace and contextual fear conditioning require neural activity and {NMDA} receptor-dependent transmission in the medial prefrontal cortex. *Learning & memory {(Cold) Spring Harbor, {N.Y.}}*, 17(6), pp.289–296. Available at: <http://dx.doi.org/10.1101/lm.1597410>.
- Gilmartin, M.R. & McEchron, M.D., 2005. Single neurons in the medial prefrontal cortex of the rat exhibit tonic and phasic coding during trace fear conditioning. *Behavioral neuroscience*, 119(6), pp.1496–510. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16420154> [Accessed November 15, 2015].
- Glantz, L.A. & Lewis, D.A., 2000. Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Archives of general psychiatry*, 57(1), pp.65–73. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10632234> [Accessed November 5, 2015].
- Gobrogge, K.L. et al., 2009. Anterior hypothalamic vasopressin regulates pair-bonding and drug-induced aggression in a monogamous rodent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(45), pp.19144–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2776424&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Goffinet, A.M. et al., 1999. Reelin expression during embryonic brain development in lacertilian lizards. *The Journal of comparative neurology*, 414(4), pp.533–50. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10531544> [Accessed November 15, 2015].
- Goffinet, A.M., 1992. The reeler gene: a clue to brain development and evolution. *The International journal of developmental biology*, 36(1), pp.101–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1627461> [Accessed November 15, 2015].

- Goffinet, A.M. & Deroncourt, C., 1991. Localization of the reeler gene relative to flanking loci on mouse chromosome 5. *Mammalian genome : official journal of the International Mammalian Genome Society*, 1(2), pp.100–3. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1686837> [Accessed November 15, 2015].
- Gogolla, N. et al., 2009. Perineuronal Nets Protect Fear Memories from Erasure. *Science*, 325(5945), pp.1258–1261. Available at: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1174146>.
- Gogtay, N. et al., 2004. Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(21), pp.8174–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=419576&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed December 6, 2014].
- Goldman-Rakic, P.S., 1995. Architecture of the prefrontal cortex and the central executive. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 769, pp.71–83. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8595045> [Accessed November 16, 2015].
- Goldman-Rakic, P.S., Selemon, L.D. & Schwartz, M.L., 1984. Dual pathways connecting the dorsolateral prefrontal cortex with the hippocampal formation and parahippocampal cortex in the rhesus monkey. *Neuroscience*, 12(3), pp.719–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6472617> [Accessed November 15, 2015].
- Gonzalez, C. et al., 2013. Medial prefrontal cortex is a crucial node of a rapid learning system that retrieves recent and remote memories. *Neurobiology of Learning and Memory*. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2013.04.006>.
- Gonzalez-Burgos, G. et al., 2014. Functional Maturation of GABA Synapses During Postnatal Development of the Monkey Dorsolateral Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex*, (November), pp.4076–4093. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24904071>.
- Gonzalez-Burgos, G. & Lewis, D.A., 2008. GABA neurons and the mechanisms of network oscillations: implications for understanding cortical dysfunction in schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 34(5), pp.944–61. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2518635&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Gordon, N.S. et al., 2002. Expression of c-fos gene activation during rough and tumble play in juvenile rats. *Brain research bulletin*, 57(5), pp.651–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11927369> [Accessed November 15, 2015].
- Gorelova, N., Seamans, J.K. & Yang, C.R., 2002. Mechanisms of Dopamine Activation of {Fast-Spiking} Interneurons That Exert Inhibition in Rat Prefrontal Cortex. *Journal of Neurophysiology*. Available at: <http://dx.doi.org/10.1152/jn.00335.2002>.
- Goto, Y. & Grace, A.A., 2008. Dopamine modulation of hippocampal-prefrontal cortical interaction drives memory-guided behavior. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 18(6), pp.1407–14. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2892381&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Gotthardt, M. et al., 2000. Interactions of the low density lipoprotein receptor gene family with cytosolic adaptor and scaffold proteins suggest diverse biological functions in cellular communication and signal transduction. *The Journal of biological chemistry*, 275(33), pp.25616–24. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10827173> [Accessed November 15, 2015].
- de Graaf-Peters, V.B. & Hadders-Algra, M., 2006. Ontogeny of the human central nervous system: what is happening when? *Early human development*, 82(4), pp.257–66. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16360292> [Accessed September 16, 2015].
- Granon, S. et al., 1996. Effortful information processing in a spontaneous spatial situation by rats with medial prefrontal

- lesions. *Behavioural brain research*, 78(2), pp.147–54. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8864046> [Accessed November 15, 2015].
- Grant, N., Hamer, M. & Steptoe, A., 2009. Social isolation and stress-related cardiovascular, lipid, and cortisol responses. *Annals of behavioral medicine : a publication of the Society of Behavioral Medicine*, 37(1), pp.29–37. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19194770> [Accessed November 16, 2015].
- Grassian, S., 1983. Psychopathological effects of solitary confinement. *The American journal of psychiatry*, 140(11), pp.1450–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6624990> [Accessed November 16, 2015].
- Gray, J.A. & McNaughton, N., 1983. Comparison between the behavioural effects of septal and hippocampal lesions: a review. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 7(2), pp.119–88. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6348604> [Accessed November 9, 2015].
- Grayson, D.R. et al., 2006. The human reelin gene: transcription factors (+), repressors (-) and the methylation switch (+/-) in schizophrenia. *Pharmacology & therapeutics*, 111(1), pp.272–86. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16574235> [Accessed November 2, 2015].
- Greene, R., 2001. Circuit analysis of NMDAR hypofunction in the hippocampus, in vitro, and psychosis of schizophrenia. *Hippocampus*, 11(5), pp.569–77. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11732709> [Accessed November 16, 2015].
- Greer, J.M. & Wynshaw-Boris, A., 2006. Pten and the brain: sizing up social interaction. *Neuron*, 50(3), pp.343–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16675386> [Accessed November 15, 2015].
- Gresack, J. et al., 2010. {CRF2} null mutation increases sensitivity to isolation rearing effects on locomotor activity in mice. *Neuropeptides*, 44(4), pp.349–353. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.npep.2010.04.005>.
- Gresack, J. et al., 2011. NIH Public Access. , 44(4), pp.349–353.
- Grippe, A.J. et al., 2007. Social isolation disrupts autonomic regulation of the heart and influences negative affective behaviors. *Biological psychiatry*, 62(10), pp.1162–70. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2144909&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed September 7, 2015].
- Grippe, A.J. et al., Social isolation induces behavioral and neuroendocrine disturbances relevant to depression in female and male prairie voles. *Psychoneuroendocrinology*, 32(8-10), pp.966–80. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2174914&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed September 28, 2015].
- Gritti, I. et al., 1997. GABAergic and other noncholinergic basal forebrain neurons, together with cholinergic neurons, project to the mesocortex and isocortex in the rat. *The Journal of comparative neurology*, 383(2), pp.163–77. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9182846> [Accessed November 14, 2015].
- Groc, L. et al., 2007. {NMDA} Receptor Surface Trafficking and Synaptic Subunit Composition Are Developmentally Regulated by the Extracellular Matrix Protein Reelin. *The Journal of Neuroscience*, 27(38), pp.10165–10175. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1772-07.2007>.
- Groc, L. et al., 2004. Differential activity-dependent regulation of the lateral mobilities of AMPA and NMDA receptors. *Nature neuroscience*, 7(7), pp.695–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15208630> [Accessed November 15, 2015].
- Groc, L. et al., 2007. NMDA Receptor Surface Trafficking and Synaptic Subunit Composition Are Developmentally Regulated by the Extracellular Matrix Protein Reelin. *Journal of Neuroscience*, 27(38), pp.10165–10175. Available at: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.1772-07.2007>.

- Groc, L., Gustafsson, B. & Hanse, E., 2006. AMPA signalling in nascent glutamatergic synapses: there and not there! *Trends in neurosciences*, 29(3), pp.132–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16443288> [Accessed November 16, 2015].
- Groenewegen, H.J. & Uylings, H.B., 2000. The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Progress in brain research*, 126, pp.3–28. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11105636> [Accessed September 16, 2015].
- Groos, K., 1898. The play of animals. *New York: D. Appleton*.
- Gross, J., 1998. The emerging field of emotion regulation: an integrative review. *Review of General Psychology*, 2(3), pp.271–299.
- Gruber, A.J. et al., 2010. More is less: a disinhibited prefrontal cortex impairs cognitive flexibility. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(50), pp.17102–10. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3073623&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Guidotti, A. et al., 2000. Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: a postmortem brain study. *Archives of general psychiatry*, 57(11), pp.1061–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11074872> [Accessed November 16, 2015].
- Guidotti, A. et al., 2005. GABAergic dysfunction in schizophrenia: new treatment strategies on the horizon. *Psychopharmacology*, 180(2), pp.191–205. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15864560> [Accessed November 15, 2015].
- Hack, I. et al., 2002. Reelin is a detachment signal in tangential chain-migration during postnatal neurogenesis. *Nature neuroscience*, 5(10), pp.939–45. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12244323> [Accessed November 15, 2015].
- Hadj-Sahraoui, N. et al., 2009. Gender Effect on Purkinje Cell Loss in the Cerebellum of the Heterozygous Reeler Mouse. *Journal of Neurogenetics*. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/01677069609107062> [Accessed November 15, 2015].
- Halász, J. et al., 2006. The activation of prefrontal cortical neurons in aggression--a double labeling study. *Behavioural brain research*, 175(1), pp.166–75. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16978716> [Accessed November 15, 2015].
- Hall, B.J. & Ghosh, A., 2008. Regulation of AMPA receptor recruitment at developing synapses. *Trends in neurosciences*, 31(2), pp.82–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18201773> [Accessed November 15, 2015].
- Hall, F.S. et al., 2000. Differential basis of strain and rearing effects on open-field behavior in Fawn Hooded and Wistar rats. *Physiology & behavior*, 71(5), pp.525–32. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11239671> [Accessed November 16, 2015].
- Hall, F.S., 1998. Social deprivation of neonatal, adolescent, and adult rats has distinct neurochemical and behavioral consequences. *Critical reviews in neurobiology*, 12(1-2), pp.129–62. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9444483> [Accessed November 16, 2015].
- Haller, J. et al., 2006. Patterns of violent aggression-induced brain c-fos expression in male mice selected for aggressiveness. *Physiology & behavior*, 88(1-2), pp.173–82. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16687160> [Accessed November 15, 2015].
- Hamani, C. et al., 2010. Antidepressant-like effects of medial prefrontal cortex deep brain stimulation in rats. *Biological psychiatry*, 67(2), pp.117–24. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19819426> [Accessed September 14,

2015].

- Hampton, R.R. & Schwartz, B.L., 2004. Episodic memory in nonhumans: what, and where, is when? *Current Opinion in Neurobiology*, 14(2). Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.conb.2004.03.006>.
- Han, X. et al., 2011. Brief social isolation in early adolescence affects reversal learning and forebrain BDNF expression in adult rats. *Brain research bulletin*, 86(3-4), pp.173–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21801814> [Accessed November 15, 2015].
- Hannesson, D.K., Howland, J.G. & Phillips, A.G., 2004. Interaction between Perirhinal and Medial Prefrontal Cortex Is Required for Temporal Order But Not Recognition Memory for Objects in Rats. *The Journal of Neuroscience*, 24(19), pp.4596–4604. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5517-03.2004>.
- Harris, K.D. & Shepherd, G.M.G., 2015. The neocortical circuit: themes and variations. *Nature Neuroscience*, 18(2), pp.170–181. Available at: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nn.3917>.
- Harris, K.M. & Kater, S.B., 1994. Dendritic spines: cellular specializations imparting both stability and flexibility to synaptic function. *Annual review of neuroscience*, 17, pp.341–71. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8210179> [Accessed November 16, 2015].
- Harrison, A.A., Everitt, B.J. & Robbins, T.W., 1997. Central 5-HT depletion enhances impulsive responding without affecting the accuracy of attentional performance: interactions with dopaminergic mechanisms. *Psychopharmacology*, 133(4), pp.329–42. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9372531> [Accessed September 22, 2015].
- Harrison, P., 2004. The hippocampus in schizophrenia: a review of the neuropathological evidence and its pathophysiological implications. *Psychopharmacology*, 174(1), pp.151–62. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15205886> [Accessed September 3, 2015].
- Harrison, P.J., McLaughlin, D. & Kerwin, R.W., 1991. Decreased hippocampal expression of a glutamate receptor gene in schizophrenia. *Lancet (London, England)*, 337(8739), pp.450–2. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1671470> [Accessed November 16, 2015].
- Harrison, P.J. & Weinberger, D.R., 2005. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Molecular psychiatry*, 10(1), pp.40–68; image 5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15263907> [Accessed May 7, 2015].
- Harvey, C.D. & Svoboda, K., 2007. Locally dynamic synaptic learning rules in pyramidal neuron dendrites. *Nature*, 450(7173), pp.1195–200. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3425382&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 25, 2015].
- Hashimoto-Torii, K. et al., 2008. Interaction between Reelin and Notch signaling regulates neuronal migration in the cerebral cortex. *Neuron*, 60(2), pp.273–84. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2913541&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Haut, M.W. et al., 1996. On the nature of Wisconsin Card Sorting Test performance in schizophrenia. *Psychiatry research*, 65(1), pp.15–22. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8953657> [Accessed November 16, 2015].
- Hawley, L.C. et al., 2012a. Effects of social isolation on glucocorticoid regulation in social mammals. *Hormones and behavior*, 62(3), pp.314–23. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0018506X12001523>.
- Hawley, L.C. et al., 2012b. Effects of social isolation on glucocorticoid regulation in social mammals. *Hormones and behavior*, 62(3), pp.314–323. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yhbeh.2012.05.011>.
- Hawley, L.C. & Cacioppo, J.T., 2010. Loneliness matters: a theoretical and empirical review of consequences and

- mechanisms. *Annals of behavioral medicine : a publication of the Society of Behavioral Medicine*, 40(2), pp.218–27. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3874845&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 5, 2015].
- Hay, N. & Sonenberg, N., 2004. Upstream and downstream of mTOR. *Genes & development*, 18(16), pp.1926–45. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15314020> [Accessed July 11, 2014].
- Hayley, S. et al., 2005. The pathogenesis of clinical depression: stressor- and cytokine-induced alterations of neuroplasticity. *Neuroscience*, 135(3), pp.659–78. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16154288> [Accessed November 16, 2015].
- Heidbreder, C.A. et al., 2000. Behavioral, neurochemical and endocrinological characterization of the early social isolation syndrome. *Neuroscience*, 100(4), pp.749–68. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11036209> [Accessed November 15, 2015].
- Heidbreder, C.A. & Groenewegen, H.J., 2003. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 27(6), pp.555–579.
- Heinrich, L.M. & Gullone, E., 2006. The clinical significance of loneliness: a literature review. *Clinical psychology review*, 26(6), pp.695–718. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16952717> [Accessed July 13, 2014].
- Hellems, K.G.C., Bengel, L.C. & Olmstead, M.C., 2004. Adolescent enrichment partially reverses the social isolation syndrome. *Developmental Brain Research*, 150(2), pp.103–115.
- Hellwig, S. et al., 2011. Role for Reelin in Neurotransmitter Release. *Journal of Neuroscience*, 31(7), pp.2352–2360. Available at: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.3984-10.2011>.
- Hellwig, S. et al., 2011. Role for Reelin in Neurotransmitter Release. *The Journal of Neuroscience*, 31(7), pp.2352–2360. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3984-10.2011>.
- Hendricks, S.E. & Scheetz, H.A., 1973. Interaction of hypothalamic structures in the mediation of male sexual behavior. *Physiology & behavior*, 10(4), pp.711–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4575407> [Accessed November 16, 2015].
- Hennessy, M.B., Maken, D.S. & Graves, F.C., 2000. Consequences of the presence of the mother or unfamiliar adult female on cortisol, ACTH, testosterone and behavioral responses of periadolescent guinea pigs during exposure to novelty. *Psychoneuroendocrinology*, 25(6), pp.619–32. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10840173> [Accessed November 16, 2015].
- Hennessy, M.B., Maken, D.S. & Graves, F.C., 2002. Presence of mother and unfamiliar female alters levels of testosterone, progesterone, cortisol, adrenocorticotropin, and behavior in maturing Guinea pigs. *Hormones and behavior*, 42(1), pp.42–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12191646> [Accessed November 16, 2015].
- Herdegen, T. & Leah, J.D., 1998. Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREB/ATF proteins. *Brain research. Brain research reviews*, 28(3), pp.370–490. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9858769> [Accessed November 16, 2015].
- Hering, H. & Sheng, M., 2001. DENDRITIC SPINES: STRUCTURE, DYNAMICS AND REGULATION. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(12), pp.880–888. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11733795> [Accessed October 2, 2015].
- Herman, J.P. et al., 2003. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Frontiers in neuroendocrinology*, 24(3), pp.151–80. Available at:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14596810> [Accessed October 7, 2015].

- Herman, J.P. & Cullinan, W.E., 1997. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends in neurosciences*, 20(2), pp.78–84. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9023876> [Accessed November 16, 2015].
- Hermes, G. et al., 2011. Post-weaning chronic social isolation produces profound behavioral dysregulation with decreases in prefrontal cortex synaptic-associated protein expression in female rats. *Physiology & Behavior*, 104(2), pp.354–359. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.12.019>.
- Hermes, G.L. et al., 2005. Social isolation and the inflammatory response: sex differences in the enduring effects of a prior stressor. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 290(2), pp.R273–R282. Available at: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpregu.00368.2005>.
- Hernández-González, M. et al., 2007. Different functionality of the medial and orbital prefrontal cortex during a sexually motivated task in rats. *Physiology & behavior*, 90(2-3), pp.450–458. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.10.006>.
- Herry, C. et al., 2010. Neuronal circuits of fear extinction. *The European journal of neuroscience*, 31(4), pp.599–612. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20384807> [Accessed November 9, 2015].
- Herz, J. & Chen, Y., 2006. Reelin, lipoprotein receptors and synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(11), pp.850–859. Available at: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrn2009>.
- Hicks, J.L., Cook, G.I. & Marsh, R.L., 2005. Detecting event-based prospective memory cues occurring within and outside the focus of attention. *The American journal of psychology*, 118(1), pp.1–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15822607> [Accessed November 15, 2015].
- Hiesberger, T. et al., 1999. Direct binding of Reelin to VLDL receptor and ApoE receptor 2 induces tyrosine phosphorylation of disabled-1 and modulates tau phosphorylation. *Neuron*, 24(2), pp.481–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10571241> [Accessed October 16, 2015].
- Higley, J.D., Suomi, S.J. & Linnoila, M., 1992. A longitudinal assessment of CSF monoamine metabolite and plasma cortisol concentrations in young rhesus monkeys. *Biological psychiatry*, 32(2), pp.127–45. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1384725> [Accessed November 16, 2015].
- Higo, S. et al., 2009. Subtypes of GABAergic neurons project axons in the neocortex. *Frontiers in neuroanatomy*, 3, p.25. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2776478&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Hikosaka, O. & Isoda, M., 2010. Switching from automatic to controlled behavior: cortico-basal ganglia mechanisms. *Trends in cognitive sciences*, 14(4), pp.154–61. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2847883&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Hilakivi, L.A., Ota, M. & Lister, R.G., 1989. Effect of isolation on brain monoamines and the behavior of mice in tests of exploration, locomotion, anxiety and behavioral “despair”. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 33(2), pp.371–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2479036> [Accessed November 16, 2015].
- Hill, E.L. et al., 2007. Functional CB1 receptors are broadly expressed in neocortical GABAergic and glutamatergic neurons. *Journal of neurophysiology*, 97(4), pp.2580–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17267760> [Accessed November 15, 2015].
- Hirai, Y. et al., 2012. Specialized cortical subnetworks differentially connect frontal cortex to parahippocampal areas. *The*

*Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 32(5), pp.1898–1913. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2810-11.2012>.

