

AIX-MARSEILLE UNIVERSITÉ
ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ
UFR Sciences et Technologies
INSTITUT DE BIOLOGIE DU DÉVELOPPEMENT DE MARSEILLE (UMR 7288)

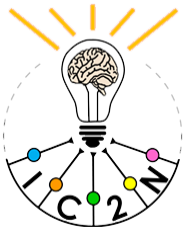
THÈSE DE DOCTORAT

Présentée et soutenue publiquement le 25 septembre 2017

en vue de l'obtention du grade universitaire de Docteur

Discipline : Neurosciences

CONSÉQUENCES DE LA DÉLÉTION CONDITIONNELLE DU GÈNE *TSHZ3* DANS LA CIRCUITERIE CORTICO-STRIÉE : IMPLICATIONS DANS LES TROUBLES DU SPECTRE AUTISTIQUE



Par

Dorian CHABBERT



Composition du jury :

Rapporteurs

Dr. Federica BERTASO

IGF, Université de Montpellier, Montpellier

Dr. Jérôme BAUFRETON

IMN, Université Victor Segalen, Bordeaux

Examineurs

Dr. Élodie FINO

GIN, Université Grenoble Alpes, Grenoble

Dr. Jean-Luc GAIARSA

INMED, Aix-Marseille Université, Marseille

Directeur de thèse

Dr. Paolo GUBELLINI

IBDM, Aix-Marseille Université, Marseille

Table des matières

PRÉFACE	1
CADRE THÉORIQUE	7
I. LE CORTEX CÉRÉBRAL	9
I.1. Organisation anatomique du cortex	9
I.2. Les différentes populations neuronales du cortex	12
I.2.a. Les neurones pyramidaux glutamatergiques	12
I.2.b. Connectivité des neurones glutamatergiques	16
I.2.c. Les interneurons GABAergiques	17
I.2.d. Connectivité des interneurons GABAergiques	18
I.3. La couche V	19
I.3.a. Les cellules pyramidales de la couche V	20
I.3.b. Les interneurons GABAergiques de la couche V	23
I.4. Mécanismes généraux du développement cortical	26
I.4.a. Développement des neurones pyramidaux des couches profondes du cortex	31
II. LE STRIATUM	34
II.1. Le striatum et les ganglions de la base	34
II.2. Les différents types neuronaux du striatum	36
III. TRANSMISSION ET PLASTICITÉ SYNAPTIQUE	41
III.1. Les récepteurs	41
III.1.a. Les récepteurs du glutamate	41
III.1.b. Les récepteurs de l'acétylcholine	43
III.1.c. Les récepteurs de la dopamine	44
III.1.d. Les récepteurs de l'acide γ -aminobutyrique	45
III.1.e. Autres récepteurs	47
III.2. Plasticité synaptique à long terme	49
III.2.a. Plasticité synaptique cortico-striée	50
III.2.b. La plasticité synaptique dans le cortex (couche V)	57
IV. FOCUS SUR LES INTERNEURONES CHOLINERGIQUES DU STRIATUM	60
IV.1. Activité intrinsèque des CINs	61
IV.2. Connectivité des CINs	63
IV.2.a. Afférences	63
IV.2.b. Efférences	67
IV.3. Développement des CINs	70
V. TSHZ3 DANS LE CERVEAU	73
V.1. Expression et rôle chez la souris	74
V.2. <i>TSHZ3/Tshz3</i> et troubles du spectre autistique (TSA)	77
V.3. TSA et circuits cortico-striés	81
MATÉRIELS ET MÉTHODES	85
I. LES MODÈLES ANIMAUX	87
II. ÉLECTROPHYSIOLOGIE	89
II.1. Préparation des tranches pour l'électrophysiologie	89
II.2. Électrophysiologie en patch-clamp et analyse des données	89
III. IMMUNO-DÉTECTION	97
III.1. Principe	97
III.1.a. Préparation des tissus	97

III.1.b. Protocoles d'immunomarquages.....	98
IV. LA CHIRURGIE STÉRÉOTAXIQUE	101
V. LA MICRODIALYSE INTRACÉRÉBRALE	102
V.1. Principe et mise en place	102
V.2. Collecte des échantillons	103
VI. ANALYSES STATISTIQUES	105
RÉSULTATS	107
I. ÉTUDE DE LA CIRCUITERIE CORTICO-STRIÉE DANS LE MODÈLE <i>Tshz3-pnCxKO</i>	109
I.1. Morphologie des neurones pyramidaux de la couche V et de leurs projections, et validation du modèle <i>Tshz3-pnCxKO</i>	109
I.2. Propriétés intrinsèques des neurones pyramidaux de la couche V	112
I.3. Les neurones pyramidaux de la couche V en tant qu'éléments postsynaptiques	115
I.3.a. Transmission basale : activité miniature et spontanée (des neurones pyramidaux de la couche V).	115
I.3.b. Plasticité à court terme : mesure du PPR (des neurones pyramidaux de la couche V).	117
I.3.c. Ratio NMDA/AMPA (des neurones pyramidaux de la couche V)	118
I.3.d. Plasticité à long terme (des neurones pyramidaux de la couche V).....	118
I.4. La synapse cortico-striée.....	119
I.4.a. Transmission basale : activité miniature et spontanée (des MSNs du striatum) ..	120
I.4.b. Plasticité à court terme (des MSNs du striatum)	121
I.4.c. Ratio NMDA/AMPA (des MSNs du striatum).....	121
I.4.d. Plasticité à long terme (des MSNs du striatum)	122
I.4.e. Glutamate et GABA extracellulaire dans le striatum	123
II. ÉTUDE DES CINs DANS LE MODÈLE <i>Tshz3-ChATCre</i>	125
II.1. Expression de TSHZ3 dans les neurones cholinergiques et validation du modèle	125
II.2. Étude électrophysiologique des CINs dans le modèle <i>Tshz3-ChATCre</i>	128
II.2.a. Activité de décharge spontanée des CINs en configuration <i>cell-attached</i>	130
II.2.b. Proportion de CINs typiques vs. atypiques chez les souris <i>Tshz3-ChATCre</i> et Cre-... ..	131
DISCUSSION.....	133
I. NOTIONS PRÉLIMINAIRES À LA DISCUSSION	135
II. VALIDATION DES MODÈLES ET ASPECTS MORPHOLOGIQUES.....	137
III. NEURONES PYRAMIDAUX DE LA COUCHE V ET TRANSMISSION SYNAPTIQUE CORTICALE	139
IV. LA SYNAPSE COTICO-STRIÉE.....	141
V. LES INTERNEURONES CHOLINERGIQUES.....	144
VI. CONCLUSIONS	149
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	151

Table des figures

Figure 1 : Répartition laminaire des différents types de neurones corticaux.	13
Figure 2 : Connectivité principale des neurones glutamatergiques du cortex.	16
Figure 3 : Connectivité principale des neurones GABAergiques du cortex.	19
Figure 4 : Neurones pyramidaux de la couche V.	22
Figure 5 : Mise en place des couches corticales au cours du développement.	28
Figure 6 : Déterminisme des aires corticales au cours du développement.	30
Figure 7 : Organisation générale des GB et place du striatum au sein de ce réseau.	36
Figure 8 : Réponses électrophysiologiques de différents types neuronaux du striatum à des courants hyper- et dépolarisants, enregistrées en configuration cellule entière.	37
Figure 9 : Principaux mécanismes moléculaires de la LTD cortico-striée.	53
Figure 10 : Principaux mécanismes moléculaires de la LTP cortico-striée.	55
Figure 11 : Connectivité des neurones pyramidaux de la couche V.	59
Figure 12 : Caractéristiques morphologiques et électrophysiologiques des CINs.	61
Figure 13 : Activation séquentielle de différentes conductances au cours d'un cycle de décharge des CINs.	62
Figure 14 : Connectivité des CINs.	69
Figure 15 : Structure de la protéine TSHZ chez les vertébrés.	74
Figure 16 : Expression de <i>Tshz3</i> chez la souris à P20 révélée par hybridation <i>in situ</i>	75
Figure 17 : Dysfonctionnement du système respiratoire chez les souris <i>Tshz3^{lacZ/lacZ}</i>	77
Figure 18 : Perte du gène <i>THSZ3</i> sur la région chromosomique 19q12-q13 chez 7 patients souffrant de TSA.	78
Figure 19 : Expression du facteur de transcription TSHZ3 dans les différentes couches corticales chez la souris et l'Homme au stade embryonnaire.	81
Figure 20 : Expression de TSHZ3 dans la circuiterie cortico-striée chez la souris.	83
Figure 21 : Modèles murins de délétion du gène <i>Tshz3</i>	88
Figure 22 : Schémas des différents enregistrements électrophysiologiques à différents niveaux de la circuiterie cortico-striée.	91
Figure 23 : Protocole de mesure du <i>paired-pulse ratio</i> pour un intervalle de 40 ms.	92
Figure 24 : Protocoles d'induction de la LTD et la LTP cortico-striée.	93
Figure 25 : Protocole d'induction de la LTD corticale.	94
Figure 26 : Protocole de mesure du ratio NMDA/AMPA.	95
Figure 27 : Mesures effectuées sur le potentiel d'action (PA).	95
Figure 28 : Microdialyse <i>in vivo</i>	103
Figure 29 : Chronologie de la microdialyse <i>in vivo</i>	104
Figure 30 : Validation du modèle <i>Tshz3-pnCxKO</i> à P28.	110
Figure 31 : Immunocytochimie de NeuN et BCL11B (CTIP2) sur des coupes coronales de cerveau de souris Cre- et <i>Tshz3-pnCxKO</i> à P28.	111
Figure 32 : Préservation de la voie cortico-striée chez les souris <i>Tshz3-pnCxKO</i>	111
Figure 33 : Identification et répartition des neurones IT et PT selon leurs critères électrophysiologiques.	113
Figure 34 : Relation courant/voltage et excitabilité des neurones de la couche V.	114
Figure 35 : Activité miniature et spontanée des neurones de la couche V.	116
Figure 36 : <i>Paired-pulse ratios</i> corticaux.	117
Figure 37 : Ratio NMDA/AMPA cortical.	118
Figure 38 : LTD corticale.	119