- Hirata, Y. & Sawaguchi, T., 2008. Functional columns in the primate prefrontal cortex revealed by optical imaging in vitro. *Neuroscience research*, 61(1), pp.1–10. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neures.2008.01.003>.
- Hirayasu, Y. et al., 2001. Prefrontal gray matter volume reduction in first episode schizophrenia. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 11(4), pp.374–81. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11278200> [Accessed November 16, 2015].
- Hirotsune, S. et al., 1995. The reeler gene encodes a protein with an EGF-like motif expressed by pioneer neurons. *Nature genetics*, 10(1), pp.77–83. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7647795> [Accessed November 15, 2015].
- Hirsjärvi, P.A., Junnila, M.A. & Väliaho, T.U., 1990. Gentled and non-handled rats in a stressful open-field situation; differences in performance. *Scandinavian journal of psychology*, 31(4), pp.259–65. Available at: <http://lan.sagepub.com/content/41/2/161.full.pdf> [Accessed November 16, 2015].
- Hoe, H.-S. et al., 2006. DAB1 and Reelin effects on amyloid precursor protein and ApoE receptor 2 trafficking and processing. *The Journal of biological chemistry*, 281(46), pp.35176–85. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16951405> [Accessed November 15, 2015].
- Hoeffler, C.A. & Klann, E., 2010. {mTOR} signaling: At the crossroads of plasticity, memory and disease. *Trends in Neurosciences*, 33(2). Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2009.11.003>.
- Hoffman, R.E., 2007. A social deafferentation hypothesis for induction of active schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 33(5), pp.1066–70. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2632342&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Hol, T. et al., 1999. Isolation during the play period in infancy decreases adult social interactions in rats. *Behavioural Brain Research*, 100(1-2), p.9197. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328\(98\)00116-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328(98)00116-8).
- Holahan, M.R. & Routtenberg, A., 2007. Post-translational synaptic protein modification as substrate for long-lasting, remote memory: an initial test. *Hippocampus*, 17(2), pp.93–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17111412> [Accessed November 15, 2015].
- Hong, S.E. et al., 2000. Autosomal recessive lissencephaly with cerebellar hypoplasia is associated with human RELN mutations. *Nature genetics*, 26(1), pp.93–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10973257> [Accessed October 30, 2015].
- Hoover, W.B. & Vertes, R.P., 2011. Collateral projections from nucleus reuniens of thalamus to hippocampus and medial prefrontal cortex in the rat: a single and double retrograde fluorescent labeling study. *Brain Structure and Function*, 217(2), pp.191–209. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21918815> [Accessed October 8, 2015].
- Howell, B.W. et al., 1999. The disabled 1 phosphotyrosine-binding domain binds to the internalization signals of transmembrane glycoproteins and to phospholipids. *Molecular and cellular biology*, 19(7), pp.5179–88. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=84361&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Howell, B.W., Gertler, F.B. & Cooper, J.A., 1997. Mouse disabled (mDab1): a Src binding protein implicated in neuronal development. *The EMBO journal*, 16(1), pp.121–32. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1169619&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].

- Huang, W. et al., 2013. mTORC2 controls actin polymerization required for consolidation of long-term memory. *Nature neuroscience*, 16(4), pp.441–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3615448&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> <http://dx.doi.org/10.1038/nn.3351>.
- Hughes, R.N. & Syme, L.A., 1972. The role of social isolation and sex in determining effects of chlordiazepoxide and methylphenidate on exploratory behaviour. *Psychopharmacologia*, 27(4), pp.359–66. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4648619> [Accessed November 16, 2015].
- Huttenlocher, P.R., 1979. Synaptic density in human frontal cortex - developmental changes and effects of aging. *Brain research*, 163(2), pp.195–205. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/427544> [Accessed September 21, 2015].
- Huttenlocher, P.R. & Dabholkar, A.S., 1997. Regional differences in synaptogenesis in human cerebral cortex. *The Journal of comparative neurology*, 387(2), pp.167–78. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9336221> [Accessed July 9, 2015].
- Hyman, J.M. et al., 2012. Contextual encoding by ensembles of medial prefrontal cortex neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(13), pp.5086–91. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3323965&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 3, 2015].
- Hyman, J.M. et al., 2005. Medial prefrontal cortex cells show dynamic modulation with the hippocampal theta rhythm dependent on behavior. *Hippocampus*, 15(6), pp.739–49. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16015622> [Accessed November 14, 2015].
- Iafrati, J. et al., 2014. Reelin, an extracellular matrix protein linked to early onset psychiatric diseases, drives postnatal development of the prefrontal cortex via GluN2B-NMDARs and the mTOR pathway. *Molecular psychiatry*, 19(4), pp.417–26. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3965840&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Ibi, D. et al., 2008. Social isolation rearing-induced impairment of the hippocampal neurogenesis is associated with deficits in spatial memory and emotion-related behaviors in juvenile mice. *Journal of neurochemistry*, 105(3), pp.921–32. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18182044> [Accessed September 29, 2015].
- Ikeda, Y. & Terashima, T., 1997. Expression of reelin, the gene responsible for the reeler mutation, in embryonic development and adulthood in the mouse. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 210(2), pp.157–72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9337136> [Accessed November 15, 2015].
- Impagnatiello, F. et al., 1998. A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(26), pp.15718–23. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=28110&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed September 28, 2015].
- Insel, T.R., 2010. Rethinking schizophrenia. *Nature*, 468(7321), pp.187–93. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21068826> [Accessed July 11, 2014].
- Isaac, J.T., Nicoll, R.A. & Malenka, R.C., 1995. Evidence for silent synapses: implications for the expression of LTP. *Neuron*, 15(2), pp.427–34. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7646894> [Accessed October 8, 2015].
- Isaacson, R.L., 1984. Hippocampal damage: effects on dopaminergic systems of the basal ganglia. *International review of neurobiology*, 25, pp.339–59. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6088414> [Accessed November 16,

2015].

- Isosaka, T., Hattori, K. & Yagi, T., 2006. NMDA-receptor proteins are upregulated in the hippocampus of postnatal heterozygous reeler mice. *Brain research*, 1073-1074, pp.11–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16438943> [Accessed November 15, 2015].
- Izaki, Y., Hori, K. & Nomura, M., 2000. Disturbance of rat lever-press learning by hippocampo-prefrontal disconnection. *Brain research*, 860(1-2), pp.199–202. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10727644> [Accessed November 14, 2015].
- Jacinto, E. et al., 2004. Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. *Nature cell biology*, 6(11), pp.1122–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15467718> [Accessed October 20, 2015].
- Jaffee, W.B. et al., 2009. Depression precipitated by alcohol use in patients with co-occurring bipolar and substance use disorders. *The Journal of clinical psychiatry*, 70(2), pp.171–6. Available at: [/pmc/articles/PMC2713748/?report=abstract](http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC2713748/?report=abstract) [Accessed November 16, 2015].
- Jarrard, L.E. & Isaacson, R.L., 1965. Hippocampal Ablation in Rats: Effects of Intertrial Interval. *Nature*, 207(4992), pp.109–110. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/207109b0> [Accessed November 15, 2015].
- Jasmin, L. et al., 2004. Rostral agranular insular cortex and pain areas of the central nervous system: a tract-tracing study in the rat. *The Journal of comparative neurology*, 468(3), pp.425–40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14681935> [Accessed November 15, 2015].
- Jay, T.M. & Witter, M.P., 1991. Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *The Journal of comparative neurology*, 313(4), pp.574–86. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1783682> [Accessed November 14, 2015].
- Jazbec, S. et al., 2007. Intra-dimensional/extra-dimensional set-shifting performance in schizophrenia: impact of distractors. *Schizophrenia research*, 89(1-3), pp.339–49. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17055703> [Accessed November 16, 2015].
- Jeon, H. & Blacklow, S.C., 2005. Structure and physiologic function of the low-density lipoprotein receptor. *Annual review of biochemistry*, 74, pp.535–62. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15952897> [Accessed November 5, 2015].
- Jernigan, C.S. et al., 2011. The mTOR signaling pathway in the prefrontal cortex is compromised in major depressive disorder. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 35(7), pp.1774–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3154612&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 23, 2015].
- Ji, G. & Neugebauer, V., 2012. Modulation of medial prefrontal cortical activity using in vivo recordings and optogenetics. *Molecular brain*, 5, p.36. Available at: <http://dx.doi.org/10.1186/1756-6606-5-36>.
- Johnson, G.F., 1907. Introduction to early childhood education. *New York: D. Van Nostrand Company*.
- Johnstone, E.C. et al., 2005. Predicting schizophrenia: findings from the Edinburgh High-Risk Study. *The British journal of psychiatry: the journal of mental science*, 186, pp.18–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15630119> [Accessed November 16, 2015].
- Jones, C., Watson, D. & Fone, K., 2011. Animal models of schizophrenia. *British Journal of Pharmacology*, 164(4), pp.1162–1194. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5381.2011.01386.x>.
- Jones, C.A., Watson, D.J.G. & Fone, K.C.F., 2011. Animal models of schizophrenia. *British Journal of Pharmacology*,

164(4), pp.1162–1194. Available at: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01386.x>.

- Jones, E.G., 2009. The Origins of Cortical Interneurons: Mouse versus Monkey and Human. *Cerebral Cortex*, 19(9), pp.1953–1956. Available at: <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/bhp088>.
- Jones, G.H., Marsden, C.A. & Robbins, T.W., 1991. Behavioural rigidity and rule-learning deficits following isolation-rearing in the rat: neurochemical correlates. *Behavioural brain research*, 43(1), pp.35–50. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1677579> [Accessed November 16, 2015].
- Jones, M.W. & Wilson, M.A., 2005. Theta rhythms coordinate hippocampal-prefrontal interactions in a spatial memory task. *PLoS biology*, 3(12), p.e402. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1283536&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 12, 2015].
- Jossin, Y. et al., 2004. The central fragment of Reelin, generated by proteolytic processing in vivo, is critical to its function during cortical plate development. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 24(2), pp.514–21. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14724251> [Accessed November 15, 2015].
- Jossin, Y. & Cooper, J.A., 2011. Reelin, Rap1 and N-cadherin orient the migration of multipolar neurons in the developing neocortex. *Nature neuroscience*, 14(6), pp.697–703. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3102785&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Jossin, Y. & Goffinet, A.M., 2007. Reelin signals through phosphatidylinositol 3-kinase and Akt to control cortical development and through mTor to regulate dendritic growth. *Molecular and cellular biology*, 27(20), pp.7113–24. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2168915&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Jossin, Y., Gui, L. & Goffinet, A.M., 2007. Processing of Reelin by embryonic neurons is important for function in tissue but not in dissociated cultured neurons. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 27(16), pp.4243–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17442808> [Accessed November 15, 2015].
- Jung, M.W. et al., 1998. Firing characteristics of deep layer neurons in prefrontal cortex in rats performing spatial working memory tasks. *Cerebral Cortex*, 8(5), pp.437–450. Available at: <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/8.5.437>.
- Kalsbeek, A. et al., 1988. Development of the dopaminergic innervation in the prefrontal cortex of the rat. *The Journal of comparative neurology*, 269(1), pp.58–72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3361004> [Accessed November 12, 2015].
- Kamal, a. et al., 2014. Social isolation stress reduces hippocampal long-term potentiation: Effect of animal strain and involvement of glucocorticoid receptors. *Neuroscience*, 256, pp.262–270. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.10.016>.
- Kandel, E.R., 2001. The Molecular Biology of Memory Storage: A Dialogue Between Genes and Synapses. *Science*, 294(5544), p.10301038. Available at: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1067020>.
- Kanitz, E. et al., 2009. A single exposure to social isolation in domestic piglets activates behavioural arousal, neuroendocrine stress hormones, and stress-related gene expression in the brain. *Physiology & behavior*, 98(1-2), pp.176–85. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19460392> [Accessed October 7, 2015].
- Kaplan, M.S. & Hinds, J.W., 1977. Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science (New York, N.Y.)*, 197(4308), pp.1092–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/887941> [Accessed May 31, 2015].

- Karkhanis, A.N. et al., 2014. Social Isolation Rearing Increases Nucleus Accumbens Dopamine and Norepinephrine Responses to Acute Ethanol in Adulthood. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 38(11), pp.2770–2779. Available at: <http://dx.doi.org/10.1111/acer.12555>.
- Katagiri, H., Tanaka, K. & Manabe, T., 2001. Requirement of appropriate glutamate concentrations in the synaptic cleft for hippocampal LTP induction. *The European journal of neuroscience*, 14(3), pp.547–53. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11553304> [Accessed November 15, 2015].
- Katsuyama, Y. & Terashima, T., 2009. Developmental anatomy of reeler mutant mouse. *Development, Growth & Differentiation*, 51(3), pp.271–286. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19379278> [Accessed November 15, 2015].
- Kawaguchi, Y., 1995. Physiological subgroups of nonpyramidal cells with specific morphological characteristics in layer II/III of rat frontal cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(4), pp.2638–55. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7722619> [Accessed November 14, 2015].
- Kawaguchi, Y. & Kondo, S., 2002. Parvalbumin, somatostatin and cholecystokinin as chemical markers for specific GABAergic interneuron types in the rat frontal cortex. *Journal of Neurocytology*, 31(3-5 SPEC. ISS.), pp.277–287.
- Kawaguchi, Y. & Kubota, Y., 1997. {GABAergic} cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex. *Cerebral Cortex*, 7(6), pp.476–486. Available at: <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/7.6.476>.
- Kehrer, C. et al., 2008. Altered Excitatory-Inhibitory Balance in the NMDA-Hypofunction Model of Schizophrenia. *Frontiers in molecular neuroscience*, 1, p.6. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2525998&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed May 20, 2015].
- Kesner, R.P. & Giles, R., 1998. Neural circuit analysis of spatial working memory: role of pre- and parasubiculum, medial and lateral entorhinal cortex. *Hippocampus*, 8(4), pp.416–23. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9744426> [Accessed November 15, 2015].
- Kesner, R.P. & Ragozzino, M.E., 2003. The role of the prefrontal cortex in object-place learning: a test of the attribute specificity model. *Behavioural brain research*, 146(1-2), pp.159–165.
- Keverne, E.B., 1999. GABA-ergic neurons and the neurobiology of schizophrenia and other psychoses. *Brain research bulletin*, 48(5), pp.467–73. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10372507> [Accessed November 15, 2015].
- Killcross, S. & Coutureau, E., 2003. Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cerebral cortex {New York, N.Y.} : 1991*, 13(4), pp.400–408.
- Kim, J. et al., 2013. Neural Correlates of Interval Timing in Rodent Prefrontal Cortex. *The Journal of Neuroscience*. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1443-13.2013>.
- Kim, J.J., Foy, M.R. & Thompson, R.F., 1996. Behavioral stress modifies hippocampal plasticity through N-methyl-D-aspartate receptor activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(10), pp.4750–4753. Available at: [http://www.pnas.org/content/93/10/4750.abstract?ijkey=c577e3d4872463fae82a2f9bcae522a6b3876ed1&keytype=tf\\_ipsecsha](http://www.pnas.org/content/93/10/4750.abstract?ijkey=c577e3d4872463fae82a2f9bcae522a6b3876ed1&keytype=tf_ipsecsha) [Accessed November 16, 2015].
- Kim, M.J. et al., 2011. The structural and functional connectivity of the amygdala: from normal emotion to pathological anxiety. *Behavioural brain research*, 223(2), pp.403–10. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3119771&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed May 5, 2015].
- King, J.A., 1957. Relationships between early social experience and adult aggressive behavior in inbred mice. *The Journal*

- of genetic psychology, 90(2), pp.151–66. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13449290> [Accessed November 16, 2015].
- King, M. V et al., 2009. Increased dopamine D2High receptors in rats reared in social isolation. *Synapse (New York, N.Y.)*, 63(6), pp.476–83. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19217027> [Accessed November 16, 2015].
- Kiyokawa, Y. et al., 2009. Main olfactory system mediates social buffering of conditioned fear responses in male rats. *The European journal of neuroscience*, 29(4), pp.777–85. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19250440> [Accessed November 11, 2015].
- Kiyokawa, Y. et al., 2012. The neural pathway underlying social buffering of conditioned fear responses in male rats. *The European journal of neuroscience*, 36(10), pp.3429–37. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22909130> [Accessed November 11, 2015].
- Kiyokawa, Y., Takeuchi, Y. & Mori, Y., 2007. Two types of social buffering differentially mitigate conditioned fear responses. *The European journal of neuroscience*, 26(12), pp.3606–13. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18052972> [Accessed November 16, 2015].
- Klein, J. et al., 2010. Lesion of the medial prefrontal cortex and the subthalamic nucleus selectively affect depression-like behavior in rats. *Behavioural brain research*, 213(1), pp.73–81. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20434489> [Accessed November 14, 2015].
- Kliegel, M. et al., 2001. Varying the importance of a prospective memory task: differential effects across time- and event-based prospective memory. *Memory (Hove, England)*, 9(1), pp.1–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11315657> [Accessed November 15, 2015].
- Knable, M.B. et al., 2001. Multivariate analysis of prefrontal cortical data from the Stanley Foundation Neuropathology Consortium. *Brain research bulletin*, 55(5), pp.651–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11576762> [Accessed November 16, 2015].
- Knott, G.W. et al., 2006. Spine growth precedes synapse formation in the adult neocortex in vivo. *Nature neuroscience*, 9(9), pp.1117–24. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16892056> [Accessed November 16, 2015].
- Knuesel, I., 2010. Reelin-mediated signaling in neuropsychiatric and neurodegenerative diseases. *Progress in neurobiology*, 91(4), pp.257–274. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.04.002>.
- Kobold, D. et al., 2002. Expression of reelin in hepatic stellate cells and during hepatic tissue repair: a novel marker for the differentiation of HSC from other liver myofibroblasts. *Journal of hepatology*, 36(5), pp.607–13. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11983443> [Accessed November 15, 2015].
- Kohno, S. et al., 2009. Mechanism and significance of specific proteolytic cleavage of Reelin. *Biochemical and biophysical research communications*, 380(1), pp.93–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19166810> [Accessed November 15, 2015].
- Kohno, T. et al., 2009. C-terminal region-dependent change of antibody-binding to the Eighth Reelin repeat reflects the signaling activity of Reelin. *Journal of neuroscience research*, 87(14), pp.3043–53. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19530167> [Accessed November 15, 2015].
- Kohno, T. et al., 2015. Importance of Reelin C-terminal region in the development and maintenance of the postnatal cerebral cortex and its regulation by specific proteolysis. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 35(11), pp.4776–87. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25788693> [Accessed November 15, 2015].
- Kolb, B. et al., 2012. Experience and the developing prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(Supplement 2), pp.17186–17193. Available at: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1121251109>.

- Kolb, B., 1974. Social behavior of rats with chronic prefrontal lesions. *Journal of comparative and physiological psychology*, 87(3), pp.466–74. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4472309> [Accessed November 15, 2015].
- Kolb, B. & Cioe, J., 2003. Recovery from early cortical damage in rats. IX. Differential behavioral and anatomical effects of temporal cortex lesions at different ages of neural maturation. *Behavioural brain research*, 144(1-2), pp.67–76. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12946596> [Accessed November 15, 2015].
- Kolb, B. & Gibb, R., 2015. Plasticity in the prefrontal cortex of adult rats. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fncel.2015.00015>.
- Kolb, B. & Nonneman, A.J., 1974. Frontolimbic lesions and social behavior in the rat. *Physiology & behavior*, 13(5), pp.637–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4610602> [Accessed November 15, 2015].
- Koolhaas, J.M. et al., 1997. Social stress in rats and mice. *Acta physiologica Scandinavica. Supplementum*, 640, pp.69–72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9401610> [Accessed November 16, 2015].
- Krishnan, V. et al., 2007. Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell*, 131(2), pp.391–404. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17956738> [Accessed August 27, 2015].
- Krueger, D.D. et al., 2006. Assessment of cognitive function in the heterozygous reeler mouse. *Psychopharmacology*, 189(1), pp.95–104. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16977475>.
- Krugers, H.J. et al., 2006. Blockade of glucocorticoid receptors rapidly restores hippocampal CA1 synaptic plasticity after exposure to chronic stress. *The European journal of neuroscience*, 23(11), pp.3051–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16819994> [Accessed November 16, 2015].
- Krugers, H.J. et al., 1997. Exposure to chronic psychosocial stress and corticosterone in the rat: effects on spatial discrimination learning and hippocampal protein kinase Cgamma immunoreactivity. *Hippocampus*, 7(4), pp.427–36. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9287082> [Accessed November 16, 2015].
- Kubo, K., Mikoshiba, K. & Nakajima, K., 2002. Secreted Reelin molecules form homodimers. *Neuroscience research*, 43(4), pp.381–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12135781> [Accessed November 15, 2015].
- Kukshal, P. et al., 2012. Genetics of schizophrenia from a clinical perspective. *International review of psychiatry (Abingdon, England)*, 24(5), pp.393–404. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23057976> [Accessed November 16, 2015].
- Kumar, S. et al., 2013. Cortical control of affective networks. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 33(3), pp.1116–1129. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0092-12.2013>.
- Kuperberg, G.R. et al., 2003. Regionally localized thinning of the cerebral cortex in schizophrenia. *Archives of general psychiatry*, 60(9), pp.878–88. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12963669> [Accessed October 7, 2015].
- Kupferman, J. V et al., 2014. Reelin Signaling Specifies the Molecular Identity of the Pyramidal Neuron Distal Dendritic Compartment. *Cell*, 158(6), pp.1335–1347. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25201528>.
- Kvitsiani, D. et al., 2013. Distinct behavioural and network correlates of two interneuron types in prefrontal cortex. *Nature*, 498(7454), pp.363–366. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nature12176>.
- Kwak, C., Lee, S.-H. & Kaang, B.-K., 2009. Social Isolation Selectively Increases Anxiety in Mice without Affecting Depression-like Behavior. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 13(5), pp.357–360. Available at: <http://dx.doi.org/10.4196/kjpp.2009.13.5.357>.

- Kwon, H.-B. & Sabatini, B.L., 2011. Glutamate induces de novo growth of functional spines in developing cortex. *Nature*, 474(7349), pp.100–104. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3107907&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 17, 2015].
- Kwon, I.-S. et al., 2009. Expression of Disabled 1 suppresses astroglial differentiation in neural stem cells. *Molecular and cellular neurosciences*, 40(1), pp.50–61. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2820303&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Lacor, P.N. et al., 2000. Reelin secretion from glutamatergic neurons in culture is independent from neurotransmitter regulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(7), pp.3556–61. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=16278&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Lai, C.S.W., Franke, T.F. & Gan, W.-B., 2012. Opposite effects of fear conditioning and extinction on dendritic spine remodelling. *Nature*, 483(7387), pp.87–91. Available at: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature10792>.
- Lakatosova, S. & Ostatnikova, D., 2012. Reelin and its complex involvement in brain development and function. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 44(9), pp.1501–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22705982> [Accessed November 15, 2015].
- Lakomá, J., Garcia-Alonso, L. & Luque, J.M., 2011. Reelin sets the pace of neocortical neurogenesis. *Development (Cambridge, England)*, 138(23), pp.5223–34. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22069190> [Accessed November 15, 2015].
- LaLumiere, R.T., Niehoff, K.E. & Kalivas, P.W., 2010. The infralimbic cortex regulates the consolidation of extinction after cocaine self-administration. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 17(4), pp.168–75. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2852618&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Lambert de Rouvroit, C. et al., 1999. Evolutionarily conserved, alternative splicing of reelin during brain development. *Experimental neurology*, 156(2), pp.229–38. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10328932> [Accessed November 15, 2015].
- Lambert de Rouvroit, C. & Goffinet, A.M., 1998. The reeler mouse as a model of brain development. *Advances in anatomy, embryology, and cell biology*, 150, pp.1–106. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9816727> [Accessed November 15, 2015].
- Lapish, C.C. et al., 2008. Successful choice behavior is associated with distinct and coherent network states in anterior cingulate cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(33), pp.11963–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2516968&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 28, 2015].
- Lapiz, M.D.S. et al., 2003. Influence of postweaning social isolation in the rat on brain development, conditioned behavior, and neurotransmission. *Neuroscience and behavioral physiology*, 33(1), pp.13–29. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12617300> [Accessed November 16, 2015].
- Laplante, M. & Sabatini, D.M., 2009. An emerging role of mTOR in lipid biosynthesis. *Current biology: CB*, 19(22), pp.R1046–52. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3390254&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].

- Larson, J. et al., 2003. Olfactory discrimination learning deficit in heterozygous reeler mice. *Brain research*, 971(1), pp.40–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12691835> [Accessed November 16, 2015].
- Lasgaard, M., Goossens, L. & Elklit, A., 2011. Loneliness, depressive symptomatology, and suicide ideation in adolescence: cross-sectional and longitudinal analyses. *Journal of abnormal child psychology*, 39(1), pp.137–50. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20700646> [Accessed November 16, 2015].
- Lashley, K.S. & Clark, G., 1946. The cytoarchitecture of the cerebral cortex of ateles: A critical examination of architectonic studies. *The Journal of Comparative Neurology*, 85(2), pp.223–305. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/cne.900850207> [Accessed November 15, 2015].
- Laubach, M., Caetano, M.S. & Narayanan, N.S., 2015. Mistakes were made: neural mechanisms for the adaptive control of action initiation by the medial prefrontal cortex. *Journal of physiology, Paris*, 109(1-3), pp.104–117. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphysparis.2014.12.001>.
- Laubach, M., Wessberg, J. & Nicolelis, M.A., 2000. Cortical ensemble activity increasingly predicts behaviour outcomes during learning of a motor task. *Nature*, 405(6786), pp.567–71. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10850715> [Accessed November 15, 2015].
- Lee, A.T. et al., 2014. Pyramidal neurons in prefrontal cortex receive subtype-specific forms of excitation and inhibition. *Neuron*, 81(1), pp.61–68. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.031>.
- Lee, I. & Solivan, F., 2008. The roles of the medial prefrontal cortex and hippocampus in a spatial paired-association task. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 15(5), pp.357–67. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2364607&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Lee, S.H., Hjerling-Leffler, J. & Zagha, E., 2010. The largest group of superficial neocortical {GABAergic} interneurons expresses ionotropic serotonin receptors. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1869-10.2010>.
- Leon, W.C. et al., 2010. Engagement of the PFC in consolidation and recall of recent spatial memory. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 17(6), pp.297–305. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20508034> [Accessed August 31, 2015].
- Levenson, J.M., Qiu, S. & Weeber, E.J., 2008. The role of reelin in adult synaptic function and the genetic and epigenetic regulation of the reelin gene. *Biochimica et biophysica acta*, 1779(8), pp.422–31. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18237558> [Accessed November 15, 2015].
- Levenson, J.M. & Sweatt, J.D., 2005. Epigenetic mechanisms in memory formation. *Nature reviews. Neuroscience*, 6(2), pp.108–18. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15654323> [Accessed July 28, 2015].
- Levine, J.B. et al., 2007. Isolation rearing and hyperlocomotion are associated with reduced immediate early gene expression levels in the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 145(1), pp.42–55. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17239545> [Accessed November 15, 2015].
- Lewis, D.A., 2009. Neuroplasticity of excitatory and inhibitory cortical circuits in schizophrenia. *Dialogues in clinical neuroscience*, 11(3), pp.269–80. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3075863&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 8, 2015].
- Lewis, D.A. & Levitt, P., 2002. S <sc>CHIZOPHRENIA AS A</sc> D <sc>ISORDER OF</sc> N <sc>EURODEVELOPMENT</sc>. *Annual Review of Neuroscience*, 25(1), pp.409–432. Available at: <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.neuro.25.112701.142754>.
- Li, J., Delgado, M.R. & Phelps, E.A., 2011. How instructed knowledge modulates the neural systems of reward learning.

*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(1), pp.55–60. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3017128&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].

- Li, N. et al., 2010a. {mTOR-dependent} synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of {NMDA} antagonists. *Science (New York, N.Y.)*, 329(5994), pp.959–964. Available at: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1190287>.
- Li, N. et al., 2010b. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. *Science (New York, N.Y.)*, 329(5994), pp.959–64. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3116441&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed September 4, 2015].
- Li, Y., 2007. Recovering from spousal bereavement in later life: does volunteer participation play a role? *The journals of gerontology. Series B, Psychological sciences and social sciences*, 62(4), pp.S257–66. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17673539> [Accessed November 16, 2015].
- Likhtik, E., 2005. Prefrontal Control of the Amygdala. *Journal of Neuroscience*, 25(32), pp.7429–7437. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16093394> [Accessed October 12, 2015].
- Lindfors, P. & Tullberg, B.S., 2011. Evolutionary aspects of aggression the importance of sexual selection. *Advances in genetics*, 75, pp.7–22. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-380858-5.00009-5>.
- Lipska, B.K. et al., 2003. The neonatal ventral hippocampal lesion model of schizophrenia: effects on dopamine and GABA mRNA markers in the rat midbrain. *The European journal of neuroscience*, 18(11), pp.3097–104. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14656305> [Accessed November 15, 2015].
- Lipska, B.K. & Weinberger, D.R., 2000. To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 23(3), pp.223–39. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10942847> [Accessed November 6, 2015].
- Little, J.P. & Carter, A.G., 2012. Subcellular synaptic connectivity of layer 2 pyramidal neurons in the medial prefrontal cortex. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 32(37), pp.12808–12819. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1616-12.2012>.
- Little, J.P. & Carter, A.G., 2013. Synaptic mechanisms underlying strong reciprocal connectivity between the medial prefrontal cortex and basolateral amygdala. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 33(39), pp.15333–15342. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2385-13.2013>.
- Liu, W.S. et al., 2001. Down-regulation of dendritic spine and glutamic acid decarboxylase 67 expressions in the reelin haploinsufficient heterozygous reeler mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(6), pp.3477–82. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=30678&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Liu, Y. et al., 2014. Expression of  $\beta$ 1- and  $\beta$ 2-adrenoceptors in different subtypes of interneurons in the medial prefrontal cortex of mice. *Neuroscience*, 257, pp.149–157. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.10.078>.
- Lonstein, J.S. & Stern, J.M., 1997. Role of the midbrain periaqueductal gray in maternal nurturance and aggression: c-fos and electrolytic lesion studies in lactating rats. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(9), pp.3364–78. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9113892> [Accessed November 15, 2015].
- Lu, L. et al., 2003. Modification of hippocampal neurogenesis and neuroplasticity by social environments. *Experimental neurology*, 183(2), pp.600–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14552901> [Accessed November 16,

2015].

- Luine, V.N., Spencer, R.L. & McEwen, B.S., 1993. Effects of chronic corticosterone ingestion on spatial memory performance and hippocampal serotonergic function. *Brain research*, 616(1-2), pp.65–70. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7689414> [Accessed November 16, 2015].
- Lukkes, J.L. et al., 2009. Adult rats exposed to early-life social isolation exhibit increased anxiety and conditioned fear behavior, and altered hormonal stress responses. *Hormones and Behavior*, 55(1), pp.248–256. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19027017> [Accessed October 13, 2015].
- Lukkes, J.L. et al., 2009. Consequences of post-weaning social isolation on anxiety behavior and related neural circuits in rodents. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 3, p.18. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/neuro.08.018.2009>.
- Lukkes, J.L. et al., 2012. Post-weaning social isolation attenuates {c-Fos} expression in {GABAergic} interneurons in the basolateral amygdala of adult female rats. *Physiology & Behavior*, 107(5), p.719725. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.05.007>.
- Lungwitz, E.A. et al., 2014. The role of the medial prefrontal cortex in regulating social familiarity-induced anxiolysis. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 39(4), pp.1009–1019. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2013.302>.
- Lupien, S.J. & Lepage, M., 2001. Stress, memory, and the hippocampus: can't live with it, can't live without it. *Behavioural brain research*, 127(1-2), pp.137–58. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11718889> [Accessed November 8, 2015].
- Lussier, A.L. et al., 2011. Reelin as a putative vulnerability factor for depression: examining the depressogenic effects of repeated corticosterone in heterozygous reeler mice. *Neuropharmacology*, 60(7-8), pp.1064–1074. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.09.007>.
- Lyons, D.M. et al., 1999. Postnatal experiences and genetic effects on squirrel monkey social affinities and emotional distress. *Hormones and behavior*, 36(3), pp.266–75. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10603290> [Accessed November 16, 2015].
- Lyons, D.M., Ha, C.M. & Levine, S., 1995. Social effects and circadian rhythms in squirrel monkey pituitary-adrenal activity. *Hormones and behavior*, 29(2), pp.177–90. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7557921> [Accessed November 16, 2015].
- Magdaleno, S., Keshvara, L. & Curran, T., 2002. Rescue of ataxia and preplate splitting by ectopic expression of Reelin in reeler mice. *Neuron*, 33(4), pp.573–86. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11856531> [Accessed November 15, 2015].
- Le Magueresse, C. & Monyer, H., 2013. GABAergic interneurons shape the functional maturation of the cortex. *Neuron*, 77(3), pp.388–405. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23395369> [Accessed November 14, 2015].
- Makinodan, M. et al., 2012. A Critical Period for Social Experience-Dependent Oligodendrocyte Maturation and Myelination. *Science*, 337(6100), pp.1357–1360. Available at: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1220845>.
- Malenka, R.C. & Bear, M.F., 2004. {LTP} and {LTD:} An Embarrassment of Riches. *Neuron*, 44(1). Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2004.09.012>.
- Malone, D.T. et al., 2008. Effect of social isolation on CB1 and D2 receptor and fatty acid amide hydrolase expression in rats. *Neuroscience*, 152(1), pp.265–72. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2693344&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].