Figure 39 : Activité miniature des MSNs.	120
Figure 40 : Activité spontanée des MSNs.	120
Figure 41 : <i>Paired-pulse ratio</i> striatal.	121
Figure 42 : Ratio NMDA/AMPA striatal.	121
Figure 43 : Plasticité à long terme de la synapse cortico-striée.	123
Figure 44 : Dosage extracellulaire de glutamate et de GABA dans le striatum.	124
Figure 45 : Représentation schématique des principaux noyaux cholinergiques de l'encéphale et de leurs projections chez les mammifères.	126
Figure 46 : Colocalisation de TSHZ3 et de la ChAT dans les différents noyaux cholinergiques de l'encéphale.	126
Figure 47 : Validation du modèle <i>Tshz3-ChATCre</i>	127
Figure 48 : Quantification de la densité de cellules positives pour la ChAT dans le striatum des souris Cre- et <i>Tshz3-ChATCre</i>	128
Figure 49 : Photographie d'un CIN sur coupe coronale d'un animal <i>Tshz3-ChATCre</i>	129
Figure 50 : Propriétés électrophysiologiques de base des CINs « Typiques » et « Atypiques » enregistrés en configuration cellule entière.	129
Figure 51 : Caractéristiques de la décharge spontanée des CINs typiques et atypiques enregistrés en configuration cellule entière.	130
Figure 52 : Caractéristiques de la décharge des CINs typiques et atypiques enregistrés en configuration cellule attachée.	131
Figure 53 : Proportion des CINs typiques (orange) et atypiques (violet) dans les deux génotypes.	131

Table des tableaux

Tableau I : Liste des anticorps primaire et secondaire utilisés.	98
Tableau II : Composition des liquides céphalo-rachidiens classique et enrichis en potassium « potassique » pour les expériences de microdialyse.	102
Tableau III : Propriétés électrophysiologiques intrinsèques des neurones pyramidaux de la couche V.	113

Liste des abréviations

5-HT	5-hydroxy-tryptamine (sérotonine)
AC	adénylate cyclase
ACh	acétylcholine
AMPC	adénosine monophosphate cyclique
AP-5	acide 2-amino-5-phosphonovalérique
ARNm	ARN messenger
BCL11B	<i>B-cell lymphoma/leukemia 11B</i>
BDNF	<i>brain derived neurotrophic factor</i>
BK	canaux potassiques calcium-dépendants grande conductance
Bmp	<i>bone morphogenetic protein</i>
CaMKII	protéine kinase II calmoduline-dépendante
ChAT	choline acétyl transférase
CIN	interneurone cholinergique
CNQX	6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione
Couptf1	<i>chicken ovalbumin upstream promotor transcription factor 1</i>
CR	interneurone à calrétinine
CT	neurones cortico-thalamiques
CtBP	<i>C-terminal binding protein</i>
CTIP2	<i>chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor-interacting proteins 2</i>
DA	dopamine
DAG	diacylglycérol
DARPP-32	<i>dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein 32 kDa</i>
DBX1	<i>developing brain homeobox 1</i>
Dyn	dynorphine
E	jour embryonnaire
Egf	<i>epidermal growth factor</i>
Emx2	<i>empty spiracles homolog 2</i>
Enk	enképhaline
EPSC	courant postsynaptique excitateur (<i>excitatory postsynaptic current</i>)
FDDI	<i>frequency-dependent disynaptic inhibition</i>
FEZF2	<i>zinc finger transcription factor 2</i>
FFI	<i>feedforward inhibition</i>
Fgf8	<i>fibroblast growth factor 8</i>
FOXP1	<i>forkhead box G1</i>
FS	<i>fast spiking interneuron</i>
GABA	acide γ -aminobutyrique
GAD67	<i>glutamic acid decarborxylase 67</i>
GB	ganglions de la base
Gbx2	<i>gastrulation brain homeobox</i>

GFP	<i>green fluorescent protein</i>
GP	globus pallidus
GPCR	<i>G protein-coupled receptor</i>
HCN	<i>hyperpolarisation-activated cyclic nucleotid-modulated cation non-selective channel</i>
iGlu	récepteur ionotropique du glutamate
I_h	<i>hyperpolarization-induced current</i>
IP	progéniteur intermédiaire
IP3	inositol triphosphate
IPSC	courant postsynaptique inhibiteur (<i>inhibitory postsynaptic current</i>)
Isl1	<i>Islet 1</i>
IT CP	neurones intratélencéphaliques des couches profondes
IT CS	neurones IT des couches superficielles
IT IV	neurones intratélencéphaliques de la couche IV
Kir	canaux potassiques « <i>inward rectifier</i> »
LHX6	<i>LIM-homeodomain</i>
LTS	<i>low-threshold spiking</i>
mACh	récepteur muscarinique métabotrope de l'acétylcholine
mEPSC	courant postsynaptique exciteur miniature (<i>miniature excitatory postsynaptic current</i>)
MET	<i>proto-oncogene hepatocyte growth factor receptor</i>
mGlu	récepteur métabotrope du glutamate
MS	septum médian
MSN	neurone épineux moyen
NAc	noyau accumbens
nACh	récepteur nicotinique ionotropique de l'acétylcholine
nBM	noyau basal de Meynert
NE	neuroépithélium indifférencié
NeuN	<i>neuronal nuclei</i>
NGF	<i>nerve growth factor</i>
NK1	récepteur neurokinine 1
NKX 6.2	<i>NK6 homeobox 2</i>
NKX2.1	<i>NK1 homeobox 2</i>
NL	neuroliques
NOS	oxyde nitrique synthase
NPY	neuropeptide Y
NST	noyau subthalamique
OLIG2	<i>oligodendrocyte lineage transcription factor 2</i>
oRG	glie radiaire externe
P	jour postnatal
PA	potentiel d'action

Pax 6	<i>paired box 6</i>
PFA	paraformaldéhyde
PKA	protéine kinase A
PKC	protéine kinase C
PKG	protéine kinase GMPc-dépendante
PLC	phospholipase C
PP1	protéine phosphatase 1
PPR	<i>paired-pulse ratio</i>
PPSE	potentiel postsynaptique exciteur
PPT	noyau pédonculopontin
PT	neurones du tractus pyramidal
PTX	picrotoxine
PV	interneurone à parvalbumine
RG	glie radiaire
Ri	résistance membranaire (<i>input resistance</i>)
RORB	<i>RAR-related orphan receptor beta</i>
sEPSC	courant postsynaptique exciteur spontané (<i>spontaneous excitatory postsynaptic current</i>)
sIPSC	courant postsynaptique inhibiteur spontané (<i>spontaneous inhibitory postsynaptic current</i>)
Sfrp2	<i>secreted frizzled-related protein 2</i>
SHANK	<i>SH3 and multiple ankyrin repeat domains 3</i>
SHH	<i>sonic hedgehog</i>
SK	canaux potassiques calcium-dépendants à petite conductance
SNc	substance noire compacte
SNr	substance noire réticulée
SOM	somatostatine
SOX	<i>SRY-related HMG-box</i>
SP	substance P
SVZ	zone sous-ventriculaire
TBR1	<i>T-Box brain 1</i>
TrKA	récepteur tyrosine kinase A
Tsh	<i>teashirt zinc-finger homeobox family member</i> (protéine drosophile)
tsh	<i>teashirt zinc-finger homeobox family member</i> (gène drosophile)
TSHZ3	protéine/facteur de transcription <i>teashirt zinc-finger homeobox family member 3</i> (souris et Homme)
Tshz3/TSHZ3	<i>teashirt zinc-finger homeobox family member 3</i> (gène souris/Homme)
TTX	tétradotoxine
VGLUT3	transporteur vésiculaire du glutamate type 3
VZ	zone ventriculaire
Wnt	<i>wingless integration signaling pathway</i>

PRÉFACE

Le cortex cérébral est une structure agencée en six couches horizontales, contenant des types cellulaires spécifiques, et cette organisation est hautement préservée chez les mammifères. Au cours de la formation du cerveau, les neurones au sein de chacune de ces couches acquièrent une identité précise et forment des connexions locales et distales appropriées, jouant un rôle fondamental dans le développement et la maturation des capacités cognitives et motrices. Ces processus développementaux sont finement contrôlés par des morphogènes diffusibles ainsi que par des molécules de signalisation, telles que des facteurs de transcription, intervenant dès les périodes embryonnaires précoces, qui restreignent l'expansion des progéniteurs des neurones à des zones spécifiques du cortex. En effet, une petite modification de leurs répartitions, ou du sens de leur gradient, suffit à altérer l'organisation corticale. Des défauts dans ces divers mécanismes sont fréquemment associés à des pathologies neurodéveloppementales comme les troubles du spectre autistique (TSA), qui sont caractérisés par des déficits de communication et d'interactions sociales, une restriction des champs d'intérêts et des comportements répétitifs (American Psychiatric Association, 2013). Les TSA ont une composante génétique importante, qui concerne en particulier des mutations/délétions affectant des facteurs important pour l'identité et le positionnement des neurones corticaux en développement.