- Manning, M.M. & Wainwright, L.D., 2010. The role of high level play as a predictor social functioning in autism. *Journal of autism and developmental disorders*, 40(5), pp.523–33. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19921415> [Accessed October 29, 2015].
- Maren, S., 2011. Seeking a Spotless Mind: Extinction, Deconsolidation, and Erasure of Fear Memory. *Neuron*, 70(5). Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2011.04.023>.
- Maren, S., Phan, K.L. & Liberzon, I., 2013. The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. *Nature reviews. Neuroscience*, 14(6), pp.417–28. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23635870> [Accessed July 9, 2014].
- Markram, H. et al., 2004. Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nature reviews. Neuroscience*, 5(10), pp.793–807. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn1519>.
- Marsden, C.A., King, M. V & Fone, K.C.F., 2011. Influence of social isolation in the rat on serotonergic function and memory—relevance to models of schizophrenia and the role of {5-HT} 6 receptors.
- Marsden, C.A., King, M. V & Fone, K.C.F., 2011. Influence of social isolation in the rat on serotonergic function and memory--relevance to models of schizophrenia and the role of {5-HT<sub>6</sub>} receptors. *Neuropharmacology*, 61(3), pp.400–407. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.03.003>.
- Marsh, R.L., Hicks, J.L. & Cook, G.I., 2006. Task interference from prospective memories covaries with contextual associations of fulfilling them. *Memory & cognition*, 34(5), pp.1037–45. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17128602> [Accessed November 15, 2015].
- Marsh, R.L., Hicks, J.L. & Landau, J.D., 1998. An investigation of everyday prospective memory. *Memory & cognition*, 26(4), pp.633–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9701955> [Accessed November 15, 2015].
- Martínez, M.C. et al., 2014. Retroactive interference of object-in-context long-term memory: role of dorsal hippocampus and medial prefrontal cortex. *Hippocampus*, 24(12), pp.1482–92. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25044872> [Accessed November 14, 2015].
- Martínez-Cerdeño, V. & Clascá, F., Reelin immunoreactivity in the adult neocortex: a comparative study in rodents, carnivores, and non-human primates. *Brain research bulletin*, 57(3-4), pp.485–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11923015> [Accessed November 15, 2015].
- Matheson, S.L. et al., 2013. Systematic meta-analysis of childhood social withdrawal in schizophrenia, and comparison with data from at-risk children aged 9–14 years. *Journal of Psychiatric Research*, 47(8), pp.1061–1068. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.03.013>.
- Matsuzaki, M. et al., 2004. Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature*, 429(6993), pp.761–6. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4158816&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed December 16, 2014].
- Matthiesen, L. et al., 2005. Immunology of preeclampsia. *Chemical immunology and allergy*, 89, pp.49–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16129952> [Accessed November 16, 2015].
- Maviel, T. et al., 2004. Sites of neocortical reorganization critical for remote spatial memory. *Science (New York, N.Y.)*, 305(5680), pp.96–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15232109> [Accessed November 15, 2015].
- Mayberg, H.S. et al., 2005. Deep brain stimulation for treatment-resistant depression. *Neuron*, 45(5), pp.651–60. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15748841> [Accessed September 13, 2015].
- McCarthy, M., 2015. US prison directors' group calls for reduced use of solitary confinement. *Bmj*, 4765(September), p.h4765. Available at: <http://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.h4765>.

- McClelland, J.L., McNaughton, B.L. & O'Reilly, R.C., 1995. Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychological review*, 102(3), pp.419–57. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7624455> [Accessed November 15, 2015].
- McClure, M.M. et al., 2007. Visual-spatial learning and memory in schizotypal personality disorder: continued evidence for the importance of working memory in the schizophrenia spectrum. *Archives of clinical neuropsychology: the official journal of the National Academy of Neuropsychologists*, 22(1), pp.109–16. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17161580> [Accessed November 16, 2015].
- McDonald, A.J., Mascagni, F. & Guo, L., 1996. Projections of the medial and lateral prefrontal cortices to the amygdala: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in the rat. *Neuroscience*, 71(1), pp.55–75. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8834392> [Accessed November 15, 2015].
- McEwen, B.S. & Morrison, J.H., 2013. The brain on stress: vulnerability and plasticity of the prefrontal cortex over the life course. *Neuron*, 79(1), pp.16–29. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3753223&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed July 16, 2015].
- McLean, S. et al., 2010. Isolation rearing impairs novel object recognition and attentional set shifting performance in female rats. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, 24(1), pp.57–63. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18635708> [Accessed November 16, 2015].
- Meador-Woodruff, J.H. & Healy, D.J., 2000. Glutamate receptor expression in schizophrenic brain. *Brain research. Brain research reviews*, 31(2-3), pp.288–94. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10719155> [Accessed November 16, 2015].
- Meaney, M.J., Brake, W. & Gratton, A., 2002. Environmental regulation of the development of mesolimbic dopamine systems: a neurobiological mechanism for vulnerability to drug abuse? *Psychoneuroendocrinology*, 27(1-2), pp.127–38. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11750774> [Accessed November 16, 2015].
- Meaney, M.J., Dodge, A.M. & Beatty, W.W., 1981. Sex-dependent effects of amygdaloid lesions on the social play of prepubertal rats. *Physiology & behavior*, 26(3), pp.467–72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7195594> [Accessed September 29, 2015].
- Meijer, M.K. et al., 2007. Influence of environmental enrichment and handling on the acute stress response in individually housed mice. *Laboratory Animals*, 41, pp.161–173.
- Melendez, R.I. et al., 2004. Impoverished rearing environment alters metabotropic glutamate receptor expression and function in the prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 29(11), pp.1980–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15187985> [Accessed October 5, 2015].
- Meltzer, H.Y., 2013. Update on typical and atypical antipsychotic drugs. *Annual review of medicine*, 64, pp.393–406. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23020880> [Accessed October 26, 2015].
- Meyer, G. & Goffinet, A.M., 1998. Prenatal development of reelin-immunoreactive neurons in the human neocortex. *The Journal of comparative neurology*, 397(1), pp.29–40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9671277> [Accessed November 15, 2015].
- Miachon, S. et al., 1993. Long-term isolation of Wistar rats alters brain monoamine turnover, blood corticosterone, and ACTH. *Brain research bulletin*, 32(6), pp.611–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7693308> [Accessed October 20, 2015].
- Miao, G.G. et al., 1994. Isolation of an allele of reeler by insertional mutagenesis. *Proceedings of the National Academy of*

*Sciences of the United States of America*, 91(23), pp.11050–4. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=45164&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].

- Miczek, K.A. et al., 2001. Aggressive behavioral phenotypes in mice. *Behavioural Brain Research*, 125(1-2), pp.167–181. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00298-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00298-4).
- Milad, M.R. & Quirk, G.J., 2002. Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature*, 420(6911), pp.70–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12422216> [Accessed January 19, 2015].
- Miller, C.A. & Sweatt, J.D., 2007. Covalent modification of DNA regulates memory formation. *Neuron*, 53(6), pp.857–69. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17359920> [Accessed October 21, 2015].
- Miller, E.K. & Cohen, J.D., 2001. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annual review of neuroscience*, 24, pp.167–202. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11283309> [Accessed July 11, 2014].
- Miller, T.J. et al., 2002. Prospective diagnosis of the initial prodrome for schizophrenia based on the Structured Interview for Prodromal Syndromes: preliminary evidence of interrater reliability and predictive validity. *The American journal of psychiatry*, 159(5), pp.863–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11986145> [Accessed October 25, 2015].
- Mineka, S., Watson, D. & Clark, L.A., 1998. Comorbidity of anxiety and unipolar mood disorders. *Annual review of psychology*, 49, pp.377–412. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9496627> [Accessed October 7, 2015].
- Mitchell, J.B. & Laiacona, J., 1998. The medial frontal cortex and temporal memory: tests using spontaneous exploratory behaviour in the rat. *Behavioural Brain Research*, 97(1-2), p.107113. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328\(98\)00032-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328(98)00032-1).
- Mitchell, E.D., and B.S.M., 1948. *The theory of play*. New York: A.S. Barnes.
- Miyata, T. et al., 1997. Regulation of Purkinje cell alignment by reelin as revealed with CR-50 antibody. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(10), pp.3599–609. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9133383> [Accessed November 15, 2015].
- Miyazaki, K., Miyazaki, K.W. & Matsumoto, G., 2004. Different representation of forthcoming reward in nucleus accumbens and medial prefrontal cortex. *Neuroreport*, 15(4), pp.721–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15094484> [Accessed November 15, 2015].
- Miyoshi, G. et al., 2010. Genetic fate mapping reveals that the caudal ganglionic eminence produces a large and diverse population of superficial cortical interneurons. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(5), pp.1582–1594. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4515-09.2010>.
- Miyoshi, K. et al., 2003. Disrupted-In-Schizophrenia 1, a candidate gene for schizophrenia, participates in neurite outgrowth. *Molecular psychiatry*, 8(7), pp.685–94. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12874605> [Accessed November 16, 2015].
- Mogensen, J. et al., 2004. Place learning and object recognition by rats subjected to transection of the fimbria-fornix and/or ablation of the prefrontal cortex. *Brain research bulletin*, 63(3), pp.217–36. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15145141> [Accessed November 15, 2015].
- Mogenson, G.J., Jones, D.L. & Yim, C.Y., 1980. From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Progress in neurobiology*, 14(2-3), pp.69–97. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6999537> [Accessed November 15, 2015].
- Moghaddam, B. et al., 1997. Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from

- NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(8), pp.2921–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9092613> [Accessed November 16, 2015].
- Morgan, M.J., 1973. Effects of post-weaning environment on learning in the rat. *Animal Behaviour*, 21(3), pp.429–442. Available at: [http://www.researchgate.net/publication/222732273\\_Effects\\_of\\_post-weaning\\_environment\\_on\\_learning\\_in\\_the\\_rat](http://www.researchgate.net/publication/222732273_Effects_of_post-weaning_environment_on_learning_in_the_rat) [Accessed November 16, 2015].
- Morici, J., Bekinschtein, P. & Weisstaub, N. V., 2015. Medial prefrontal cortex role in recognition memory in rodents. *Behavioural Brain Research*. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2015.06.030>.
- Morishima, M. et al., 2011. Highly differentiated projection-specific cortical subnetworks. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(28), pp.10380–91. Available at: <http://www.jneurosci.org/content/31/28/10380.long> [Accessed November 14, 2015].
- Morishima, M. & Kawaguchi, Y., 2006. Recurrent connection patterns of corticostriatal pyramidal cells in frontal cortex. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(16), pp.4394–4405. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0252-06.2006>.
- Morishima, M., Morita, K. & Kubota, Y., 2011. Highly differentiated projection-specific cortical subnetworks.
- Morris, R.G., 1999. D.O. Hebb: The Organization of Behavior, Wiley: New York; 1949. *Brain research bulletin*, 50(5-6), p.437. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10643472> [Accessed October 8, 2015].
- Morris, R.G. et al., Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 319(6056), pp.774–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2869411> [Accessed September 8, 2015].
- Mountcastle, V.B., 1997. The columnar organization of the neocortex. *Brain: a journal of neurology*, 120 ( Pt 4, pp.701–722.
- Muchimapura, S. et al., 2002. Isolation rearing in the rat disrupts the hippocampal response to stress. *Neuroscience*, 112(3), pp.697–705. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12074911> [Accessed November 16, 2015].
- Muchimapura, S., Mason, R. & Marsden, C.A., 2003. Effect of isolation rearing on pre- and post-synaptic serotonergic function in the rat dorsal hippocampus. *Synapse (New York, N.Y.)*, 47(3), pp.209–17. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12494403> [Accessed November 16, 2015].
- Muck-Seler, D. et al., 2004. Platelet serotonin and plasma prolactin and cortisol in healthy, depressed and schizophrenic women. *Psychiatry research*, 127(3), pp.217–26. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15296821> [Accessed November 16, 2015].
- Muir, J.L., Everitt, B.J. & Robbins, T.W., The cerebral cortex of the rat and visual attentional function: dissociable effects of mediofrontal, cingulate, anterior dorsolateral, and parietal cortex lesions on a five-choice serial reaction time task. *Cerebral cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 6(3), pp.470–81. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8670672> [Accessed October 8, 2015].
- Mulkey, R.M., Herron, C.E. & Malenka, R.C., 1993. An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science (New York, N.Y.)*, 261(5124), pp.1051–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8394601> [Accessed November 16, 2015].
- Mumby, D.G. et al., 2007. Perirhinal cortex damage and anterograde object-recognition in rats after long retention intervals. *Behavioural brain research*, 185(2), pp.82–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17804090> [Accessed November 15, 2015].
- Murphy, K.J. et al., 2010. Temporal dysregulation of cortical gene expression in the isolation reared Wistar rat. *Journal of*

- neurochemistry*, 113(3), pp.601–614. Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=20096092&retmode=ref&cmd=prlinks\papers2://publication/doi/10.1111/j.1471-4159.2010.06617.x>.
- Murray, E.A., Bussey, T.J. & Wise, S.P., 2000. Role of prefrontal cortex in a network for arbitrary visuomotor mapping. *Experimental brain research*, 133(1), pp.114–29. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10933216> [Accessed November 14, 2015].
- Murray, E.A., Wise, S.P. & Drevets, W.C., 2011. Localization of dysfunction in major depressive disorder: prefrontal cortex and amygdala. *Biological psychiatry*, 69(12), pp.e43–54. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3058124&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 6, 2015].
- Murrough, J.W. et al., 2011. Cognitive dysfunction in depression: neurocircuitry and new therapeutic strategies. *Neurobiology of learning and memory*, 96(4), pp.553–563. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2011.06.006>.
- Nair, H.P. et al., 2001. Maturation of Extinction Behavior in Infant Rats: Large-Scale Regional Interactions with Medial Prefrontal Cortex, Orbitofrontal Cortex, and Anterior Cingulate Cortex. *J. Neurosci.*, 21(12), pp.4400–4407. Available at: <http://www.jneurosci.org/content/21/12/4400.full> [Accessed November 16, 2015].
- Nakajima, K. et al., 1997. Disruption of hippocampal development in vivo by CR-50 mAb against reelin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(15), pp.8196–201. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=21580&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Nakano, Y. et al., 2007. The extremely conserved C-terminal region of Reelin is not necessary for secretion but is required for efficient activation of downstream signaling. *The Journal of biological chemistry*, 282(28), pp.20544–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17504759> [Accessed November 15, 2015].
- Nakayasu, T. & Kato, K., 2011. Is full physical contact necessary for buffering effects of pair housing on social stress in rats? *Behavioural processes*, 86(2), pp.230–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21146595> [Accessed November 16, 2015].
- Narayanan, N.S., Land, B.B. & Solder, J.E., 2012. Prefrontal D1 dopamine signaling is required for temporal control. Available at: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1211258109>.
- Narayanan, N.S. & Laubach, M., 2009. Delay activity in rodent frontal cortex during a simple reaction time task. *Journal of neurophysiology*, 101(6), pp.2859–71. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4280159&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Narayanan, N.S. & Laubach, M., 2008. Neuronal correlates of post-error slowing in the rat dorsomedial prefrontal cortex. *Journal of neurophysiology*, 100(1), pp.520–525. Available at: <http://dx.doi.org/10.1152/jn.00035.2008>.
- Narayanan, N.S. & Laubach, M., 2006. Top-down control of motor cortex ensembles by dorsomedial prefrontal cortex. *Neuron*, 52(5), pp.921–31. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3995137&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Nelson, A.J.D. et al., 2011. The Effect of Catecholaminergic Depletion Within the Prelimbic and Infralimbic Medial Prefrontal Cortex on Recognition Memory for Recency, Location, and Objects. *Behavioral Neuroscience*, 125(3), pp.396–403. Available at: <http://dx.doi.org/10.1037/a0023337>.
- Nelson, R.J. & Trainor, B.C., 2007. Neural mechanisms of aggression. *Nature reviews. Neuroscience*, 8(7), pp.536–46. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17585306> [Accessed April 22, 2015].

- Nephew, B.C. et al., 2009. Blood oxygen level-dependent signal responses in corticolimbic “emotions” circuitry of lactating rats facing intruder threat to pups. *The European journal of neuroscience*, 30(5), pp.934–45. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2758821&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Nestor, P.G. et al., 2007. Episodic memory and neuroimaging of hippocampus and fornix in chronic schizophrenia. *Psychiatry research*, 155(1), pp.21–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17395435> [Accessed November 16, 2015].
- Nesvåg, R. et al., 2008. Regional thinning of the cerebral cortex in schizophrenia: effects of diagnosis, age and antipsychotic medication. *Schizophrenia research*, 98(1-3), pp.16–28. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17933495> [Accessed November 16, 2015].
- Neumann, I.D. et al., 2001. Maternal defence as an emotional stressor in female rats: correlation of neuroendocrine and behavioural parameters and involvement of brain oxytocin. *The European journal of neuroscience*, 13(5), pp.1016–24. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11264675> [Accessed November 15, 2015].
- Newcomer, J.W. et al., 1999. {Ketamine-Induced} {NMDA} Receptor Hypofunction as a Model of Memory Impairment and Psychosis. *Neuropsychopharmacology*, 20(2), pp.106–118. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0893-133X\(98\)00067-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0893-133X(98)00067-0).
- Niu, S. et al., 2004. Reelin promotes hippocampal dendrite development through the VLDLR/ApoER2-Dab1 pathway. *Neuron*, 41(1), pp.71–84. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14715136> [Accessed November 15, 2015].
- Niu, S., Yabut, O. & D’Arcangelo, G., 2008. The Reelin signaling pathway promotes dendritic spine development in hippocampal neurons. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 28(41), pp.10339–48. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2572775&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Nogi, T. et al., 2006. Structure of a signaling-competent reelin fragment revealed by X-ray crystallography and electron tomography. *The EMBO journal*, 25(15), pp.3675–83. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1538547&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Nolen-Hoeksema, S., 2000. The role of rumination in depressive disorders and mixed anxiety/depressive symptoms. *Journal of abnormal psychology*, 109(3), pp.504–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11016119> [Accessed August 6, 2015].
- Nonneman, A.J., Voigt, J. & Kolb, B.E., 1974. Comparisons of behavioral effects of hippocampal and prefrontal cortex lesions in the rat. *Journal of comparative and physiological psychology*, 87(2), pp.249–60. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4473462> [Accessed November 15, 2015].
- Norman, G.J. et al., 2010. Social interaction modulates autonomic, inflammatory, and depressive-like responses to cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(37), pp.16342–7. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2941316&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Nugent, K.L. et al., 2015. Cortisol Reactivity to Stress and Its Association With White Matter Integrity in Adults With Schizophrenia. *Psychosomatic medicine*, 77(7), pp.733–42. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26186431> [Accessed November 16, 2015].