Récemment, des analyses spatiotemporelles du transcriptome du cerveau chez l'Homme définissent *TSHZ3*, codant pour un facteur de transcription à doigt de zinc, comme un gène central (*hub-gene*) parmi un module de gènes co-exprimés pendant les périodes précoces du développement cortical (Kang et al., 2011). De plus, une étude d'association pan-génomiques (*genome-wide association study, GWAS*), propose *TSHZ3* comme un gène de susceptibilité aux TSA parmi 860 candidats (Hussman et al., 2011). De récentes données cliniques, issues d'une collaboration internationale impliquant les équipes de l'IBDM dans lesquelles j'ai effectué ma thèse, font le lien entre une délétion hétérozygote de *TSHZ3* et les symptômes caractéristiques des TSA (Caubit et al., 2016). Chez l'Homme et la souris, ils montrent que le facteur de transcription *TSHZ3* est co-exprimé au cours du développement avec différents marqueurs des couches corticales V et VI. D'autre part, la délétion de *Tshz3* chez la souris affecte l'expression de ces marqueurs au cours du développement prénatal. Cette même étude rapporte que des souris *Tshz3^{+/-lacZ}* (hétérozygotes pour *Tshz3*) présentent un dysfonctionnement de la circuiterie cortico-striée associé aux comportements clés des

TSA (Caubit et al., 2016). En effet, de nombreuses études ont associé les TSA avec des anomalies des réseaux cortico-corticaux et cortico-striés, mais aussi des structures sous-corticales dont le striatum.

Le striatum est la structure d'entrée principale des ganglions de la base, un ensemble de noyaux sous-corticaux impliqué dans les fonctions motrices, cognitives et limbiques (Parent and Hazrati, 1995). Il est composé de différents types cellulaires : les neurones épineux moyens (MSNs), qui représentent plus de 95% des neurones de cette structure, ainsi que des interneurons cholinergiques (CINs) et GABAergiques. Chez l'adulte, les MSNs représentent la principale cible des afférences corticales excitatrices de la couche V, et ce, depuis les phases tardives du développement prénatal. La synapse entre les neurones pyramidaux (PNs) de la couche V et les MSNs, ou synapse cortico-striée, a été assez bien caractérisée du point de vue fonctionnel par des approches d'électrophysiologie *in vitro* et *in vivo*. En particulier, il a été montré qu'elle est capable d'exprimer les deux formes "classiques" de plasticité synaptique à long terme, notamment la dépression et la potentialisation (respectivement, LTD pour « *long-term depression* » et LTP pour « *long-term potentiation* »). Le circuit cortico-strié a été impliqué dans les mécanismes d'apprentissage moteur, de régulation motrice ainsi que dans des processus cognitifs et dans le maintien de ces capacités, en conditions physiologiques mais aussi dans les altérations pathologiques de ces fonctions (Calabresi et al., 2014).

Grâce à l'utilisation de différents modèles murins, des changements de la transmission synaptique entre les PNs et les MSNs ont été mis en évidence et associés aux troubles caractéristiques des TSA (Shepherd, 2013). De façon intéressante, TSHZ3 est fortement exprimé dans le cortex en développement et chez l'adulte, en particulier dans les PNs de la couche V, qui forment les projections cortico-striées. En revanche leur cible majeure, les MSNs du striatum, n'expriment pas TSHZ3 qui est cependant détecté dans des interneurons.

Dans ce cadre théorique, mon travail de thèse s'inscrit dans un projet collaboratif impliquant deux équipes de l'IBDM, mon équipe d'accueil et celle de Laurent Fasano, ainsi que le groupe de Pierre Roubertoux. Ce programme vise à approfondir le lien entre *Tshz3* et les TSA, par une approche multi-niveaux allant de la cellule au comportement. Ma contribution a consisté en l'étude des conséquences fonctionnelles de la délétion de *Tshz3*

au niveau de la circuiterie cortico-striée, chez la souris, en me focalisant sur les PNs de la couche corticale V, les MSNs et les CINs du striatum. Pour cela j'ai utilisé des approches d'électrophysiologie *ex vivo* (*patch-clamp* sur coupes de cerveau) et immunohistochimique, sur plusieurs modèles murins mis au point par l'équipe Fasano, permettant la délétion conditionnelle du gène *Tshz3* dans les neurones de projection à partir d'un âge postnatal (P2-3, souris *Tshz3-pnCxKO*) ou dans les neurones cholinergiques pendant le développement (E11, souris *Tshz3-ChATCre*).

Dans la première partie de cette étude, j'ai réalisé des contrôles de l'expression de TSHZ3 dans les PNs pour valider le modèle *Tshz3-pnCxKO*. J'ai ensuite évalué l'impact de la délétion de *Tshz3* sur les caractéristiques morphologiques et électrophysiologiques des PNs, à savoir : leur nombre, leurs projections, leurs propriétés intrinsèques passives (résistance membranaire, potentiel de repos...) et actives (les différentes caractéristiques du potentiel d'action), ainsi que leur excitabilité. J'ai également étudié les conséquences de la délétion de *Tshz3* sur les fonctions des PNs en tant qu'éléments postsynaptiques. J'ai ainsi mesuré la transmission synaptique, la contribution des récepteurs NMDA et AMPA, la plasticité à court terme et à long terme (LTD et LTP) au niveau cortical. De la même manière, j'ai étudié la transmission synaptique cortico-striée, où les PNs représentent l'élément présynaptique et les MSNs l'élément postsynaptique.

Dans la deuxième partie de l'étude j'ai identifié les CINs comme étant la seule population de neurones striataux exprimant TSHZ3 et établi que les autres populations de neurones cholinergiques de l'encéphale n'expriment pas de façon détectable ou en faible proportion ce facteur de transcription. Chez les souris *Tshz3-ChATCre*, j'ai évalué les conséquences de la délétion de *Tshz3* sur les propriétés intrinsèques et l'activité autonome de décharge des CINs.

De façon intéressante, les souris *Tshz3-pnCxKO* et *Tshz3-ChATCre* présentent des anomalies du comportement typiques des TSA.

Mon travail de thèse a permis de confirmer l'existence d'un lien entre la perte de *Tshz3* et des perturbations de la circuiterie cortico-striée, elles-mêmes associées aux déficits définissant les TSA. Ce travail suggère également l'existence d'un rôle essentiel de *Tshz3* dans le développement postnatal et la fonction de la voie cortico-striée et des CINs.

Ce manuscrit se décline en quatre parties principales :

- Un cadre théorique, qui apporte les différentes notions sur le cortex, le striatum et l'axe cortico-strié, nécessaires à la compréhension de l'étude. Une description approfondie des données sur *Tshz3/TSHZ3* y est également présentée.
- Les méthodologies utilisées dans cette étude.
- Les résultats en deux parties, récapitulant les données morphologiques et électrophysiologiques obtenues après l'étude des deux modèles murins présentés dans ce travail.
- Une discussion des résultats, dans laquelle seront également exposées les principales perspectives, et une conclusion générale de l'étude.

CADRE THÉORIQUE

I. LE CORTEX CÉRÉBRAL

Le cortex cérébral ou néocortex correspond à la zone la plus externe du télencéphale. A une échelle macroscopique, il apparaît sculpté par de nombreuses circonvolutions (replis) organisées en gyri (crêtes) et sulci (sillons), qui permettent de maximiser la surface de tissus dans le volume défini par la boîte crânienne. En 1910, Korbinian Brodmann a proposé une subdivision de cet ensemble de circonvolutions en 52 aires corticales différentes, chez l'Homme, à partir de critères cytoarchitectoniques. Il a en effet cartographié l'espace cortical selon des critères morphologiques, comme l'aspect des cellules et leur organisation (Brodmann K, 1909). Le cortex cérébral est le siège des capacités cognitives les plus complexes, et chacune de ces aires a par la suite été associée à une fonction précise (langage, vision, motricité...) (Laurence JG, 2006).

Grâce à l'imprégnation argentique, Santiago Ramon y Cajal et Camillo Golgi (Cajal RS, 1909) ont été les premiers à décrire l'organisation en couches superposées chez différentes espèces. Par la suite, de nombreuses études utilisant des approches lésionnelles et l'électrophysiologie ont montré que les afférences et les projections corticales ciblaient ou étaient issues de couches bien définies. Mais l'organisation en couches ne fut pleinement comprise qu'avec l'utilisation de traceurs rétrogrades comme la *horseradish peroxidase* et le *fast blue* (Gilbert and Kelly, 1975; Wise, 1975; Jones and Wise, 1977).

I.1. Organisation anatomique du cortex

Le cortex a une expansion maximale chez l'humain, mais les grands principes de son organisation stratifiée en 6 couches horizontales (I-VI) et de son développement sont conservés chez tous les mammifères. Dans sa globalité, l'ensemble des cellules corticales est agencé selon le schéma décrit ci-dessous.

La couche I, la plus externe, est appelée couche moléculaire ; elle est essentiellement composée d'arborisations dendritiques terminales issues des couches plus profondes et de cellules horizontales de Cajal, qui sont présentes surtout au cours du développement et très peu chez l'adulte. La couche II, ou granulaire externe, inclut des cellules étoilées (en grain) et des petites cellules pyramidales. En dessous, la couche III ou couche pyramidale externe contient des neurones pyramidaux de taille moyenne et des interneurons. La couche IV,

très riche en cellules de forme étoilée, est appelée couche granulaire interne. La couche V, ou pyramidale interne, contient des neurones pyramidaux de grande taille ; elle est divisée en deux sous-couches : une supérieure (externe) ou Va et une inférieure (interne) ou Vb. Enfin la couche VI, la plus interne du cortex, est nommée couche polymorphe car elle renferme de multiples types neuronaux (Figure 1). Cette cytoarchitecture est caractéristique du cortex et elle est maintenue dans les différentes aires corticales, mais une couche donnée peut avoir une épaisseur variable selon l'aire considérée (Laurence JG, 2006). D'une manière très générale, les couches I, II et IV sont plutôt réceptrices et les couches III, V et VI sont plutôt émettrices.

Un autre type d'organisation spécifique du cortex concerne la myéloarchitecture. Dans la couche I, on retrouve les dendrites des cellules pyramidales et les axones des cellules de Cajal qui constituent le plexus d'Exner. Entre les couches II et III on retrouve la strie de Kaes-Bechterew, formée par la convergence d'afférences cortico-corticales. Au niveau de la couche IV, la strie externe de Baillarger dénote le regroupement d'afférences thalamo-corticales. Et enfin la strie interne de Baillarger est composée d'afférences locales dissociant la couche V et VI (Laurence JG, 2006).

Au-delà de sa compartimentation horizontale, le cortex de certaines régions cérébrales (comme le cortex visuel) s'organise également en colonnes (*barrels*). Ces colonnes se définissent à trois niveaux différents : micro-anatomique, macro-anatomique et fonctionnel. Les micro-colonnes (niveau micro-anatomique) sont décrites comme un arrangement vertical de plusieurs neurones pyramidaux ayant un diamètre de 20 à 50 μm , variable selon l'aire et l'espèce considérée (Buxhoeveden and Casanova, 2002) et sont considérées comme les plus petits circuits fonctionnels du cortex. Un ensemble de micro-colonnes forme une macro-colonne (niveau macro-anatomique), qui est anatomiquement définie par une zone où converge un ensemble d'afférences locales, cortico-corticales et thalamo-corticales. Cet ensemble possède un diamètre de 200 à 700 μm et peut être identifié avec des marqueurs immunohistochimiques particuliers : la cytochrome oxydase et la NADPH diaphorase (Rivier and Clarke, 1997; Barone and Kennedy, 2000). A l'échelle fonctionnelle, les colonnes corticales présentent des similarités au niveau des propriétés de leurs champs récepteurs, comme la préférence d'orientation du regard pour le système visuel ou la préférence de fréquence pour le système auditif, ou encore la somatotopie pour

le système sensoriel. Les colonnes qui présentent les mêmes préférences sont souvent liées par des connexions distales et cortico-corticales, qui permettent une correspondance spatiale entre les niveaux anatomiques et fonctionnels (Gilbert and Wiesel, 1989; Read et al., 2001; Hutsler and Galuske, 2003).

Les neurones du cortex forment un réseau très dense et ils sont connectés de manière très spécifique. Par exemple, au niveau de l'aire sensorielle primaire (S1) chez le rongeur, et plus spécifiquement au niveau d'un barrel, 1 mm³ de tissu cortical contient environ 105 neurones, qui représentent environ 4 kilomètres d'axones et 400 mètres de dendrites. Bien que cet ensemble de cellules a le potentiel d'effectuer 10 milliards de connexions, il en effectue 10 fois moins (Braitenberg and Schuz, 1998) dont plus de la moitié proviennent de sources externes à ce volume neuronal (Stepanyants et al., 2009). Par contre, le taux de connectivité entre deux cellules excitatrices du cortex est relativement faible et des enregistrements électrophysiologiques montrent que des paires de neurones corticaux ne forment des contacts mutuels que dans 10 à 20% des cas (Ko et al., 2011). Cette connectivité s'établit en respectant un schéma stéréotypé que l'on retrouve de façon systématique dans le cortex. En particulier, la circuiterie locale entre les neurones excitateurs du cortex suit un schéma séquentiel et asymétrique que je décrirai brièvement par la suite (Petreanu et al., 2009; Kiritani et al., 2012). Cependant, la propagation du message nerveux n'est pas seulement unidirectionnelle (*feedforward*) et linéaire car toutes les cellules du circuit reçoivent de multiples afférences. Les cellules excitatrices du cortex étant des neurones de projection, le circuit comporte également diverses structures de sortie (Douglas and Martin, 2004).

La principale afférence corticale provient du thalamus. Les projections thalamo-corticales sont classiquement divisées en deux populations : celles qui proviennent du « core » du thalamus et celles qui proviennent de la « matrice » du thalamus (Jones, 1998; Clascá et al., 2012). Les projections « core » sont issues des noyaux relais thalamiques de premier ordre, comme le noyau ventral postérieur médian ; elles contactent les neurones des couches IV (principalement), III et V, et sont responsables du transit rapide d'informations sensorielles et motrices. Les afférences provenant de la « matrice » sont issus des noyaux relais du thalamus d'ordre supérieur, comme le noyau postérieur médian, et contactent essentiellement la couche I, où se trouve la partie terminale des dendrites

apicales des neurones pyramidaux. Cependant, le type d'information qu'elles transmettent n'est pas encore compris. Les axones issus des noyaux intralaminaires constituent un troisième type de projection thalamo-corticale qui innerve essentiellement les couches profondes (V-VI) du cortex ainsi que le striatum (Clascá et al., 2012).

I.2. Les différentes populations neuronales du cortex

Les deux populations neuronales majoritaires du cortex sont les neurones pyramidaux de projection glutamatergiques et les interneurons GABAergiques (Figure 1). Dans cette partie je décrirai les différents types cellulaires compris dans ces deux grands ensembles, en me limitant à ce qui est nécessaire à la compréhension de mon travail. Après chaque description approfondie d'un ensemble de neurones, je ferai une brève description de leur patron de connexion canonique (systématiquement retrouvé dans le cortex), communément accepté (Douglas and Martin, 2004; Harris and Shepherd, 2015), entre les divers types neuronaux d'un même grand ensemble (Figures 2, 3).

I.2.a. Les neurones pyramidaux glutamatergiques

Les neurones pyramidaux sont présents dans les couches II à VI et forment des connexions intracorticales, sub-corticales, sub-cérébrales et cortico-thalamiques. Ils représentent environ 80% de la totalité des neurones corticaux. Il est possible de diviser les neurones pyramidaux en trois sous-groupes : les neurones intratélencéphaliques (IT), les neurones du tractus pyramidal (*pyramidal tract* ou PT) et les neurones cortico-thalamiques (CT) (Sohur et al., 2014). Ces neurones se distinguent sur la base de critères morphologiques, de leur localisation et patrons de connexions (locales et longue distance), de leur profil d'expression de gènes et de leurs propriétés électrophysiologiques (Figure 4).

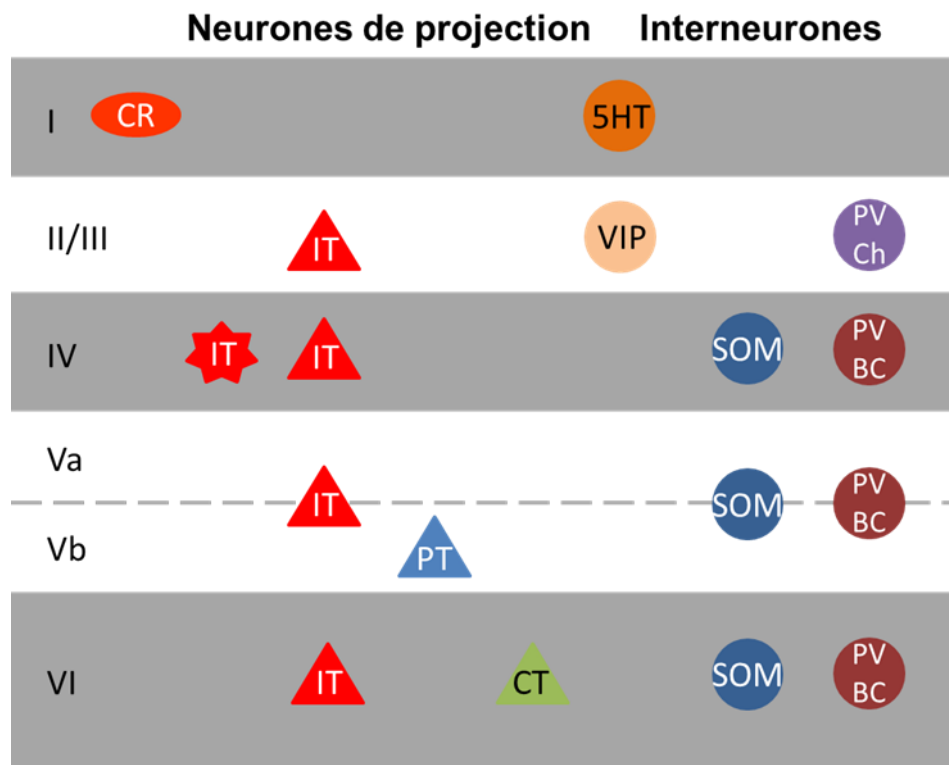


Figure 1 : Répartition laminaire des différents types de neurones corticaux.

La couche I est majoritairement colonisée par les extrémités des dendrites apicales des neurones pyramidaux et elle est parsemée de CR et d'interneurones GABA exprimant le récepteur 5HT-3A. Les neurones pyramidaux IT peuplent les couches II à VI (certains IT de la couche IV ont une forme étoilée). Les couches II-III, en plus de nombreux neurones IT, contiennent des interneurones VIP et PV de type *chandelier cell*. Dans la couche IV, les nombreuses cellules étoilées cohabitent avec des interneurones SOM et PV de type *basket cell*, également retrouvés dans les couches V et VI. Dans la couche V, les neurones IT sont présents partout (mais préférentiellement dans la partie supérieure Va), alors que les neurones PT occupent quasi-exclusivement la partie inférieure (Vb). Enfin, les neurones CT sont présents uniquement dans la couche VI.