- Nullmeier, S. et al., 2011. Region-specific alteration of GABAergic markers in the brain of heterozygous reeler mice. *European Journal of Neuroscience*, 33(4), pp.689–698.
- Numan, M., Fleming, A.S. & Levy, F., 2006. Maternal Behavior. In J. D. Neil, ed. *Knobil and Neill's physiology of reproduction*. New York Raven Press, pp. 1921–1993.
- Numan, M. & Woodside, B., 2010. Maternity: neural mechanisms, motivational processes, and physiological adaptations. *Behavioral neuroscience*, 124(6), pp.715–741. Available at: <http://dx.doi.org/10.1037/a0021548>.
- Nutt, D.J. & Malizia, A.L., 2001. New insights into the role of the GABA(A)-benzodiazepine receptor in psychiatric disorder. *The British journal of psychiatry: the journal of mental science*, 179, pp.390–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11689393> [Accessed November 15, 2015].
- Nyakas, C. et al., 1983. Hippocampal corticosterone receptors and novelty-induced behavioral activity: effect of kainic acid lesion in the hippocampus. *Brain research*, 288(1-2), pp.219–28. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6661618> [Accessed November 16, 2015].
- O'Dell, R.S. et al., 2012. Layer 6 cortical neurons require Reelin-Dab1 signaling for cellular orientation, Golgi deployment, and directed neurite growth into the marginal zone. *Neural development*, 7(1), p.25. Available at: <http://www.neuraldevelopment.com/content/7/1/25> [Accessed November 15, 2015].
- Ogawa, M. et al., 1995. The reeler gene-associated antigen on Cajal-Retzius neurons is a crucial molecule for laminar organization of cortical neurons. *Neuron*, 14(5), pp.899–912. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7748558> [Accessed October 29, 2015].
- Ognibene, E. et al., 2007. Neurobehavioural disorders in the infant reeler mouse model: interaction of genetic vulnerability and consequences of maternal separation. *Behavioural brain research*, 177(1), pp.142–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17141885> [Accessed November 16, 2015].
- Ohkubo, N. et al., 2007. Reelin signals survival through Src-family kinases that inactivate BAD activity. *Journal of neurochemistry*, 103(2), pp.820–30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17696989> [Accessed November 15, 2015].
- Oláh, S. et al., 2007. Output of neurogliaform cells to various neuron types in the human and rat cerebral cortex. *Frontiers in neural circuits*, 1, p.4. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/neuro.04.004.2007>.
- Olin, S.S., John, R.S. & Mednick, S.A., 1995. Assessing the predictive value of teacher reports in a high risk sample for schizophrenia: a ROC analysis. *Schizophrenia research*, 16(1), pp.53–66. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7547645> [Accessed November 16, 2015].
- Opris, I. & Casanova, M.F., 2014. Prefrontal cortical minicolumn: from executive control to disrupted cognitive processing. *Brain: a journal of neurology*, 137(Pt 7), pp.1863–1875. Available at: <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awt359>.
- Ostlund, S.B. & Balleine, B.W., 2005. Lesions of medial prefrontal cortex disrupt the acquisition but not the expression of goal-directed learning. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(34), pp.7763–70. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16120777> [Accessed October 8, 2015].
- Otsuka, T. & Kawaguchi, Y., 2013. Common excitatory synaptic inputs to electrically connected cortical fast-spiking cell networks. *Journal of neurophysiology*, 110(4), pp.795–806. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23678022> [Accessed November 14, 2015].
- Otsuka, T. & Kawaguchi, Y., 2008. Firing-pattern-dependent specificity of cortical excitatory feed-forward subnetworks. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 28(44), pp.11186–11195. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1921-08.2008>.
- Panksepp, J. et al., 1994. Effects of neonatal decortication on the social play of juvenile rats. *Physiology & behavior*, 56(3),

- pp.429–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7972392> [Accessed November 15, 2015].
- Panksepp, J., 1981. The ontogeny of play in rats. *Developmental psychobiology*, 14(4), pp.327–332. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/dev.420140405>.
- Panteri, R. et al., Reelin is transiently expressed in the peripheral nerve during development and is upregulated following nerve crush. *Molecular and cellular neurosciences*, 32(1-2), pp.133–42. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16697663> [Accessed November 15, 2015].
- Pappas, G.D., Kriho, V. & Pesold, C., Reelin in the extracellular matrix and dendritic spines of the cortex and hippocampus: a comparison between wild type and heterozygous reeler mice by immunoelectron microscopy. *Journal of Neurocytology*, 30(5), pp.413–425. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1023/A%3A1015017710332> [Accessed November 16, 2015].
- Pappas, G.D., Kriho, V. & Pesold, C., 2001. Reelin in the extracellular matrix and dendritic spines of the cortex and hippocampus: a comparison between wild type and heterozygous reeler mice by immunoelectron microscopy. *Journal of neurocytology*, 30(5), pp.413–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11951052> [Accessed November 15, 2015].
- Parker, V. & Morinan, A., 1986. The socially-isolated rat as a model for anxiety. *Neuropharmacology*, (25), pp.663–664.
- Parrott, R.F., Houpt, K.A. & Misson, B.H., 1988. Modification of the responses of sheep to isolation stress by the use of mirror panels. *Applied Animal Behaviour Science*, 19(3-4), pp.31–338.
- Parten, M.B., 1932. Social participation among pre-school children. *Journal of Abnormal and Social Psychology*, 27(3), pp.243–269.
- Pascual, R. & Zamora-León, S.P., 2007. Effects of neonatal maternal deprivation and postweaning environmental complexity on dendritic morphology of prefrontal pyramidal neurons in the rat. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 67(4), pp.471–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18320724> [Accessed November 15, 2015].
- Pascual, R., Zamora-León, S.P. & Valero-Cabré, A., 2006. Effects of postweaning social isolation and re-socialization on the expression of vasoactive intestinal peptide (VIP) and dendritic development in the medial prefrontal cortex of the rat. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 66(1), pp.7–14. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16617672> [Accessed November 16, 2015].
- Passetti, F., Chudasama, Y. & Robbins, T.W., 2002. The frontal cortex of the rat and visual attentional performance: dissociable functions of distinct medial prefrontal subregions. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 12(12), pp.1254–68. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12427677> [Accessed October 8, 2015].
- Paulus, M.P., Bakshi, V.P. & Geyer, M.A., 1998. Isolation rearing affects sequential organization of motor behavior in post-pubertal but not pre-pubertal Lister and Sprague-Dawley rats. *Behavioural brain research*, 94(2), pp.271–80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9722278> [Accessed November 16, 2015].
- Pellis, Pellis, V.C. & Bell, H.C., 2010. The function of play in the development of the social brain.
- Pellis, S.M. et al., 2006. The effects of orbital frontal cortex damage on the modulation of defensive responses by rats in playful and nonplayful social contexts. *Behavioral neuroscience*, 120(1), pp.72–84. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16492118> [Accessed November 15, 2015].
- Pellis, S.M. et al., 1993. The role of the striatum in organizing sequences of play fighting in neonatally dopamine-depleted rats. *Neuroscience letters*, 158(1), pp.13–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8233066> [Accessed November 15, 2015].
- Penzes, P. et al., 2011. Dendritic spine pathology in neuropsychiatric disorders. *Nature neuroscience*, 14(3), pp.285–293. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nn.2741>.

- Penzes, P. & Remmers, C., 2012. Kalirin signaling: implications for synaptic pathology. *Molecular neurobiology*, 45(1), pp.109–18. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3303189&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Persico, A.M. et al., 2001. Reelin gene alleles and haplotypes as a factor predisposing to autistic disorder. *Molecular psychiatry*, 6(2), pp.150–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11317216> [Accessed November 16, 2015].
- Pesold, C. et al., 1998. Reelin is preferentially expressed in neurons synthesizing gamma-aminobutyric acid in cortex and hippocampus of adult rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(6), pp.3221–6. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=19723&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Petanjek, Z. et al., 2011. Extraordinary neoteny of synaptic spines in the human prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(32), pp.13281–13286. Available at: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1105108108>.
- Peters, A., Payne, B.R. & Josephson, K., 1990. Transcallosal non-pyramidal cell projections from visual cortex in the cat. *The Journal of comparative neurology*, 302(1), pp.124–42. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2086610> [Accessed November 14, 2015].
- Peters, J., Kalivas, P.W. & Quirk, G.J., 2009. Extinction circuits for fear and addiction overlap in prefrontal cortex. *Learning & memory* {(Cold) Spring Harbor, {N.Y.}}, 16(5), pp.279–288. Available at: <http://dx.doi.org/10.1101/lm.1041309>.
- Peters, Y.M., O'Donnell, P. & Carelli, R.M., 2005. Prefrontal cortical cell firing during maintenance, extinction, and reinstatement of goal-directed behavior for natural reward. *Synapse (New York, N.Y.)*, 56(2), pp.74–83. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15729742> [Accessed October 6, 2015].
- Petrides, M. & Pandya, D.N., 2009. Distinct parietal and temporal pathways to the homologues of Broca's area in the monkey. *{PLoS} biology*, 7(8), p.e1000170. Available at: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1000170>.
- Pfaff, D.W. & Lewis, C., 1974. Film analyses of lordosis in female rats. *Hormones and behavior*, 5(4), pp.317–35. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4455593> [Accessed November 16, 2015].
- Pfau, J.G. & Phillips, A.G., 1991. Role of dopamine in anticipatory and consummatory aspects of sexual behavior in the male rat. *Behavioral neuroscience*, 105(5), pp.727–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1840012> [Accessed November 16, 2015].
- Phillips, G.D. et al., 1994. Isolation rearing enhances the locomotor response to cocaine and a novel environment, but impairs the intravenous self-administration of cocaine. *Psychopharmacology*, 115(3), pp.407–18. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7871083> [Accessed November 16, 2015].
- Phillips, M.L., Ladouceur, C.D. & Drevets, W.C., 2008. A neural model of voluntary and automatic emotion regulation: implications for understanding the pathophysiology and neurodevelopment of bipolar disorder. *Molecular Psychiatry*, 13(9), pp.833–857. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2008.65>.
- Piaget, J., 1964. Cognitive development in children. in *Piaget rediscovered*. Ithaca, NY: Cornell University Press.
- Pickel, V.M. et al., 2006. Targeting dopamine D2 and cannabinoid-1 (CB1) receptors in rat nucleus accumbens. *The Journal of comparative neurology*, 495(3), pp.299–313. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1698281&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].

- Pietro Paolo, S., Feldon, J. & Yee, B.K., 2008. Nonphysical contact between cagemates alleviates the social isolation syndrome in C57BL/6 male mice. *Behavioral neuroscience*, 122(3), pp.505–15. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18513121> [Accessed November 16, 2015].
- Pirot, S. et al., 1992. Inhibitory effects of ventral tegmental area stimulation on the activity of prefrontal cortical neurons: evidence for the involvement of both dopaminergic and GABAergic components. *Neuroscience*, 49(4), pp.857–65. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1436485> [Accessed October 5, 2015].
- Pisu, M.G. et al., 2011. Effects of voluntary ethanol consumption on emotional state and stress responsiveness in socially isolated rats. *European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 21(5), pp.414–25. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3044778&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 12, 2015].
- Pitman, D.L., Ottenweller, J.E. & Natelson, B.H., 1988. Plasma corticosterone levels during repeated presentation of two intensities of restraint stress: chronic stress and habituation. *Physiology & behavior*, 43(1), pp.47–55. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3413250> [Accessed November 16, 2015].
- Podhorna, J. & Didriksen, M., 2004. The heterozygous reeler mouse: Behavioural phenotype. *Behavioural Brain Research*, 153(1), pp.43–54.
- Polleux, F., Dehay, C. & Kennedy, H., 1998. Neurogenesis and commitment of corticospinal neurons in reeler. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 18(23), pp.9910–23. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9822747> [Accessed November 15, 2015].
- Poorthuis, R.B. et al., 2013. Layer-specific modulation of the prefrontal cortex by nicotinic acetylcholine receptors. *Cerebral cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 23(1), pp.148–61. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3513956&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Porsolt, R.D., Le Pichon, M. & Jalfre, M., 1977. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266(5604), pp.730–2. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/559941> [Accessed November 16, 2015].
- Pournajafi-Nazarloo, H. et al., 2011. Effects of social isolation on mRNA expression for corticotrophin-releasing hormone receptors in prairie voles. *Psychoneuroendocrinology*, 36(6), pp.780–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3104077&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Powell, C.M. & Miyakawa, T., 2006. Schizophrenia-relevant behavioral testing in rodent models: a uniquely human disorder? *Biological psychiatry*, 59(12), pp.1198–207. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3928106&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 12, 2015].
- Pratt, W.E. & Mizumori, S.J., 2001. Neurons in rat medial prefrontal cortex show anticipatory rate changes to predictable differential rewards in a spatial memory task. *Behavioural brain research*, 123(2), pp.165–83. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11399329> [Accessed November 15, 2015].
- Preece, J., Nonnecke, B. & Andrews, D., 2004. The top five reasons for lurking: improving community experiences for everyone. *Computers in Human Behavior*, 20(2), pp.201–223. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0747563203000876> [Accessed November 16, 2015].
- Pressman, S.D. et al., 2005. Loneliness, Social Network Size, and Immune Response to Influenza Vaccination in College Freshmen. *Health Psychology*, 24(3), pp.297–306. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15898866> [Accessed October 5, 2015].

- Preuss, T.M., 1995. Do rats have prefrontal cortex? The rose-woolsey-akert program reconsidered. *Journal of cognitive neuroscience*, 7(1), pp.1–24. Available at: <http://dx.doi.org/10.1162/jocn.1995.7.1.1>.
- Price, C.J. et al., 2005. Neurogliaform neurons form a novel inhibitory network in the hippocampal CA1 area. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(29), pp.6775–86. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16033887> [Accessed November 14, 2015].
- Price, J.L. & Drevets, W.C., 2010. Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(1), pp.192–216. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2009.104> [Accessed August 28, 2015].
- Puig, M. V & Gullledge, A.T., 2011. Serotonin and prefrontal cortex function: neurons, networks, and circuits. *Molecular neurobiology*, 44(3), pp.449–464. Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-011-8214-0>.
- Puig, M.V. et al., 2010. Serotonin modulates fast-spiking interneuron and synchronous activity in the rat prefrontal cortex through 5-HT1A and 5-HT2A receptors. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(6), pp.2211–22. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20147548> [Accessed November 14, 2015].
- Pujadas, L. et al., 2010. Reelin regulates postnatal neurogenesis and enhances spine hypertrophy and long-term potentiation. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(13), pp.4636–49. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20357114> [Accessed November 15, 2015].
- Purves, D. & Lichtman, J.W., 1980. Elimination of synapses in the developing nervous system. *Science (New York, N.Y.)*, 210(4466), pp.153–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7414326> [Accessed November 16, 2015].
- Qiu, S., Korwek, K.M., et al., 2006. Cognitive disruption and altered hippocampus synaptic function in Reelin haploinsu Y cient mice. , 85, pp.228–242.
- QIU, S. et al., 2006. Cognitive disruption and altered hippocampus synaptic function in Reelin haploinsufficient mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, 85(3), p.228242. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2005.11.001>.
- Qiu, S., Zhao, L.F., et al., 2006. Differential Reelin-Induced Enhancement of NMDA and AMPA Receptor Activity in the Adult Hippocampus. , 26(50), pp.12943–12955.
- Qiu, S. & Weeber, E.J., 2007. Reelin signaling facilitates maturation of CA1 glutamatergic synapses. *Journal of neurophysiology*, 97(3), pp.2312–21. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17229826> [Accessed November 15, 2015].
- Quinn, J.J. et al., 2008. Inverse temporal contributions of the dorsal hippocampus and medial prefrontal cortex to the expression of long-term fear memories. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 15(5), pp.368–72. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3960031&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 26, 2015].
- Quirk, G.J. & Beer, J.S., 2006. Prefrontal involvement in the regulation of emotion: convergence of rat and human studies. *Current opinion in neurobiology*, 16(6), pp.723–727. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.conb.2006.07.004>.
- Radley, J.J., Arias, C.M. & Sawchenko, P.E., 2006. Regional Differentiation of the Medial Prefrontal Cortex in Regulating Adaptive Responses to Acute Emotional Stress. *The Journal of Neuroscience*, 26(50), pp.12967–12976. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4297-06.2006>.
- Raedler, T.J., Knable, M.B. & Weinberger, D.R., 1998. Schizophrenia as a developmental disorder of the cerebral cortex. *Current opinion in neurobiology*, 8(1), pp.157–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9568403> [Accessed October 27, 2015].
- Ragozzino, M.E., Wilcox, C. & Raso, M., 1999. Involvement of rodent prefrontal cortex subregions in strategy switching.

- Rakic, P. & Caviness, V.S., 1995. Cortical development: view from neurological mutants two decades later. *Neuron*, 14(6), pp.1101–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7605626> [Accessed November 15, 2015].
- Ramos-Moreno, T. et al., 2006. Extracellular matrix molecules and synaptic plasticity: immunomapping of intracellular and secreted Reelin in the adult rat brain. *The European journal of neuroscience*, 23(2), pp.401–22. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16420448> [Accessed November 15, 2015].
- Rao, S.G., Williams, G. V. & Goldman-Rakic, P.S., 1999. Isodirectional Tuning of Adjacent Interneurons and Pyramidal Cells During Working Memory: Evidence for Microcolumnar Organization in PFC. *J Neurophysiol*, 81(4), pp.1903–1916. Available at: <http://jn.physiology.org/content/81/4/1903.long> [Accessed November 15, 2015].
- Ratajczak, P., Wozniak, A. & Nowakowska, E., 2013. Animal models of schizophrenia: developmental preparation in rats. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 73(4), pp.472–484.
- Ratajczak, P., Woźniak, A. & Nowakowska, E., 2013. Animal models of schizophrenia: Developmental preparation in rats.
- Rawlins, J.N., Feldon, J. & Butt, S., 1985. The effects of delaying reward on choice preference in rats with hippocampal or selective septal lesions. *Behavioural brain research*, 15(3), pp.191–203. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4005029> [Accessed November 15, 2015].
- Reid, J.M., Jacklin, D.L. & Winters, B.D., 2014. Delineating Prefrontal Cortex Region Contributions to Crossmodal Object Recognition in Rats. *Cerebral Cortex*, 24(8), pp.2108–2119. Available at: <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/bht061>.
- Rescorla, R.A., 2004. Spontaneous recovery. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 11(5), pp.501–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15466300> [Accessed November 15, 2015].
- Restivo, L. et al., 2009. The formation of recent and remote memory is associated with time-dependent formation of dendritic spines in the hippocampus and anterior cingulate cortex. *The Journal of neuroscience*, 29(25), pp.8206–8214. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0966-09.2009>.
- Retaux, S., Besson, M.J. & Penit-Soria, J., 1991. Synergism between D1 and D2 dopamine receptors in the inhibition of the evoked release of [3H]GABA in the rat prefrontal cortex. *Neuroscience*, 43(2-3), pp.323–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1833669> [Accessed November 15, 2015].
- Rich, E.L. & Shapiro, M., 2009. Rat prefrontal cortical neurons selectively code strategy switches. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6068-08.2009>.
- Rich, E.L. & Shapiro, M., 2009. Rat prefrontal cortical neurons selectively code strategy switches. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 29(22), pp.7208–19. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3229282&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 6, 2015].
- Ridderinkhof, K.R. et al., 2002. Alcohol consumption impairs detection of performance errors in mediofrontal cortex. *Science (New York, N.Y.)*, 298(5601), pp.2209–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12424384> [Accessed November 16, 2015].
- Ridderinkhof, K.R. et al., 2004. The role of the medial frontal cortex in cognitive control. *Science (New York, N.Y.)*, 306(5695), pp.443–447. Available at: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1100301>.
- Ridderinkhof, R.K. et al., 2004. Neurocognitive mechanisms of cognitive control: the role of prefrontal cortex in action selection, response inhibition, performance monitoring, and reward-based learning. *Brain and cognition*, 56(2), pp.129–140. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bandc.2004.09.016>.
- Riga, D. et al., 2014. Optogenetic dissection of medial prefrontal cortex circuitry. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 8, p.230. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fnsys.2014.00230>.

- Ringstedt, T. et al., 1998. BDNF regulates reelin expression and Cajal-Retzius cell development in the cerebral cortex. *Neuron*, 21(2), pp.305–15. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9728912> [Accessed November 16, 2015].
- Del Rio, J.A. et al., 1997. A role for Cajal–Retzius cells and reelin in the development of hippocampal connections. *Nature*, 385(6611), pp.70–74. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8985248> [Accessed October 5, 2015].
- Robbins, T.W. & Everitt, B.J., 1995. Central norepinephrine neurons and behaviour. In *Psychopharmacology: Fourth Generation of Progress*. pp. 363–372.
- Robbins, T.W. & Everitt, B.J., 2002. Limbic-striatal memory systems and drug addiction. *Neurobiology of learning and memory*, 78(3), pp.625–36. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12559840> [Accessed October 24, 2015].
- Robbins, T.W., Jones, G.H. & Wilkinson, L.S., 1996. Behavioural and neurochemical effects of early social deprivation in the rat. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, 10(1), pp.39–47. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22302726> [Accessed November 16, 2015].
- Roberts, L. & Greene, J.R.T., 2003. Post-weaning social isolation of rats leads to a diminution of {LTP} in the {CA1} to subiculum pathway. *Brain Research*, 991(1-2), pp.271–273. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2003.08.022>.
- Robinson, S. a et al., 2010. The effect of social isolation on rat brain expression of genes associated with endocannabinoid signaling. *Brain research*, 1343, pp.153–67. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20430015>.
- Roche, K.W. et al., 1996. Characterization of multiple phosphorylation sites on the AMPA receptor GluR1 subunit. *Neuron*, 16(6), pp.1179–88. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8663994> [Accessed October 7, 2015].
- Rodriguez, M.A. et al., 2000. Colocalization of integrin receptors and reelin in dendritic spine postsynaptic densities of adult nonhuman primate cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(7), pp.3550–5. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=16277&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Rogers, J.T. et al., 2013. Reeler Mouse. , 27(4).
- Rogers, J.T., Rusiana, I., Trotter, J., Zhao, L., Donaldson, E., Pak, D.T.S., Babus, L.W., Peters, M., Banko, J.L., Chavis, P., Rebeck, W.G., et al., 2011. Reelin supplementation enhances cognitive ability, synaptic plasticity, and dendritic spine density. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 18(9), pp.558–564. Available at: <http://dx.doi.org/10.1101/lm.2153511>.
- Rogers, J.T., Rusiana, I., Trotter, J., Zhao, L., Donaldson, E., Pak, D.T.S., Babus, L.W., Peters, M., Banko, J.L., Chavis, P., Rebeck, G.W., et al., 2011. Reelin supplementation enhances cognitive ability, synaptic plasticity, and dendritic spine density. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 18(9), pp.558–564.
- Romay-Tallon, R. et al., 2015. Differential effects of corticosterone on the colocalization of reelin and neuronal nitric oxide synthase in the adult hippocampus in wild type and heterozygous reeler mice. *Brain Research*, 1594, pp.274–283. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006899314014723>.
- Romero-Granados, R. et al., 2010. From learning to forgetting: behavioral, circuitry, and molecular properties define the different functional states of the recognition memory trace. *Hippocampus*, 20(5), pp.584–95. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19603520> [Accessed November 15, 2015].
- De Roo, M. et al., 2009. Anesthetics rapidly promote synaptogenesis during a critical period of brain development. *PloS one*, 4(9), p.e7043. Available at:

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2738943&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>  
[Accessed November 16, 2015].

- Rose, J.E. & Woolsey, C.N., 1948. Structure and relations of limbic cortex and anterior thalamic nuclei in rabbit and cat. *The Journal of comparative neurology*, 89(3), pp.279–347. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18103781> [Accessed November 15, 2015].
- Ross, C.A. et al., 2006. Neurobiology of schizophrenia. *Neuron*, 52(1), pp.139–153. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2006.09.015>.
- Rossi, M.A. et al., 2012. Prefrontal cortical mechanisms underlying delayed alternation in mice. *Journal of Neurophysiology*. Available at: <http://dx.doi.org/10.1152/jn.01060.2011>.
- Royaux, I. et al., 1997. Reln(rl-Alb2), an allele of reeler isolated from a chlorambucil screen, is due to an IAP insertion with exon skipping. *Genomics*, 42(3), pp.479–82. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9205121> [Accessed November 15, 2015].
- Rudy, B. et al., 2011. Three groups of interneurons account for nearly 100% of neocortical {GABAergic} neurons. *Developmental neurobiology*, 71(1), pp.45–61. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/dneu.20853>.
- Rudy, J.W., Biedenkapp, J.C. & O'Reilly, R.C., Prefrontal cortex and the organization of recent and remote memories: an alternative view. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 12(5), pp.445–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16166399> [Accessed November 15, 2015].
- Ruiz, J.C. et al., 2007. Intellectual functioning and memory deficits in schizophrenia. *Comprehensive psychiatry*, 48(3), pp.276–82. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17445523> [Accessed November 16, 2015].
- Ruscio, M.G. et al., 2007. Social environment regulates corticotropin releasing factor, corticosterone and vasopressin in juvenile prairie voles. *Hormones and behavior*, 51(1), pp.54–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17007856> [Accessed November 16, 2015].
- Rushen, J. et al., 1999. Opioid peptides and behavioral and physiological responses of dairy cows to social isolation in unfamiliar surroundings. *Journal of animal science*, 77(11), pp.2918–24. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10568459> [Accessed November 16, 2015].
- Rushworth, M.F.S. et al., 2011. Frontal cortex and reward-guided learning and decision-making. *Neuron*, 70(6), pp.1054–1069. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2011.05.014>.
- Sabihi, S. et al., 2014. Oxytocin in the medial prefrontal cortex regulates maternal care, maternal aggression and anxiety during the postpartum period. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, p.258. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00258>.
- Sachs, B.D., 1988. The development of grooming and its expression in adult animals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 525, pp.1–17. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3291663> [Accessed November 16, 2015].
- Sahakian, B.J. & Robbins, T.W., 1977. Isolation-rearing enhances tail pinch-induced oral behavior in rats. *Physiology & behavior*, 18(1), pp.53–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/561971> [Accessed November 16, 2015].
- Sakaue, M. et al., 2003. The 5-HT1A receptor agonist MKC-242 reverses isolation rearing-induced deficits of prepulse inhibition in mice. *Psychopharmacology*, 170(1), pp.73–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12768276> [Accessed November 16, 2015].
- Salinger, W.L., Ladrow, P. & Wheeler, C., 2003. Behavioral Phenotype of the Reeler Mutant Mouse: Effects of Reln Gene Dosage and Social Isolation. *Behavioral Neuroscience*, 117(6), pp.1257–1275. Available at: <http://dx.doi.org/10.1037/0735-7044.117.6.1257>.

- Sánchez, M.M. et al., 1998. Neuroendocrine and Immunocytochemical Demonstrations of Decreased Hypothalamo-Pituitary- Long-Term Social Isolation. *Endocrinology*, 139(2), pp.579–587.
- Sanna, E. et al., 2011. Voluntary Ethanol Consumption Induced by Social Isolation Reverses the Increase of  $\alpha/8$  {GABAA} Receptor Gene Expression and Function in the Hippocampus of {C57BL/6J} Mice. *Frontiers in Neuroscience*, 5. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fnins.2011.00015>.
- Santana, N., Mengod, G. & Artigas, F., 2009. Quantitative analysis of the expression of dopamine D1 and D2 receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 19(4), pp.849–60. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18689859> [Accessed November 14, 2015].
- Sapolsky, R.M., Alberts, S.C. & Altmann, J., 1997. Hypercortisolism associated with social subordination or social isolation among wild baboons. *Archives of general psychiatry*, 54(12), pp.1137–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9400351> [Accessed October 5, 2015].
- Saviouk, V. et al., 2007. Association of synapsin 2 with schizophrenia in families of Northern European ancestry. *Schizophrenia research*, 96(1-3), pp.100–11. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2169360&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Savitz, J., Lucki, I. & Drevets, W.C., 2009. 5-HT1A receptor function in major depressive disorder. *Progress in Neurobiology*, 88(1), pp.17–31. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2736801&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 1, 2015].
- Schacter, D.L. & Addis, D.R., 2007. The cognitive neuroscience of constructive memory: remembering the past and imagining the future. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 362(1481), pp.773–786. Available at: <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2007.2087>.
- Schacter, D.L., Addis, D.R. & Buckner, R.L., 2008. Episodic simulation of future events: concepts, data, and applications. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1124, pp.39–60. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18400923> [Accessed November 15, 2015].
- Schacter, D.L., Addis, D.R. & Buckner, R.L., 2007. Remembering the past to imagine the future: the prospective brain. *Nature reviews. Neuroscience*, 8(9), pp.657–661. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn2213>.
- Schenk, S., Gorman, K. & Amit, Z., 1990. Age-dependent effects of isolation housing on the self-administration of ethanol in laboratory rats. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 7(4), pp.321–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2390208> [Accessed November 16, 2015].
- Schiffmann, S.N., Bernier, B. & Goffinet, A.M., 1997. Reelin mRNA expression during mouse brain development. *The European journal of neuroscience*, 9(5), pp.1055–71. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9182958> [Accessed November 15, 2015].
- Schinkel, C., 2003. The role of IFN-gamma in surgical patients. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, 23(7), pp.341–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14511460> [Accessed November 16, 2015].
- Schmid, R.S. et al., 2005. Reelin, integrin and DAB1 interactions during embryonic cerebral cortical development. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 15(10), pp.1632–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15703255> [Accessed November 15, 2015].
- Schneider, M. & Koch, M., 2005. Behavioral and morphological alterations following neonatal excitotoxic lesions of the medial prefrontal cortex in rats. *Experimental neurology*, 195(1), pp.185–98. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15935347> [Accessed October 16, 2015].

- Schrijver, N.C. & Würbel, H., 2001. Early social deprivation disrupts attentional, but not affective, shifts in rats. *Behavioral neuroscience*, 115(2), pp.437–42. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11345968> [Accessed November 16, 2015].
- Schrijver, N.C.A. et al., 2004. Double dissociation of social and environmental stimulation on spatial learning and reversal learning in rats. *Behavioural brain research*, 152(2), pp.307–14. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15196798> [Accessed November 16, 2015].
- Schubert, M.I. et al., 2009. Effects of social isolation rearing on the limbic brain: a combined behavioral and magnetic resonance imaging volumetry study in rats. *Neuroscience*, 159(1), pp.21–30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19141315> [Accessed November 16, 2015].
- Schultz, C.C. et al., 2010. Reduced cortical thickness in first episode schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 116(2-3), pp.204–209. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0920996409005489>.
- Sciolino, N.R. et al., 2010. Social isolation and chronic handling alter endocannabinoid signaling and behavioral reactivity to context in adult rats. *Neuroscience*, 168(2), pp.371–86. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2882942&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Seamans, J.K. et al., 2001. Bidirectional dopamine modulation of GABAergic inhibition in prefrontal cortical pyramidal neurons. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(10), pp.3628–38. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11331392> [Accessed November 15, 2015].
- Sekine, K., Kubo, K.I. & Nakajima, K., 2014. How does Reelin control neuronal migration and layer formation in the developing mammalian neocortex? *Neuroscience Research*, 86, pp.50–58. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neures.2014.06.004>.
- Selemon, L.D., 2013. A role for synaptic plasticity in the adolescent development of executive function. *Translational psychiatry*, 3, p.e238. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3625918&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 9, 2015].
- Semple, D.M., McIntosh, A.M. & Lawrie, S.M., 2005. Cannabis as a risk factor for psychosis: systematic review. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, 19(2), pp.187–94. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15871146> [Accessed November 15, 2015].
- Serra, M. et al., 2008. Changes in neuroactive steroid content during social isolation stress modulate {GABAA} receptor plasticity and function. *Brain research reviews*, 57(2), pp.520–530. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.06.029>.
- Serra, M. et al., 2007. Social isolation stress and neuroactive steroids. *European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 17(1), pp.1–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16626946> [Accessed November 15, 2015].
- Serra, M. et al., 2005. Social isolation-induced changes in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 8(4), pp.259–264. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/10253890500495244>.
- Sestito, R.S. et al., 2010. Effect of isolation rearing on the expression of {AMPA} glutamate receptors in the hippocampal formation. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, 25(12), pp.1720–1729. Available at: <http://dx.doi.org/10.1177/0269881110385595>.
- Sewards, T. V & Sewards, M.A., 2002. The medial pain system: neural representations of the motivational aspect of pain. *Brain research bulletin*, 59(3), pp.163–80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12431746> [Accessed November 15, 2015].

- Sheldon, M. et al., 1997. Scrambler and yotari disrupt the disabled gene and produce a reeler-like phenotype in mice. *Nature*, 389(6652), pp.730–3. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9338784> [Accessed November 11, 2015].
- Shepherd, G.M., 2013. Corticostriatal connectivity and its role in disease. *Nature reviews. Neuroscience*, 14(4), pp.278–291. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn3469>.
- Shevlin, M., McElroy, E. & Murphy, J., 2014. Loneliness mediates the relationship between childhood trauma and adult psychopathology: evidence from the adult psychiatric morbidity survey. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 50(4). Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/s00127-014-0951-8>.
- Shigematsu, N. et al., 2015. Selective Thalamic Innervation of Rat Frontal Cortical Neurons. *Cerebral cortex {(New} York, {N.Y.} : 1991)*. Available at: <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/bhv124>.
- Shors, T. et al., 1989. Inescapable versus escapable shock modulates long-term potentiation in the rat hippocampus. *Science*, 244(4901), pp.224–226. Available at: <http://www.sciencemag.org/content/244/4901/224.abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Siapas, A.G., Lubenov, E. V & Wilson, M.A., 2005. Prefrontal phase locking to hippocampal theta oscillations. *Neuron*, 46(1), pp.141–51. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15820700> [Accessed May 13, 2015].
- Sibbe, M. et al., 2009. Reelin and Notch1 cooperate in the development of the dentate gyrus. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 29(26), pp.8578–85. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19571148> [Accessed November 15, 2015].
- Sidorov, M.S., Auerbach, B.D. & Bear, M.F., 2013. Fragile X mental retardation protein and synaptic plasticity. *Molecular brain*, 6, p.15. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3636002&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Silva-Gómez, A.B. et al., 2003. Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical and hippocampal pyramidal neurons in postweaning social isolation rats. *Brain research*, 983(1-2), pp.128–136. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(03\)03042-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(03)03042-7).
- Simerly, R.B., 2002. Wired for reproduction: organization and development of sexually dimorphic circuits in the mammalian forebrain. *Annual review of neuroscience*, 25, pp.507–36. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12052919> [Accessed November 9, 2015].
- Simó, S. et al., 2007. Reelin induces the detachment of postnatal subventricular zone cells and the expression of the Egr-1 through Erk1/2 activation. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 17(2), pp.294–303. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16514107> [Accessed October 5, 2015].
- Simon, A. et al., 2005. Gap-junctional coupling between neurogliaform cells and various interneuron types in the neocortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(27), pp.6278–85. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16000617> [Accessed November 14, 2015].
- Sinagra, M. et al., 2008. Glutamatergic cerebellar granule neurons synthesize and secrete reelin in vitro. *Neuron glia biology*, 4(3), pp.189–96. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19678965> [Accessed November 15, 2015].
- Sinagra, M., 2005. Reelin, Very-Low-Density Lipoprotein Receptor, and Apolipoprotein E Receptor 2 Control Somatic NMDA Receptor Composition during Hippocampal Maturation In Vitro. *Journal of Neuroscience*, 25(26), pp.6127–6136. Available at: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.1757-05.2005>.
- Sinagra, M. et al., 2005. Reelin, very-low-density lipoprotein receptor, and apolipoprotein E receptor 2 control somatic

- NMDA receptor composition during hippocampal maturation in vitro. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(26), pp.6127–36. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15987942> [Accessed November 15, 2015].
- Slattery, D.A., Neumann, I.D. & Cryan, J.F., 2011. Transient inactivation of the infralimbic cortex induces antidepressant-like effects in the rat. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, 25(10), pp.1295–303. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20530589> [Accessed October 22, 2015].
- Smalheiser, N.R. et al., 2000. Expression of reelin in adult mammalian blood, liver, pituitary pars intermedia, and adrenal chromaffin cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(3), pp.1281–6. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=15597&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Smith, R.E. et al., 2007. The cost of event-based prospective memory: salient target events. *Journal of experimental psychology. Learning, memory, and cognition*, 33(4), pp.734–46. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17576150> [Accessed November 15, 2015].
- Smith, R.E., 2003. The cost of remembering to remember in event-based prospective memory: investigating the capacity demands of delayed intention performance. *Journal of experimental psychology. Learning, memory, and cognition*, 29(3), pp.347–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12776746> [Accessed November 15, 2015].
- Smith, T.E. & French, J.A., 1997. Social and reproductive conditions modulate urinary cortisol excretion in black tufted-ear marmosets (*Callithrix kuhli*). *American journal of primatology*, 42(4), pp.253–67. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9261507> [Accessed November 16, 2015].
- Sokolov, B.P., 1998. Expression of NMDAR1, GluR1, GluR7, and KA1 glutamate receptor mRNAs is decreased in frontal cortex of “neuroleptic-free” schizophrenics: evidence on reversible up-regulation by typical neuroleptics. *Journal of neurochemistry*, 71(6), pp.2454–64. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9832144> [Accessed November 16, 2015].
- Sokolov, B.P. et al., 2000. Levels of mRNAs encoding synaptic vesicle and synaptic plasma membrane proteins in the temporal cortex of elderly schizophrenic patients. *Biological psychiatry*, 48(3), pp.184–96. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10924661> [Accessed November 16, 2015].
- Sorge, R.E. et al., 2014. Olfactory exposure to males, including men, causes stress and related analgesia in rodents. *Nature methods*, 11(6), pp.629–32. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth.2935> [Accessed November 16, 2015].
- Soriano, E. & Del Río, J.A., 2005. The cells of cajal-retzius: still a mystery one century after. *Neuron*, 46(3), pp.389–94. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15882637> [Accessed August 24, 2015].
- Sotres-Bayon, F., Bush, D.E.A. & LeDoux, J.E., 2004. Emotional perseveration: an update on prefrontal-amygdala interactions in fear extinction. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 11(5), pp.525–35. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15466303> [Accessed June 3, 2015].
- Southwick, S.M., Vythilingam, M. & Charney, D.S., 2005. The psychobiology of depression and resilience to stress: implications for prevention and treatment. *Annual review of clinical psychology*, 1, pp.255–91. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17716089> [Accessed November 16, 2015].
- Spanwick, S.C. & Dyck, R.H., 2012. Object/context specific memory deficits following medial frontal cortex damage in mice. *{PloS} one*, 7(8), p.e43698. Available at: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0043698>.
- Sparta, D.R. et al., 2014. Activation of prefrontal cortical parvalbumin interneurons facilitates extinction of reward-seeking behavior. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 34(10), pp.3699–3705. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0235-13.2014>.