Abréviations : I-VI, différentes couches corticales ; CR, cellules de Cajal-Retzius ; 5HT, interneurones 5HT-3A ; IT, neurones intratélencéphaliques ; VIP, interneurones exprimant le peptide vasointestinal ; PV ChC, interneurones exprimant la parvalbumine de type *chandelier cell* ; SOM, interneurones exprimant la somatostatine ; PV BC, interneurones exprimant la parvalbumine de type *basket cell* ; PT, neurones du tractus pyramidal ; CT, neurones cortico-thalamiques.

→ Les neurones intratélencéphaliques (IT)

Ils sont également appelés neurones « corticopètes » et sont de forme pyramidale. Ils sont répartis entre la couche II et la couche VI, présentant ainsi la plus grande diversité de localisation dans le cortex (Figure 1). Ils contactent uniquement des structures télencéphaliques : le cortex, le striatum, l'amygdale et le claustrum, et la majorité de leurs connexions s'établissent vers le cortex et le striatum (Figure 2) aussi bien ipsilatéralement que controlatéralement. Via le corps calleux et la commissure antérieure, ils connectent les deux hémisphères et représentent les seules cellules corticales excitatrices décrivant des

connexions controlatérales (Figure 4A). De manière générale, les neurones IT sont contactés localement et distalement par les IT de la couche IV et par les IT des autres couches. Ils reçoivent également des afférences provenant du thalamus. Ils sont caractérisés par l'expression du facteur de transcription SATB2 (*Special AT-rich sequence-binding protein 2*) (Molyneaux et al., 2007; Woodworth et al., 2012) (Figures 4A, 11), et *ex vivo* (enregistrements électrophysiologiques sur tranche de cerveau), ils présentent une décharge de type phasique (Suter et al., 2013) (Figure 4B). Les IT de la couche IV constituent une sous-classe remarquable de neurones IT, caractérisés par leurs formes et leur connectivité. Ils peuvent être de forme pyramidale ou étoilée (Figure 1) et leur présence varie selon les espèces et les aires corticales considérées (Douglas and Martin, 2004; Nassi and Callaway, 2009). Localement ils reçoivent très peu d'afférences et contactent majoritairement les IT des couches III et V (Feldmeyer, 2012). Distalement, ils sont contactés par le thalamus (« core ») et par les IT des couches V et VI. Ils ont un rôle de distribution locale de l'information via de nombreuses connexions récurrentes dans la couche IV et leurs contacts prononcés avec la couche III. Leur patron de connexion les isole et les place dans une situation privilégiée dans le circuit cortical excitateur, car ils émettent peu de connexions à longue distance et ils reçoivent très peu de connexions locales, ce qui les prédispose à être plus à l'écoute des afférences thalamiques (Markov and Kennedy, 2013). Ils auraient en effet une relation particulière avec les afférences thalamiques qui, en plus de les activer, stimulent également les interneurons adjacents. Cela conduit à une inhibition rapide des IT de la couche IV qui se produit juste après leur stimulation (Cruikshank et al., 2007). Ce délai, constituerait une période critique pendant laquelle la fréquence des stimulations reçues par les IT de la couche IV est déterminante pour une réponse spécifique à un stimulus sensoriel donné (Wilent and Contreras, 2005). Ces neurones sont caractérisés par l'expression du récepteur nucléaire RORB (*RAR-related orphan receptor beta*) (Jabaudon et al., 2012) et de SATB2 (Woodworth et al., 2012).

→ Les neurones du tractus pyramidal (PT)

Egalement appelés neurones « corticofuges », ils possèdent une arborisation dendritique apicale touffue et épaisse et un soma de forme pyramidale. Leur localisation est quasi-exclusivement restreinte à la couche Vb (Harris and Shepherd, 2015) (Figure 1). Localement

ils reçoivent beaucoup d'afférences provenant des neurones IT, mais ils ne contactent cependant que très peu de cellules. Comme les neurones IT, ils reçoivent des connexions de longue distance provenant du thalamus et des autres couches corticales. La particularité de ces neurones réside dans la multiplicité et diversité de zones qu'ils contactent : ils projettent ipsilatéralement sur les ganglions de la base, le thalamus, la formation réticulée, le tronc cérébral et la moelle épinière (Figure 2). Leurs ramifications axonales locales sont majoritairement restreintes à la couche IV, sont éparées et s'étendent au travers de plusieurs colonnes. Ces neurones sont caractérisés par l'expression des facteurs de transcription FEZF2 (*zinc finger transcription factor 2*) et CTIP2 (*Chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor-interacting proteins 2*) (Molyneaux et al., 2007; Woodworth et al., 2012) (Figures 4A, 11), et *ex vivo* ils présentent une décharge de type tonique (Suter et al., 2013) (Figure 4B).

Il est important de noter que leur patron de connexion est strictement opposé à celui des neurones IT de la couche IV, dans le sens où ils reçoivent très peu d'afférences distales mais leurs afférences locales sont très fournies. De plus ils contactent peu de cellules dans leur environnement proche mais possèdent une multitude de cibles distales. En cela, ils représentent une afférence majeure du cortex.

→ **Les neurones cortico-thalamiques (CT)**

Ils sont localisés exclusivement dans la couche VI (Figure 1), sont de forme pyramidale et leur arborisation dendritique couvre les couches corticales IV, V et VI. Localement ces neurones contactent les neurones IT et reçoivent peu d'informations de la part des neurones IT des couches Vb et VI. De façon plus distale, ils reçoivent des afférences de toutes les couches corticales, de tous les types de projections thalamo-corticales (du core, de la matrice et intralaminaires) et projettent principalement sur le thalamus ipsilatéral (Thomson, 2010). Ils représentent les seuls neurones du cortex qui ne possèdent pas de projections cortico-corticales de longue distance. Ils sont caractérisés par l'expression du facteur de transcription TBR1 (*T-Box brain 1*) et possèdent, *ex vivo*, une décharge régulière. *In vivo*, ils sont majoritairement silencieux, même au cours de tâches comportementales (Beloozerova et al., 2003; Vélez-Fort et al., 2014).

I.2.b. Connectivité des neurones glutamatergiques

A travers différentes zones du cortex, les neurones pyramidaux semblent adopter le même patron de connexion que l'on peut simplifier comme décrit ci-après. Le thalamus, via les neurones thalamo-corticaux, constitue l'afférence corticale principale et contacte majoritairement la couche IV. Les cellules excitatrices de la couche IV projettent ensuite vers les neurones IT des couches II-III. Ces couches superficielles affèrent ensuite sur la couche V, qui à son tour projette sur la couche VI. Cette dernière reboucle sur la couche IV pour clôturer ce circuit local (Figure 2). La large arborisation axonale des neurones de la couche VI combinée aux afférences thalamiques, exercent un contrôle fin de l'activité des neurones étoilés de la couche IV (Douglas and Martin, 2004; Harris and Shepherd, 2015). Enfin, du fait de la grande variété des cibles sous-corticales qu'ils contactent, les neurones PT représentent la source efférente majeure du cortex, mais ce circuit comprend de multiples points de sortie car il est exclusivement formé de neurones de projection.

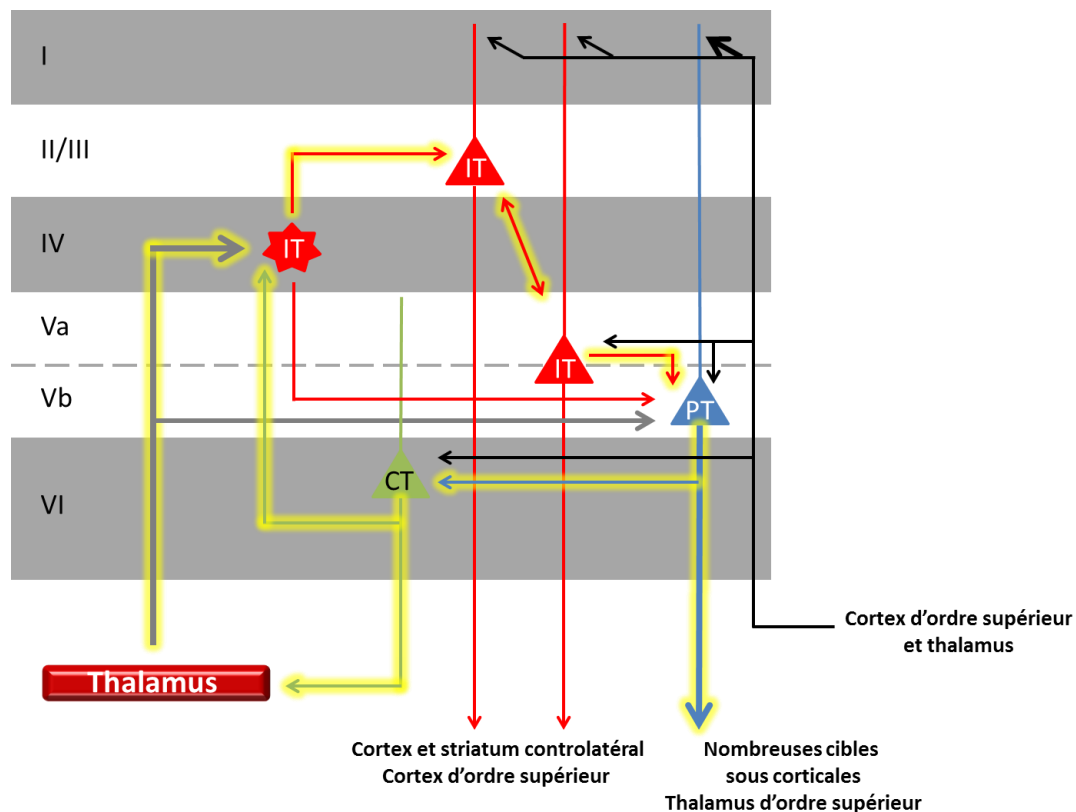


Figure 2 : Connectivité principale des neurones glutamatergiques du cortex.

Les connexions principales et systématiquement retrouvées dans différentes aires corticales sont surlignées en jaune. Les connexions les plus fortes sont grossies (traits et flèches).

Abréviations : I-VI, différentes couches corticales ; IT, neurones intratélencéphaliques ; PT, neurones tractus pyramidal ; CT, neurones cortico-thalamiques.

(Adaptée de Harris and Mrsic-Flogel, 2013)

I.2.c. Les interneurones GABAergiques

Les interneurones GABAergiques représentent environ 20% de la totalité des neurones corticaux et sont divisés en trois groupes principaux qui peuvent être identifiés grâce à des marqueurs moléculaires spécifiques : les récepteurs à la sérotonine de type 3A (5HT-3A), la somatostatine (SOM) et la parvalbumine (PV) (Figure 1). Chacune de ces trois grandes catégories est également sous-divisée en plusieurs classes selon des critères morphologiques, électrophysiologiques et immunohistochimiques (Tremblay et al., 2016), que je ne détaillerai pas ici où je ferai une brève description des trois catégories principales. A l'instar des cellules excitatrices du cortex, les interneurones corticaux présentent, à travers de multiples régions corticales, un patron de connexion canonique basé sur des connexions asymétriques et stéréotypées (Harris and Shepherd, 2015) (Figure 3).

→ Interneurones 5HT-3A

Ils représentent 30% des interneurones GABAergiques corticaux et se distribuent principalement dans les couches superficielles I, II et III (Figure 1). Localement, ces neurones vont globalement inhiber les autres interneurones GABAergiques et être stimulés par les neurones IT. Distalement, ils reçoivent des connexions issues du cortex d'ordre supérieur. Une sous-classe d'interneurones 5HT-3A exprime le peptide vasointestinal (VIP) et constitue le premier maillon du schéma systématique de connexion entre interneurones GABAergiques prédominant au sein du cortex. Ce sous-type d'interneurones, qui est le plus représenté dans les couches II-III (Figure 1), contacte les interneurones SOM et PV de manière unidirectionnelle (Jiang et al., 2013) (Figure 3), via une arborisation axonale verticalement descendante et directe, caractéristique (Prönneke et al., 2015).

→ Interneurones SOM

Ils représentent globalement 30% des interneurones GABAergiques corticaux. Ils sont présents principalement dans les couches profondes (V et VI) et dans la couche IV (Figure 1). Localement ils sont excités par les IT et PT et inhibés par les interneurones VIP. Ils inhibent les interneurones PV et les neurones glutamatergiques au niveau des dendrites (Silberberg and Markram, 2007) (Figure 3). Ils ont la capacité d'émettre des potentiels d'action (PAs) à un bas seuil de dépolarisation (Kawaguchi and Kubota, 1997; McGarry et al., 2010). Ils

inhibent les interneurons PV de manière asymétrique et constituent ainsi le deuxième maillon du schéma systématique de connexion entre interneurons GABAergiques du cortex (Pfeffer et al., 2013) (Figure 3).

→ Interneurons PV

Ces cellules représentent 40% des interneurons GABAergiques corticaux et sont essentiellement localisés dans les couches IV, V et VI. Les interneurons PV présentent deux types de morphologies dendritiques caractéristiques, d'où ils tirent leurs noms : les *basket cells* (cellules en panier) et les *chandelier cells* (cellules en lustre) (Figure 1). Ces deux catégories présentent une décharge rapide (*fast spiking*) et sont indiscernables sur le plan électrophysiologique. Elles reçoivent toutes deux des connexions excitatrices locales des neurones pyramidaux, ainsi que de nombreuses afférences en provenance du « core » du thalamus et du cortex d'ordre inférieure (Cruikshank et al., 2007). Les *basket cells* sont inhibées par les interneurons PV, SOM et VIP, et inhibent à leur tour les neurones excitateurs en établissant des contacts sur les corps cellulaires alors que les *chandelier cells* contactent les segments initiaux (Figure 3).

I.2.d. Connectivité des interneurons GABAergiques

Dans plusieurs zones du cortex, les connexions entre ces trois groupes d'interneurons s'organisent de manière similaire à ce qui est décrit ci-après. Le premier maillon de ce patron de connexion est représenté par la sous-classe prédominante des interneurons 5HT-3A exprimant le VIP (Fino and Yuste, 2011; Pi et al., 2013). Les cibles primaires des interneurons VIP sont les interneurons SOM, qui reçoivent également de nombreux contacts excitateurs locaux. Ils inhibent les cellules pyramidales et les interneurons PV principalement au niveau des dendrites. Les interneurons SOM contactent ensuite les interneurons PV, qui reçoivent également de nombreuses afférences du thalamus et du cortex (d'ordre inférieur). Ils inhibent les cellules pyramidales au niveau du soma et les *chandelier cells* ciblent particulièrement le segment initial (Figure 3). Tous ces interneurons reçoivent des contacts excitateurs locaux. De plus, les interneurons VIP reçoivent des afférences du cortex d'ordre supérieur (Douglas and Martin, 2004; Harris and Shepherd, 2015).

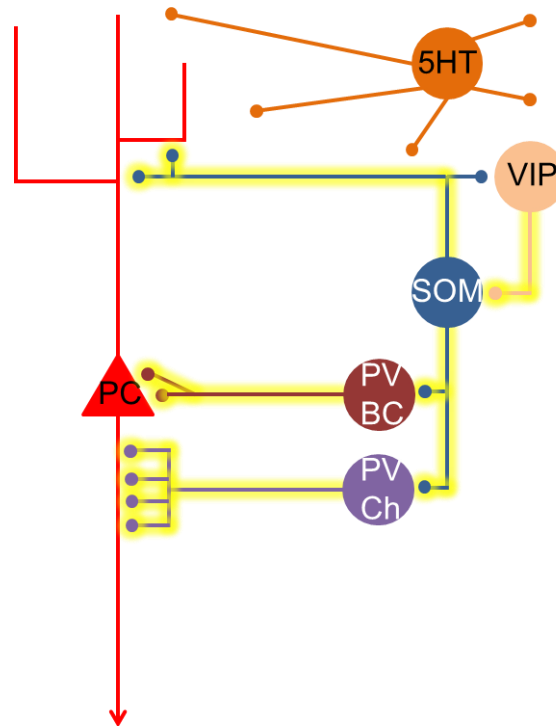


Figure 3 : Connectivité principale des neurones GABAergiques du cortex.

Les connexions principales et systématiquement retrouvées dans différentes aires corticales sont surlignées en jaune.

Abréviations : PC, cellule pyramidale ; 5HT, interneurons 5HT-3A ; VIP, interneurons exprimant le peptide vasointestinal ; PV ChC, interneurons exprimant la parvalbumine de type chandelier cell ; SOM, interneurons exprimant la somatostatine ; PV BC, interneurons exprimant la parvalbumine de type basket cell.

(Adaptée de Harris and Mrcic-Flogel, 2013)

I.3. La couche V

La couche V correspond à la couche pyramidale interne et se caractérise par un nombre très important de projections corticales et sous-corticales, notamment la principale voie nerveuse motrice de l'organisme : la voie pyramidale. Cette couche, est d'ailleurs considérée comme une source d'efférences majeure du cortex (Agmon and Connors, 1992; Rah et al., 2013), pouvant contacter une multitude de structures ipsilatéralement, comprenant le cortex lui-même, le striatum, le thalamus, le noyau subthalamique, le tronc cérébral et la moelle épinière. Les projections sur le cortex et le striatum issues des neurones IT sont en partie bilatérales. Celles issues des PT sont en majorité bilatérales sur les noyaux du tronc cérébral et essentiellement controlatérales sur la moelle épinière (Levesque et al., 1996; Aronoff et al., 2010; Shepherd, 2013). Si on replace la couche V dans le schéma général d'interaction des circuits corticaux, elle reçoit des afférences de toutes les couches corticales et possède une relation étroite avec le thalamus qui lui envoie des afférences directes

(Figure 2). Cette source afférente peut influencer, à elle seule, de manière prédominante la couche V jusqu'à en contrôler son activité (Constantinople and Bruno, 2013). La couche V s'inscrit donc dans une boucle cortico-ganglions de la base-thalamo-corticale dans laquelle elle occupe une place centrale pour l'intégration et la distribution de l'information au sein du cortex.

I.3.a. Les cellules pyramidales de la couche V

Les deux catégories principales de neurones pyramidaux, les neurones IT et les neurones PT, se côtoient dans la couche V (Figures 1, 2). Comme mentionné ci-dessus, ils sont différenciables sur la base de critères morphologiques, de connectivités et électrophysiologiques.

→ Morphologie

Dans la couche V, les neurones PT sont quasi-exclusivement localisés dans la Vb (Hattox and Nelson, 2007), alors que les neurones IT sont majoritairement localisés dans la couche Va mais ils sont également présents dans la Vb (Harris and Shepherd, 2015) (Figures 1, 2). Les neurones IT possèdent un arbre dendritique plus petit que les neurones PT, avec peu ou pas de ramifications apicales. Les neurones PT de la couche V envoient des ramifications axonales locales qui sont majoritairement restreintes à la couche IV, sont éparses et s'étendent au travers de plusieurs colonnes. Les neurones IT ont des prolongements axonaux locaux plus denses et contactent plusieurs colonnes en remontant vers les couches II-III (Schubert et al., 2006; Ramaswamy and Markram, 2015).