- Spear, L.P. & Brake, S.C., 1983. Periadolescence: age-dependent behavior and psychopharmacological responsivity in rats. *Developmental psychobiology*, 16(2), pp.83–109. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6339302> [Accessed November 16, 2015].
- Spencer, S.J., Buller, K.M. & Day, T.A., 2005. Medial prefrontal cortex control of the paraventricular hypothalamic nucleus response to psychological stress: possible role of the bed nucleus of the stria terminalis. *The Journal of comparative neurology*, 481(4), pp.363–76. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15593338> [Accessed November 16, 2015].
- Spinka, M., Newberry, R.C. & Bekoff, M., 2001. Mammalian play: training for the unexpected. *The Quarterly review of biology*, 76(2), pp.141–68. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11409050> [Accessed November 15, 2015].
- Sporns, O., 2007. Brain connectivity. *Scholarpedia*, 2(10), p.4695.
- Stam, C.J. et al., 1989. Influence of the mesocortical dopaminergic system on activity, food hoarding, social-agonistic behavior, and spatial delayed alternation in male rats. *Behavioral neuroscience*, 103(1), pp.24–35. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2923675> [Accessed November 16, 2015].
- Steketee, J.D., 2003. Neurotransmitter systems of the medial prefrontal cortex: potential role in sensitization to psychostimulants. *Brain research. Brain research reviews*, 41(2-3), pp.203–228.
- Steptoe, A. et al., 2004. Loneliness and neuroendocrine, cardiovascular, and inflammatory stress responses in middle-aged men and women. *Psychoneuroendocrinology*, 29(5), pp.593–611. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15041083> [Accessed October 5, 2015].
- Stranahan, A.M., Erion, J.R. & Wosiski-Kuhn, M., 2013. Reelin signaling in development, maintenance, and plasticity of neural networks. *Ageing research reviews*, 12(3), pp.815–22. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4475282&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 26, 2015].
- Stranahan, A.M., Khalil, D. & Gould, E., 2006. Social isolation delays the positive effects of running on adult neurogenesis. *Nature Neuroscience*, 9(4), pp.526–533. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3029943&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 5, 2015].
- Strasser, V. et al., 2004. Receptor clustering is involved in Reelin signaling. *Molecular and cellular biology*, 24(3), pp.1378–86. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=321426&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 16, 2015].
- Strazielle, C. & Lalonde, R., 1998. Grooming in Lurcher mutant mice. *Physiology & behavior*, 64(1), pp.57–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9661982> [Accessed November 16, 2015].
- Strodl, M.A. & Schausberger, P., 2012. Social familiarity reduces reaction times and enhances survival of group-living predatory mites under the risk of predation. *PloS one*, 7(8), p.e43590. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3425479&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Strous, R.D. et al., 2004. Premorbid functioning in schizophrenia: relation to baseline symptoms, treatment response, and medication side effects. *Schizophrenia bulletin*, 30(2), pp.265–78. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15279045> [Accessed November 16, 2015].
- Sui, L. et al., 2012. Epigenetic regulation of reelin and brain-derived neurotrophic factor genes in long-term potentiation in rat medial prefrontal cortex. *Neurobiology of Learning and Memory*, 97(4), pp.425–440. Available at:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22469747> [Accessed October 12, 2015].

- Sul, J. et al., 2010. Distinct roles of rodent orbitofrontal and medial prefrontal cortex in decision making. *Neuron*. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2010.03.033>.
- Sullivan, R.M. & Gratton, A., 1999. Lateralized effects of medial prefrontal cortex lesions on neuroendocrine and autonomic stress responses in rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(7), pp.2834–40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10087094> [Accessed November 16, 2015].
- Sweet, H.O. et al., 1996. Scrambler, a new neurological mutation of the mouse with abnormalities of neuronal migration. *Mammalian genome : official journal of the International Mammalian Genome Society*, 7(11), pp.798–802. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8875886> [Accessed November 15, 2015].
- Syme, L.A. & Syme, G.J., 1973. Effects of lithium chloride on the activity of rats tested alone or in pairs. *Psychopharmacologia*, 29(1), pp.85–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4695209> [Accessed November 16, 2015].
- Takahashi, A. et al., 2014. Control of intermale aggression by medial prefrontal cortex activation in the mouse. *[PloS] one*, 9(4), p.e94657. Available at: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0094657>.
- Takahashi, A. et al., 2010. GABA(B) receptor modulation of serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus and escalation of aggression in mice. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(35), pp.11771–80. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2943331&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Takashima, A. et al., 2006. Declarative memory consolidation in humans: a prospective functional magnetic resonance imaging study. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(3), pp.756–61. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1334654&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 28, 2015].
- Takehara, K., Kawahara, S. & Kirino, Y., 2003. Time-dependent reorganization of the brain components underlying memory retention in trace eyeblink conditioning. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(30), pp.9897–905. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14586019> [Accessed November 15, 2015].
- Takehara-Nishiuchi, K. et al., 2006. Systems consolidation requires postlearning activation of NMDA receptors in the medial prefrontal cortex in trace eyeblink conditioning. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(19), pp.5049–58. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16687496> [Accessed November 14, 2015].
- Takehara-Nishiuchi, K., Kawahara, S. & Kirino, Y., NMDA receptor-dependent processes in the medial prefrontal cortex are important for acquisition and the early stage of consolidation during trace, but not delay eyeblink conditioning. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 12(6), pp.606–14. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1356179&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Takehara-Nishiuchi, K. & McNaughton, B.L., 2008. Spontaneous changes of neocortical code for associative memory during consolidation.
- Talani, G., Biggio, G. & Sanna, E., 2011. Enhanced Sensitivity to {Ethanol-Induced} Inhibition of {LTP} in {CA1} Pyramidal Neurons of Socially Isolated {C57BL/6J} Mice: Role of Neurosteroids. *Frontiers in Endocrinology*, 2. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2011.00056>.

- Tamamaki, N., 1997. Organization of the entorhinal projection to the rat dentate gyrus revealed by Dil anterograde labeling. *Experimental brain research*, 116(2), pp.250–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9348124> [Accessed November 15, 2015].
- Tamamaki, N. & Tomioka, R., 2010. Long-Range GABAergic Connections Distributed throughout the Neocortex and their Possible Function. *Frontiers in neuroscience*, 4, p.202. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3000116&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Tamás, G. et al., 2003. Identified sources and targets of slow inhibition in the neocortex. *Science (New York, N.Y.)*, 299(5614), pp.1902–1905.
- Tang, S.J. & Schuman, E.M., 2002. Protein synthesis in the dendrite. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 357(1420), pp.521–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1692956&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Tarbox, S.I. & Pogue-Geile, M.F., 2008. Development of social functioning in preschizophrenia children and adolescents: a systematic review. *Psychological bulletin*, 134(4), pp.561–83. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18605820> [Accessed November 15, 2015].
- Teixeira, C.M. et al., 2012. Cell-autonomous inactivation of the reelin pathway impairs adult neurogenesis in the hippocampus. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 32(35), pp.12051–65. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3475414&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Teixeira, C.M. et al., 2006. Involvement of the anterior cingulate cortex in the expression of remote spatial memory. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(29), pp.7555–64. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16855083> [Accessed November 15, 2015].
- Teixeira, C.M. et al., 2011. Overexpression of Reelin Prevents the Manifestation of Behavioral Phenotypes Related to Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Neuropsychopharmacology*, 36(12), pp.2395–2405. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2011.153>.
- Teixeira, M. & Marti, E.D., 2011. Overexpression of Reelin Prevents the Manifestation of Behavioral Phenotypes Related to Schizophrenia and Bipolar Disorder. , pp.2395–2405.
- Telese, F. et al., 2015. {LRP8-Reelin-Regulated} Neuronal Enhancer Signature Underlying Learning and Memory Formation. *Neuron*. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2015.03.033>.
- Temel, Y. et al., 2012. Neuromodulation in psychiatric disorders. *International review of neurobiology*, 107, pp.283–314. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23206687> [Accessed November 16, 2015].
- Terashima, T. et al., 1986. Observations on the cerebellum of normal-reeler mutant mouse chimera. *The Journal of comparative neurology*, 252(2), pp.264–78. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3782509> [Accessed November 15, 2015].
- Terranova, M.L., Cirulli, F. & Laviola, G., 1999. Behavioral and hormonal effects of partner familiarity in periadolescent rat pairs upon novelty exposure. *Psychoneuroendocrinology*, 24(6), pp.639–56. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10399773> [Accessed November 16, 2015].
- Tissir, F. & Goffinet, A.M., 2003. Reelin and brain development. *Nature reviews. Neuroscience*, 4(6), pp.496–505. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12778121> [Accessed October 29, 2015].

- Tizabi, Y. et al., 2012. Antidepressant-like effects of low ketamine dose is associated with increased hippocampal AMPA/NMDA receptor density ratio in female Wistar-Kyoto rats. *Neuroscience*, 213, pp.72–80. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3367052&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Tomioaka, R. & Rockland, K.S., 2007. Long-distance corticocortical {GABAergic} neurons in the adult monkey white and gray matter. *The Journal of comparative neurology*, 505(5), pp.526–538. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/cne.21504>.
- Toni, N. et al., 1999. LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. *Nature*, 402(6760), pp.421–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10586883> [Accessed November 15, 2015].
- Torrey, E.F. et al., 2005. Neurochemical markers for schizophrenia, bipolar disorder, and major depression in postmortem brains. *Biological psychiatry*, 57(3), pp.252–60. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15691526> [Accessed November 16, 2015].
- Toth, M. et al., 2011. Post-weaning social isolation induces abnormal forms of aggression in conjunction with increased glucocorticoid and autonomic stress responses. *Hormones and behavior*, 60(1), pp.28–36.
- Toua, C. et al., 2010. The effects of sub-chronic clozapine and haloperidol administration on isolation rearing induced changes in frontal cortical N-methyl-D-aspartate and D1 receptor binding in rats. *Neuroscience*, 165(2), pp.492–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19854242> [Accessed November 16, 2015].
- Tovar, K.R. & Westbrook, G.L., 2002. Mobile NMDA receptors at hippocampal synapses. *Neuron*, 34(2), pp.255–64. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11970867> [Accessed November 15, 2015].
- Tovote, P., Fadok, J.P. & Lüthi, A., 2015. Neuronal circuits for fear and anxiety. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(6), pp.317–331. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25991441> [Accessed May 20, 2015].
- Treadway, M.T. & Zald, D.H., 2011. Reconsidering anhedonia in depression: lessons from translational neuroscience. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 35(3), pp.537–55. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3005986&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed July 24, 2015].
- Tremolizzo, L. et al., 2002. An epigenetic mouse model for molecular and behavioral neuropathologies related to schizophrenia vulnerability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(26), pp.17095–17100.
- Tremolizzo, L. et al., 2005. Valproate corrects the schizophrenia-like epigenetic behavioral modifications induced by methionine in mice. *Biological psychiatry*, 57(5), pp.500–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15737665> [Accessed November 15, 2015].
- Trettel, J. & Levine, E.S., 2002. Cannabinoids depress inhibitory synaptic inputs received by layer 2/3 pyramidal neurons of the neocortex. *Journal of neurophysiology*, 88(1), pp.534–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12091577> [Accessed November 15, 2015].
- Trezza, V. et al., 2012. Endocannabinoids in Amygdala and Nucleus Accumbens Mediate Social Play Reward in Adolescent Rats. *The Journal of Neuroscience*, 32(43), pp.14899–14908. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0114-12.2012>.
- Trezza, V. et al., 2011. Nucleus Accumbens -Opioid Receptors Mediate Social Reward. *Journal of Neuroscience*, 31(17), pp.6362–6370. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3098965&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 19, 2015].

- Trommsdorff, M. et al., 1999. Reeler/Disabled-like disruption of neuronal migration in knockout mice lacking the VLDL receptor and ApoE receptor 2. *Cell*, 97(6), pp.689–701. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10380922> [Accessed November 15, 2015].
- Tronel, S., Feenstra, M.G.P. & Sara, S.J., Noradrenergic action in prefrontal cortex in the late stage of memory consolidation. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 11(4), pp.453–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=498332&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Tronel, S. & Sara, S.J., 2003. Blockade of {NMDA} receptors in prelimbic cortex induces an enduring amnesia for odor–reward associative learning.
- Tseng, K.Y., Chambers, R.A. & Lipska, B.K., 2009. The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia. *Behavioural brain research*, 204(2), pp.295–305. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2735579&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Tsuang, M.T. & Faraone, S. V, 2000. The future of psychiatric genetics. *Current psychiatry reports*, 2(2), pp.133–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11122945> [Accessed November 16, 2015].
- Tsujimoto, S., 2008. The prefrontal cortex: functional neural development during early childhood. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 14(4). Available at: <http://dx.doi.org/10.1177/1073858408316002>.
- Tueting, P. et al., 1999. The phenotypic characteristics of heterozygous reeler mouse. *NeuroReport*, 10(6), p.1329. Available at: <http://dx.doi.org/10.1097/00001756-199904260-00032>.
- Tulogdi, Á. et al., 2014. Effects of resocialization on post-weaning social isolation-induced abnormal aggression and social deficits in rats. *Developmental Psychobiology*, 56(1), pp.49–57.
- Tulving, E., 1972. Episodic and semantic memory. *academic press, INC.*, pp.382–402. Available at: <http://alicekim.ca/EMSM72.pdf> [Accessed November 15, 2015].
- Tulving, E., 2002. Episodic memory: from mind to brain. *Annual review of psychology*, 53, pp.1–25. Available at: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.psych.53.100901.135114>.
- Tumer, S. et al., 2012. The Role of Cortical Cholinergic Inputs in a Selective Attentional Suppression Task. , 6(1), pp.36–40.
- Turnock-Jones, J.J. et al., 2009. Increased expression of the {NR2A} {NMDA} receptor subunit in the prefrontal cortex of rats reared in isolation. *Synapse {(New) York, {N.Y.}}*, 63(10), pp.836–846. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/syn.20665>.
- Tyson, P.J. et al., 2004. Stability of set-shifting and planning abilities in patients with schizophrenia. *Psychiatry research*, 129(3), pp.229–39. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15661316> [Accessed November 16, 2015].
- Tzschentke, T.M. & Schmidt, W.J., 1998. The development of cocaine-induced behavioral sensitization is affected by discrete quinolinic acid lesions of the prelimbic medial prefrontal cortex. *Brain research*, 795(1-2), pp.71–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9622596> [Accessed November 16, 2015].
- Ueta, Y. et al., 2013. Direction- and distance-dependent interareal connectivity of pyramidal cell subpopulations in the rat frontal cortex. *Frontiers in neural circuits*, 7, p.164. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fncir.2013.00164>.
- Ueta, Y. et al., 2014. Multiple layer 5 pyramidal cell subtypes relay cortical feedback from secondary to primary motor areas in rats. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 24(9), pp.2362–76. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23551921> [Accessed October 3, 2015].