→ Connectivité

Les neurones pyramidaux de la couche V reçoivent une afférence provenant des couches II-III du cortex, correspondant à l'une des connexions excitatrices translaminaires majeures du cortex moteur chez la souris (Thomson and Bannister, 2003; Weiler et al., 2008). La majorité des contacts (75% environ) s'effectue au niveau des épines dendritiques des neurones pyramidaux et le reste sur les troncs dendritiques. Par contre, aucune synapse excitatrice n'est effectuée sur le corps cellulaire (Thomson and Bannister, 1998; Morishima and Kawaguchi, 2006; Brown and Hestrin, 2009; Kiritani et al., 2012). La distribution de ces

connexions apparaît hautement organisée (Thomson and Bannister, 2003; Weiler et al., 2008), puisque le type de contact va dépendre de la couche d'origine du neurone cortical et de la nature de la cellule contactée (Anderson et al., 2010). De nombreuses données s'accordent à dire que la connexion entre IT et PT est asymétrique, car elle se fait essentiellement et quasi-exclusivement dans le sens IT vers PT (Brown and Hestrin, 2009; Harris and Shepherd, 2015).

Les neurones PT reçoivent de manière générale des afférences pyramidales de toutes les couches corticales et ce de manière plus prononcée lorsqu'elles proviennent de la couche III ou d'autres neurones PT. Ils établissent ainsi un réseau de connexions réciproques avec les autres neurones PT mais ne contactent que très rarement les IT de la couche V (Krieger et al., 2007; Kiritani et al., 2012).

Les neurones IT reçoivent de manière générale des afférences pyramidales de toutes les couches corticales, mais elles sont plus denses quand elles proviennent des couches II, IV, VI et des IT de la couche V. Avec ces derniers, ils forment un véritable réseau de connexions réciproques qui stimule localement les PT (Frick et al., 2008). Les axones provenant des neurones IT de la couche II contactent principalement les IT de la couche Va et les PT de la partie supérieure de la couche Vb, tandis que ceux issus de la couche III contactent seulement les PT de la partie supérieure de la couche Vb (Anderson et al., 2010).

Les axones des neurones cortico-striés de la couche V effectuent des connexions récurrentes avec les cellules adjacentes de la même couche. Cela constitue une caractéristique de base et prépondérante des cellules pyramidales, qui complexifie la synapse cortico-corticale mais qui serait nécessaire pour l'intégration, l'amplification, le stockage transitoire et la distribution d'informations au sein d'une sous-population localisée de neurones (Douglas et al., 1995). Cette caractéristique de connexion est conservée à travers différentes espèces ainsi que dans différentes zones corticales, de la même espèce (Morishima and Kawaguchi, 2006; Wang et al., 2006; Brown and Hestrin, 2009).

Les noyaux thalamiques connectés préférentiellement à la couche V sont le postéro-médian et le postéro-médian ventral. Au niveau des neurones PT les afférences provenant du noyau postéro-médian ventral sont majeures alors qu'ils reçoivent peu d'afférences provenant du noyau postéro-médian. Pour les IT c'est le contraire (Petreanu et al., 2009; Constantinople and Bruno, 2013).

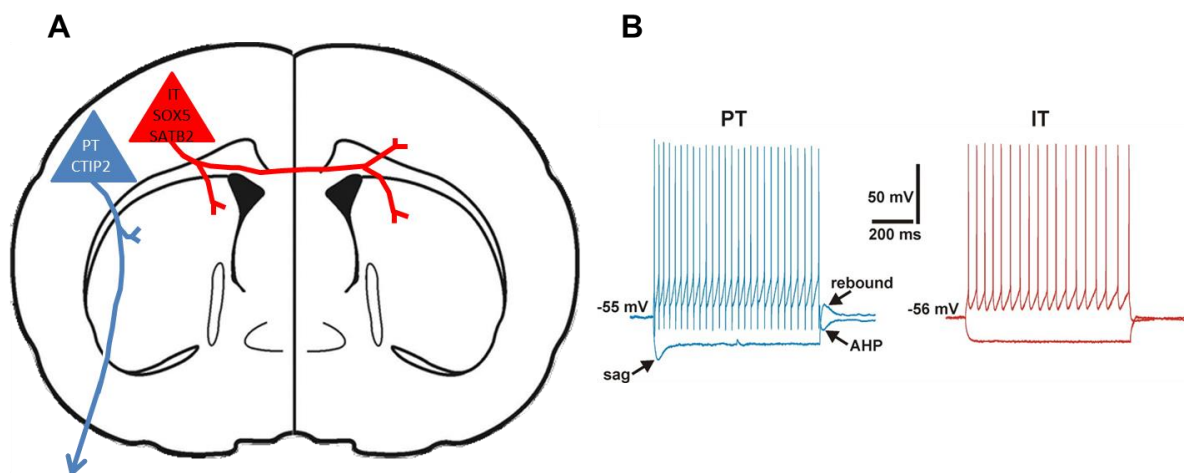


Figure 4 : Neurones pyramidaux de la couche V.

(A) Les neurones pyramidaux de la couche V peuvent être classés selon 2 catégories : les neurones cortico-striataux intratélencéphaliques (IT - rouge) qui projettent à la fois dans le striatum ipsi- et controlatéral et dans le cortex controlatéral, et les neurones cortico-striés de type pyramidal (PT - bleu) qui projettent uniquement dans le striatum ipsilatéral et les régions sous-cérébrales. Chaque type de neurone exprime des facteurs de transcription spécifiques (SOX5 et SATB2 pour les IT, et CTIP2 pour les PT) (Adaptée de Sohur et al., 2014).

(B) Les deux tracés montrent les réponses d'un neurone PT et d'un neurone IT à des courants hyper- et dépolarisant (de 200 pA). Noter les amplitudes du *sag* (épaulement), de l'AHP (posthyperpolarisation) et du rebond plus prononcées chez le PT par rapport à l'IT.

→ Propriétés électrophysiologiques

In vivo, les neurones pyramidaux de la couche V présentent des propriétés physiologiques qui les distinguent des cellules excitatrices des autres couches. En effet ils possèdent de nombreuses et diverses capacités d'adaptation de leur activité, en réponse aux stimuli sensoriels (Brecht et al., 2003; Lur et al., 2016) : la majorité des neurones pyramidaux de la couche V réduit son activité pendant une tâche comportementale de stimulation sensorielle, ce qui n'est pas le cas dans les autres couches (Pluta et al., 2015).

Les neurones PT déchargent à haute fréquence de façon spontanée au cours d'une réponse à un stimulus sensoriel (de Kock et al., 2007; Hires et al., 2015), et possèdent la fréquence d'activité la plus élevée parmi les cellules pyramidales (Beloozerova et al., 2003; O'Connor et al., 2010). Ces propriétés suggèrent qu'ils optent pour une stratégie de réponse en masse et de façon synchrone aux stimuli sensoriels (Harris and Mrsic-Flogel, 2013). De plus, les PT présentent une excitabilité intrinsèque élevée et peuvent intégrer des signaux provenant d'une multitude de sources qui favorisent la mise en œuvre de cette stratégie de réponse (Schubert et al., 2001; Zarrinpar and Callaway, 2016). *Ex vivo*, les neurones PT peuvent présenter des décharges en bouffées ou des doublets et leurs PAs sont de courte

durée. Ils présentent une forte décharge dendritique et pas d'adaptation après la bouffée. Ils répondent à une hyperpolarisation par une dépolarisation rapide donnant lieu à un épaulement (*sag*) caractéristique, suivi par un rebond à la fin du courant (*rebound*), et ils présentent également une posthyperpolarisation soutenue (*after-hyperpolarization*, AHP) à la fin d'un courant dépolarisant déclenchant des PAs (Groh et al., 2010; Schubert et al., 2006) (Figure 4B).

Les neurones IT présentent une décharge régulière (ou doublets), avec des PAs de longue durée qui souvent s'adaptent à la décharge. Leurs dendrites présentent peu d'activité électrique et leur réponse à une hyper- ou dépolarisation (*sag/rebound/AHP*) est moins marquée que chez les PT (Sheets et al., 2011; Suter et al., 2013; Lee et al., 2014) (Figure 4B).

I.3.b. Les interneurones GABAergiques de la couche V

Dans cette partie je me limiterai à la description des interneurones les plus présents dans la couche V et à la façon dont ils influencent la circuiterie excitatrice décrite précédemment.

→ Les différents types d'interneurones

Interneurones PV. Les interneurones GABAergiques les plus répandus au sein de la couche V sont les interneurones PV (Gonchar et al., 2007; Lee et al., 2010). Ces interneurones sont pour la plupart de type *basket cell* (Figure 1), dont les axones innervent le compartiment somatique des cellules pyramidales leur permettant d'exercer une inhibition rapide et puissante sur ces cellules environnantes (Xiang et al., 2002). Les cellules pyramidales ne reçoivent pas de contacts des *chandelier cells* de la couche V, dans laquelle ils sont peu nombreux (Peters et al., 1982; Taniguchi et al., 2013), mais elles en reçoivent en provenance des couches II-III où les *chandelier cells* sont plus présents (Jiang et al., 2013) (Figure 1).

Interneurones SOM. La sous-classe d'interneurones SOM la plus présente dans la couche V est représentée par les cellules de Martinotti. Elles possèdent un patron de connexion bien spécifique avec un axone qui remonte jusqu'aux couches corticales les plus superficielles. Ils atteignent particulièrement la couche I, où ils contactent la partie terminale des dendrites

apicales des cellules pyramidales de la couche V en formant un plexus axonal dense (Silberberg and Markram, 2007).