- Utsunomiya-Tate, N. et al., 2000. Reelin molecules assemble together to form a large protein complex, which is inhibited by the function-blocking CR-50 antibody. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(17), pp.9729–34. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=16933&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Uylings, H., Groenewegen, H.J. & Kolb, B., 2003. Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioural Brain Research*, 146. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.028>.
- Uylings, H.B. & van Eden, C.G., 1990. Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. *Progress in brain research*, 85, pp.31–62.
- Uylings, H.B.M., Groenewegen, H.J. & Kolb, B., 2003. Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioural brain research*, 146(1-2), pp.3–17. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14643455> [Accessed October 29, 2015].
- Vallee, R.B. & Tsai, J.-W., 2006. The cellular roles of the lissencephaly gene LIS1, and what they tell us about brain development. *Genes & development*, 20(11), pp.1384–93. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16751177> [Accessed November 15, 2015].
- Valzelli, L., 1973. The “isolation syndrome” in mice. *Psychopharmacologia*, 31(4), pp.305–20. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4582344> [Accessed November 16, 2015].
- Valzelli, L. & Garattini, S., 1972. Biochemical and behavioural changes induced by isolation in rats. *Neuropharmacology*, 11(1), pp.17–22. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5062183> [Accessed November 16, 2015].
- Vanderschuren, L. & Niesink, R.J.M., 1997. The neurobiology of social play behavior in rats.
- Varty, G.B. et al., 2006. Isolation rearing of mice induces deficits in prepulse inhibition of the startle response. *Behavioural brain research*, 169(1), pp.162–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16406103> [Accessed November 16, 2015].
- Varty, G.B., Braff, D.L. & Geyer, M.A., 1999. Is there a critical developmental window for isolation rearing-induced changes in prepulse inhibition of the acoustic startle response?
- Varty, G.B. & Geyer, M.A., 1998. Effects of isolation rearing on startle reactivity, habituation, and prepulse inhibition in male Lewis, Sprague-Dawley, and Fischer F344 rats. *Behavioral neuroscience*, 112(6), pp.1450–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9926827> [Accessed November 16, 2015].
- Veerakumar, A. et al., 2014. Antidepressant-like effects of cortical deep brain stimulation coincide with pro-neuroplastic adaptations of serotonin systems. *Biological psychiatry*, 76(3), pp.203–212. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.12.009>.
- Ventruti, A. et al., 2011a. Reelin deficiency causes specific defects in the molecular composition of the synapses in the adult brain. *Neuroscience*, 189. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.05.050>.
- Ventruti, A. et al., 2011b. Reelin deficiency causes specific defects in the molecular composition of the synapses in the adult brain. *Neuroscience*, 189, pp.32–42. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21664258> [Accessed November 15, 2015].
- Venzala, E. et al., 2012. Chronic social defeat stress model: Behavioral features, antidepressant action, and interaction with biological risk factors. *Psychopharmacology*, 224(2), pp.313–325.
- Vertes, R.P., 2004. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse*, 51(1), pp.32–58. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/syn.10279>.
- Vertes, R.P., 2006. Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and

- cognitive processing in the rat. *Neuroscience*, 142(1), pp.1–20. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.06.027>.
- Vertes, R.P. et al., 2007. Nucleus reuniens of the midline thalamus: Link between the medial prefrontal cortex and the hippocampus. *Brain Research Bulletin*, 71(6), pp.601–609. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17292803> [Accessed October 8, 2015].
- Vialou, V. et al., 2014. Prefrontal Cortical Circuit for Depression- and Anxiety-Related Behaviors Mediated by Cholecystokinin: Role of FosB. *Journal of Neuroscience*, 34(11), pp.3878–3887. Available at: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.1787-13.2014>.
- Vialou, V., Bagot, R.C. & Cahill, M.E., 2014. Prefrontal cortical circuit for depression-and anxiety-related behaviors mediated by cholecystokinin: role of  $\Delta$ FosB. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1787-13.2014>.
- Vidal-Gonzalez, I. et al., 2006. Microstimulation reveals opposing influences of prelimbic and infralimbic cortex on the expression of conditioned fear. *Learning & memory* (*Cold Spring Harbor, N.Y.*), 13(6), pp.728–733. Available at: <http://dx.doi.org/10.1101/lm.306106>.
- Villar-Cerviño, V. & Marín, O., 2012. Cajal-Retzius cells. *Current biology: CB*, 22(6), p.R179. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982212000176> [Accessed November 15, 2015].
- Vitton, N.M. & Berridge, C.W., 2006. Hypocretin/orexin selectively increases dopamine efflux within the prefrontal cortex: involvement of the ventral tegmental area. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 31(2), pp.384–95. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15988471> [Accessed October 26, 2015].
- Vogt, B.A. et al., 2013. Cingulate area 32 homologies in mouse, rat, macaque and human: cytoarchitecture and receptor architecture. *The Journal of comparative neurology*, 521(18), pp.4189–4204. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/cne.23409>.
- Vogt, B.A. & Paxinos, G., 2014. Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologies. *Brain structure & function*, 219(1), pp.185–92. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23229151> [Accessed September 30, 2015].
- Vöikar, V. et al., 2005. Long-term individual housing in C57BL/6J and DBA/2 mice: assessment of behavioral consequences. *Genes, brain, and behavior*, 4(4), pp.240–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15924556> [Accessed October 9, 2015].
- Volk, D.W. et al., 2000. Decreased glutamic acid decarboxylase67 messenger RNA expression in a subset of prefrontal cortical gamma-aminobutyric acid neurons in subjects with schizophrenia. *Archives of general psychiatry*, 57(3), pp.237–45. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10711910> [Accessed October 23, 2015].
- Wachtel, S.R., Brooderson, R.J. & White, F.J., 1992. Parametric and pharmacological analyses of the enhanced grooming response elicited by the D1 dopamine receptor agonist SKF 38393 in the rat. *Psychopharmacology*, 109(1-2), pp.41–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1365670> [Accessed November 16, 2015].
- Walker, E. et al., 2004. Schizophrenia: etiology and course. *Annual review of psychology*, 55, pp.401–30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14744221> [Accessed October 13, 2015].
- Wall, V.L., Fischer, E.K. & Bland, S.T., 2012. Isolation rearing attenuates social interaction-induced expression of immediate early gene protein products in the medial prefrontal cortex of male and female rats. *Physiology & behavior*, 107(3), pp.440–450. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.09.002>.
- Wang, C.-C. et al., 2011. A critical role for GluN2B-containing NMDA receptors in cortical development and function. *Neuron*, 72(5), pp.789–805. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22153375> [Accessed November 15,

2015].

- Wang, G.-W. & Cai, J.-X., 2006. Disconnection of the hippocampal-prefrontal cortical circuits impairs spatial working memory performance in rats. *Behavioural brain research*, 175(2), pp.329–36. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17045348> [Accessed October 6, 2015].
- Wang, G.-W. & Cai, J.-X., 2008. Reversible disconnection of the hippocampal-prelimbic cortical circuit impairs spatial learning but not passive avoidance learning in rats. *Neurobiology of learning and memory*, 90(2), pp.365–73. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18614383> [Accessed November 14, 2015].
- Wang, Q. et al., 2009. High dose of simvastatin induces hyperlocomotive and anxiolytic-like activities: The association with the up-regulation of NMDA receptor binding in the rat brain. *Experimental neurology*, 216(1), pp.132–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19100736> [Accessed November 16, 2015].
- Wang, T., Bray, S.M. & Warren, S.T., 2012. New perspectives on the biology of fragile X syndrome. *Current opinion in genetics & development*, 22(3), pp.256–63. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3653273&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 26, 2015].
- Wang, Y. et al., 2006. Heterogeneity in the pyramidal network of the medial prefrontal cortex. *Nature Neuroscience*, 9(4), pp.534–542. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nn1670>.
- Warburton, E.C. & Brown, M.W., 2014. Neural circuitry for rat recognition memory. *Behavioural Brain Research*, 285, pp.131–139. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2014.09.050>.
- Warren and Kolb., 1978, 1978. *Recovery from Brain Damage* S. Finger, ed., Boston, MA: Springer US. Available at: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-1-4615-7723-2> [Accessed November 15, 2015].
- Wassef, A., Baker, J. & Kochan, L.D., 2003. GABA and schizophrenia: a review of basic science and clinical studies. *Journal of clinical psychopharmacology*, 23(6), pp.601–40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14624191> [Accessed November 15, 2015].
- Weeber, E.J. et al., 2002. Reelin and ApoE receptors cooperate to enhance hippocampal synaptic plasticity and learning. *The Journal of biological chemistry*, 277(42), pp.39944–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12167620> [Accessed November 5, 2015].
- Wei, J. et al., 2015. DISC1 Protein Regulates  $\gamma$ -Aminobutyric Acid, Type A (GABAA) Receptor Trafficking and Inhibitory Synaptic Transmission in Cortical Neurons. *The Journal of biological chemistry*, 290(46), pp.27680–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26424793> [Accessed November 15, 2015].
- Weible, A.P. et al., 2009. Neural correlates of novel object and novel location recognition behavior in the mouse anterior cingulate cortex. *Journal of neurophysiology*, 102(4), pp.2055–68. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19587319> [Accessed November 15, 2015].
- Weintraub, A., Singaravelu, J. & Bhatnagar, S., 2010. Enduring and sex-specific effects of adolescent social isolation in rats on adult stress reactivity. *Brain Research*, 1343, pp.83–92. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2010.04.068>.
- Weiss, I.C. et al., 2004. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural Brain Research*, 152(2), pp.279–295. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432803003796>.
- Weiss, I.C. & Feldon, J., 2001. Environmental animal models for sensorimotor gating deficiencies in schizophrenia: a review. *Psychopharmacology*, 156(2-3), pp.305–26. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11549232> [Accessed November 16, 2015].

- Van De Werd, H.J.J.M. et al., 2010. Cytoarchitectonic and chemoarchitectonic characterization of the prefrontal cortical areas in the mouse. *Brain Structure and Function*, 214(4), pp.339–353. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2862954&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 11, 2015].
- Whalley, L.J. et al., 1989a. Disturbed endocrine function in the psychoses. I: Disordered homeostasis or disease process? *The British journal of psychiatry: the journal of mental science*, 155, pp.455–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2611570> [Accessed November 16, 2015].
- Whalley, L.J. et al., 1989b. Disturbed endocrine function in the psychoses. II: Discriminant function analysis of multihormone data. *The British journal of psychiatry: the journal of mental science*, 155, pp.462–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2611571> [Accessed November 16, 2015].
- Whishaw, I.Q. et al., 2001. Accelerated nervous system development contributes to behavioral efficiency in the laboratory mouse: A behavioral review and theoretical proposal. *Developmental Psychobiology*, 39(3), pp.151–170. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/dev.1041>.
- Whishaw, I.Q., Pellis, S.M. & Gorny, B.P., 1992. Skilled reaching in rats and humans: evidence for parallel development or homology. *Behavioural brain research*, 47(1), pp.59–70. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1571101> [Accessed November 4, 2015].
- White, 1989. *Cortical Circuits - Synaptic Organization of the Cerebral Cortex | WHITE | Springer*. Available at: <http://www.springer.com/us/book/9781468487237> [Accessed November 15, 2015].
- Wilkinson, L.S. et al., 1994. Social isolation in the rat produces developmentally specific deficits in prepulse inhibition of the acoustic startle response without disrupting latent inhibition. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 10(1), pp.61–72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8179795> [Accessed November 16, 2015].
- Williams, J.B. et al., 2009. A model of gene-environment interaction reveals altered mammary gland gene expression and increased tumor growth following social isolation. *Cancer prevention research (Philadelphia, Pa.)*, 2(10), pp.850–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19789294> [Accessed November 16, 2015].
- Williams, S. & Boksa, P., 2010. Gamma oscillations and schizophrenia. *Journal of psychiatry & neuroscience: JPN*, 35(2), pp.75–7. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2834788&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Wilson, A.G. & Crystal, J.D., 2012. Prospective memory in the rat. *Animal cognition*, 15(3), pp.349–358. Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/s10071-011-0459-5>.
- Winters, B.D. et al., 2004. Double dissociation between the effects of peri-postrhinal cortex and hippocampal lesions on tests of object recognition and spatial memory: heterogeneity of function within the temporal lobe. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 24(26), pp.5901–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15229237> [Accessed November 15, 2015].
- Wm Van Kerkhof, L. et al., 2013. Social Play Behavior in Adolescent Rats is Mediated by Functional Activity in Medial Prefrontal Cortex and Striatum. *Neuropsychopharmacology*, 38(10), pp.1899–1909. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2013.83>.
- Wolffgramm, J., 1990. Free choice ethanol intake of laboratory rats under different social conditions. *Psychopharmacology*, 101(2), pp.233–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2349365> [Accessed November 16, 2015].
- Won, S.J. et al., 2006. Reelin-deficient mice show impaired neurogenesis and increased stroke size. *Experimental neurology*, 198(1), pp.250–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16438965> [Accessed November 15,

2015].

- Wright, I.K. et al., 1991. Effect of isolation rearing on 5-HT agonist-induced responses in the rat. *Psychopharmacology*, 105(2), pp.259–63. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1839066> [Accessed November 16, 2015].
- Wright, N.F. et al., 2015. A Critical Role for the Anterior Thalamus in Directing Attention to {Task-Relevant} Stimuli. *The Journal of Neuroscience*, 35(14), pp.5480–5488. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4945-14.2015>.
- Wu, G., Malinow, R. & Cline, H.T., 1996. Maturation of a central glutamatergic synapse. *Science (New York, N.Y.)*, 274(5289), pp.972–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8875937> [Accessed November 15, 2015].
- Xu, X. & Callaway, E.M., 2009. Laminar specificity of functional input to distinct types of inhibitory cortical neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 29(1), pp.70–85. Available at: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4104-08.2009>.
- Yamada, K. et al., 2007. Genetic analysis of the calcineurin pathway identifies members of the EGR gene family, specifically EGR3, as potential susceptibility candidates in schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(8), pp.2815–20. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1815264&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].
- Yang, C.-H., Huang, C.-C. & Hsu, K.-S., 2004. Behavioral stress modifies hippocampal synaptic plasticity through corticosterone-induced sustained extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase activation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 24(49), pp.11029–34. Available at: [http://www.jneurosci.org/content/24/49/11029.abstract?ijkey=70bebc5d83e1df56565fb123168c3a7f3f457bd&keyty pe2=tf\\_ipsecsha](http://www.jneurosci.org/content/24/49/11029.abstract?ijkey=70bebc5d83e1df56565fb123168c3a7f3f457bd&keyty pe2=tf_ipsecsha) [Accessed November 16, 2015].
- Yasui, N. et al., 2007. Structure of a receptor-binding fragment of reelin and mutational analysis reveal a recognition mechanism similar to endocytic receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(24), pp.9988–93. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1891246&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Yilmaz, N. et al., 2007. Increased levels of nitric oxide, cortisol and adrenomedullin in patients with chronic schizophrenia. *Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, 16(2), pp.137–41. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17303950> [Accessed November 16, 2015].
- Yin, H.H. & Knowlton, B.J., 2006. The role of the basal ganglia in habit formation. *Nature reviews. Neuroscience*, 7(6), pp.464–476. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn1919>.
- Yizhar, O. et al., 2011. Neocortical excitation/inhibition balance in information processing and social dysfunction. *Nature*, 477(7363), pp.171–178. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nature10360>.
- Yoshida, W. et al., 2010. Cooperation and heterogeneity of the autistic mind. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(26), pp.8815–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2907513&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 15, 2015].
- Yusufishaq, S. & Rosenkranz, A.J., 2013. Post-weaning social isolation impairs observational fear conditioning. *Behavioural brain research*, 242, pp.142–149. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2012.12.050>.
- Zhang, C.L. et al., 2002. Class II histone deacetylases act as signal-responsive repressors of cardiac hypertrophy. *Cell*, 110(4), pp.479–88. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4459650&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 16, 2015].

- Zhang, Z.-W. et al., 2010. Confocal Analysis of Cholinergic and Dopaminergic Inputs onto Pyramidal Cells in the Prefrontal Cortex of Rodents. *Frontiers in neuroanatomy*, 4, p.21. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2893003&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 14, 2015].
- Zhao, M.G. et al., 2005. Roles of {NMDA} {NR2B} subtype receptor in prefrontal long-term potentiation and contextual fear memory.
- Zhao, S. et al., 2006. Rescue of the reeler phenotype in the dentate gyrus by wild-type coculture is mediated by lipoprotein receptors for Reelin and Disabled 1. *The Journal of comparative neurology*, 495(1), pp.1–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16432903> [Accessed November 15, 2015].
- Zhao, S., Chai, X. & Frotscher, M., 2007. Balance between neurogenesis and gliogenesis in the adult hippocampus: role for reelin. *Developmental neuroscience*, 29(1-2), pp.84–90. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17148951> [Accessed November 15, 2015].
- Zhao, X. et al., 2009. Isolation rearing induces social and emotional function abnormalities and alters glutamate and neurodevelopment-related gene expression in rats. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 33(7), pp.1173–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19563853> [Accessed November 16, 2015].
- Zhou, Q., Homma, K.J. & Poo, M., 2004. Shrinkage of dendritic spines associated with long-term depression of hippocampal synapses. *Neuron*, 44(5), pp.749–57. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15572107> [Accessed November 1, 2015].
- Zito, K. et al., 2009. Rapid functional maturation of nascent dendritic spines. *Neuron*, 61(2), pp.247–58. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2800307&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 23, 2015].
- Zlatković, J. et al., 2014. Different susceptibility of prefrontal cortex and hippocampus to oxidative stress following chronic social isolation stress. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 393(1-2), pp.43–57. Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/s11010-014-2045-z>.
- Zlatković, J. & Filipović, D., 2012. Bax and B-cell-lymphoma 2 mediate proapoptotic signaling following chronic isolation stress in rat brain. *Neuroscience*, 223, pp.238–45. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22885231> [Accessed November 16, 2015].
- Zsiros, V. & Maccaferri, G., 2005. Electrical coupling between interneurons with different excitable properties in the stratum lacunosum-moleculare of the juvenile CA1 rat hippocampus. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(38), pp.8686–95. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16177037> [Accessed November 14, 2015].
- Zunszain, P.A. et al., 2013. Ketamine: synaptogenesis, immunomodulation and glycogen synthase kinase-3 as underlying mechanisms of its antidepressant properties. *Molecular psychiatry*, 18(12), pp.1236–41. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3835937&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 30, 2015].

## Résumé

La pathogénèse des maladies psychiatriques met en jeu des interactions entre différents facteurs génétiques et environnementaux. Par ailleurs, l'une des caractéristiques communes des maladies psychiatriques telles que la schizophrénie et les troubles de l'humeur est une dysfonction du cortex préfrontal (PFC). Le PFC est impliqué dans les fonctions cognitives et exécutives et présente la particularité remarquable d'être la dernière structure du cerveau à atteindre la maturité. Il a été proposé que des anomalies survenant durant la maturation postnatale du PFC augmentent la vulnérabilité aux maladies psychiatriques. Le but de mon travail de thèse a été d'étudier l'effet sur le développement postnatal du PFC de deux facteurs qui participeraient à l'étiologie de diverses maladies psychiatriques : un facteur génétique, le gène *reelin* qui code une protéine de la matrice extracellulaire, et un facteur environnemental, l'isolement social. Nous avons décrit le phénotype de trois modèles de maladies psychiatriques : l'haploinsuffisance en *reelin*, l'isolement social de souris sauvages et l'isolement social de souris haploinsuffisantes en *reelin*. Ce travail a permis d'identifier à l'âge adulte des défauts spécifiquement dus à l'haploinsuffisance en *reelin* ou à l'isolement social, et d'autres dus à l'interaction de ces deux atteintes. Mon travail de thèse montre que les souris haploinsuffisantes en *reelin* et les souris sauvages ayant subi le stress d'un isolement social présentent des défauts de maturation morpho-fonctionnelle des circuits glutamatergiques et GABAergiques du PFC. Ces dysfonctionnements synaptiques sont corrélés à des altérations de la mémoire de peur ou de la mémoire de récence. D'autre part, nous avons montré que des taux réduits de *reelin* aggravent les effets néfastes de l'isolement social. La caractérisation des défauts synaptiques et comportementaux dus à l'haploinsuffisance en *reelin* ou à l'isolement social nous a permis de proposer des pistes thérapeutiques. Nous avons montré qu'un traitement aigu à l'aide d'antagonistes des récepteurs de type NMDA au stade juvénile ou d'antagoniste des récepteurs glucocorticoïdes au stade adulte réparent les dysfonctionnements structuraux, fonctionnels et comportementaux. L'ensemble de mes travaux renforce le lien entre le gène *reelin*, l'environnement social et l'étiologie de certaines maladies psychiatriques, et ouvrent ainsi des perspectives sur la compréhension de la physiopathologie de ces maladies et leur traitement.