Interneurones 5HT-3A. Bien que majoritaires dans la couche II-III, ils ne représentent qu'une petite fraction de la population d'interneurones de la couche V (seulement 10 à 25%) (Tremblay et al., 2016).

→ **Principales inhibitions corticales**

En considérant le schéma local de connexion des neurones corticaux (voir les parties I.2.b et I.2.d et les figures 2, 3), les principaux mécanismes d'inhibition via les interneurones s'établissent dans la même couche corticale (inhibition intralaminaire), mais il existe également des connexions entre différentes couches (inhibition translaminaire).

Inhibitions intralaminaires. Comme décrit ci-dessus, les interneurones PV de type *basket cells* représentent les acteurs majeurs de l'inhibition récurrente de la couche V. Les neurones pyramidaux glutamatergiques de cette couche exercent une forte stimulation convergente sur les interneurones PV (Jiang et al., 2015; Pluta et al., 2015), qui à leur tour déclenchent une inhibition massive des neurones pyramidaux au niveau de leurs somas (Packer and Yuste, 2011) (Figure 3). Les synapses excitatrices sur les interneurones PV sont très efficaces mais présentent une tendance à la dépression, qui donne lieu à une diminution considérable de l'activité des interneurones PV sur les cellules pyramidales pendant un train de PAs (Galarreta and Hestrin, 1998; Xiang et al., 2002). L'inhibition exercée par les interneurones PV sur les cellules pyramidales serait préférentiellement exercée à des moments bien spécifiques d'une activation corticale suite à une stimulation sensorielle. Cette inhibition imposerait ainsi une fenêtre temporelle pour l'intégration synaptique des cellules pyramidales, en empêchant la sommation de signaux non coïncidents (Silberberg and Markram, 2007). Globalement, mais surtout dans la couche Vb, les interneurones PV permettraient l'intégration d'une multitude d'informations concernant les caractéristiques temporelles d'un stimulus sensoriel et joueraient un rôle important dans le contrôle temporel des patrons de décharge (Reyes-Puerta et al., 2015).

L'inhibition récurrente la mieux comprise de la couche V est l'inhibition disynaptique dépendante de la fréquence (*frequency-dependent disynaptic inhibition*, FDDI). Ce phénomène est déclenché lorsqu'une cellule pyramidale excite un interneurone SOM de Martinotti via une bouffée de PAs (Silberberg and Markram, 2007), lequel va inhiber plusieurs neurones pyramidaux adjacents par une action dendritique. En effet, les interneurones SOM déclenchent un phénomène de facilitation à court terme prononcé suite à une stimulation à haute fréquence (Kwan and Dan, 2012), de sorte que la mise en jeu de seulement 1 à 4 cellules pyramidales peut mettre au silence toutes les cellules pyramidales avoisinantes (Berger et al., 2010). La FDDI est un processus particulièrement présent au niveau des neurones PT (Le Bé et al., 2007; Berger et al., 2009), qui faciliterait la transmission d'un message inhibiteur à la totalité d'un microcircuit local (Naka, 2015). De façon plus large, la FDDI représenterait un mécanisme de contrôle de l'activité des cellules pyramidales. Elle serait le support d'un rétrocontrôle négatif en cas de trop forte activité des neurones pyramidaux (Major et al., 2013). L'inhibition des PAs dendritiques permettrait également de mieux contrôler l'intégration de l'activité synaptique des différents compartiments du neurone. Enfin, l'intégration de PAs dendritiques étant importante pour générer une activité en bouffée, la FDDI influencerait également le mode de décharge des neurones PT (Murayama et al., 2009; Lavzin et al., 2012).

Inhibitions translaminaires. Au-delà des inhibitions intra-laminaires, la couche V est aussi sujette à une inhibition provenant des interneurones GABAergiques des autres couches. Des études de reconstructions axonales, d'enregistrements intracellulaires de paires de neurones et de traçages viraux ont montrés que les neurones pyramidaux de la couche V reçoivent des contacts d'interneurones localisés dans la même couche, et secondairement des couches II-III, IV et VI (Jiang et al., 2013; DeNardo et al., 2015). Cependant, la stimulation optogénétique des couches II-III révèle que l'inhibition translaminaire peut également s'établir de manière indirecte, via les afférences excitatrices des couches supérieures qui activent les interneurones de la couche V (Kätzel et al., 2011; Pluta et al., 2015). En effet, beaucoup de cellules pyramidales de toutes les couches corticales peuvent contacter des interneurones dans la couche V qui auront une action en aval du circuit excitateur. Un tel recrutement s'appelle la *feedforward inhibition* (FFI), phénomène largement décrit dans

différentes régions corticales (Cruikshank et al., 2007; Xu and Callaway, 2009), qui met principalement en jeu les interneurons PV. La FFI aurait différentes fonctions : augmenter la précision temporelle des signaux afférents (Gabernet et al., 2005), élargir la variété des réponses des populations en aval (Pouille et al., 2009) et agir comme filtre de synchronisation des afférences (Bruno, 2011). Cependant, la FFI reste un phénomène encore mal compris au sein de la couche V.

Il existe aussi des inhibitions entre aires corticales différentes dont nous ne parlerons pas ici (Naka and Adesnik, 2016).

I.4. Mécanismes généraux du développement cortical

Chez les Mammifères, la région la plus développée du cortex est le pallium. Elle est la dernière à être apparue au cours de l'évolution (neopallium) en s'insérant entre deux régions plus anciennes (l'archipallium et le paléopallium). De cette manière, l'archipallium est « repoussé » dans la partie dorsale du ventricule latéral pour former l'hippocampe, tandis que le paleopallium constituera le bulbe olfactif. Cette définition est désormais obsolète, et on préfère parler de télencéphale (ou pallium embryonnaire) subdivisé en régions dorsale et ventrale, qui donneront naissance au cortex cérébral et aux ganglions de la base, respectivement. Puis, ultérieurement au cours du développement, la région dorsale se subdivise en quatre : le pallium dorsal (qui donnera le (néo)cortex), le pallium médian (qui donnera la formation hippocampique), le pallium ventral (qui donnera le claustrum, l'amygdale baso-latérale, le striatum et le globus pallidus), et le pallium latéral (qui donnera les cortex piriforme et olfactif) (Puelles et al., 2000; Marín and Rubenstein, 2001).

A l'instar de l'évolution du télencéphale, le développement des couches corticales se fait de manière « *inside-out* », c'est-à-dire que les nouvelles couches sont créées à la périphérie en repoussant les anciennes vers le centre (Figure 5). Ainsi, en suivant ce schéma, la couche VI est formée en premier et la couche II en dernier, exception faite de la couche I qui provient de la zone marginale au temps embryonnaire 13.5 (E13.5) chez le rongeur. Une caractéristique développementale remarquable du cortex réside dans le fait qu'aucune cellule qui le composera à la fin de sa maturation n'est générée *in situ*. En effet, elles sont générées au niveau de zones embryonnaires prolifératives transitoires situées au niveau de la paroi des ventricules latéraux : la zone ventriculaire (*ventricular zone*, VZ) et la zone sous-

ventriculaire (*subventricular zone*, SVZ). Selon l'hypothèse « d'unité radiaire », la VZ constituerait un vivier prolifératif à partir duquel les précurseurs neuronaux seraient guidés par les fibres de la glie radiaire (*radial glia*, RG) à travers le cortex en développement (Rakic, 1988). De plus, la RG peut elle-même donner naissance à des neurones excitateurs immatures (Figure 5) au cours de plusieurs cycles de divisions asymétriques.

Chez la souris, à E10.5 les cellules du neuroépithélium indifférencié se divisent pour former les cellules de la RG, dont les prolongements permettent de recouvrir la totalité de l'épaisseur corticale et ce jusqu'à la maturation finale des couches corticales (Figure 5).

A E11.5 les cellules de la RG effectuent une division asymétrique donnant naissance, d'une part, à d'autres cellules de la RG et, d'autre part, à des neurones immatures qui vont migrer le long de la RG déjà en place. Ces derniers vont former la pré-plaque, constituant la toute première population cellulaire colonisant le futur cortex (Figure 5).

A E12.5 les prolongements de la RG et le tissu cérébral s'agrandissent laissant apparaître la SVZ, au sein de laquelle la pré-plaque se transforme en trois nouvelles couches : la sous-plaque, la plaque corticale et la zone marginale. Dans le même temps, les cellules de la RG vont effectuer des divisions asymétriques aboutissant à de nouvelles cellules de la RG et, indirectement via la formation d'un progéniteur intermédiaire (*intermediary progenitor*, IP), à un neurone migrant immature qui colonisera la plaque corticale. En suivant ce mécanisme, les IP seront donc à l'origine de la formation de la couche VI (Figure 5).

A E13.5, la plaque corticale et la zone marginale laissent respectivement place aux couches corticales VI et I. Dans le même temps, et suivant le schéma décrit précédemment, les IP générés par la RG conduiront à la formation de la couche V. Ainsi, la formation d'une couche corticale donnée est initialement assurée par les IP, qui eux-mêmes sont liés au temps embryonnaire durant lequel ils sont générés. Ce mécanisme général, à savoir l'allongement de la RG suivant l'évolution du cortex, ainsi que sa division asymétrique en RG et en IP, sera appliqué de la même façon jusqu'à ce que toutes les couches corticales soient investies. Une variation de ce schéma apparaîtra cependant à E14.5, où le développement de la RG externe aura lieu à partir de la RG. Depuis la SVZ, les cellules de la RG externe permettront la production et la migration de neurones immatures qui coloniseront les couches corticales (Figure 5).

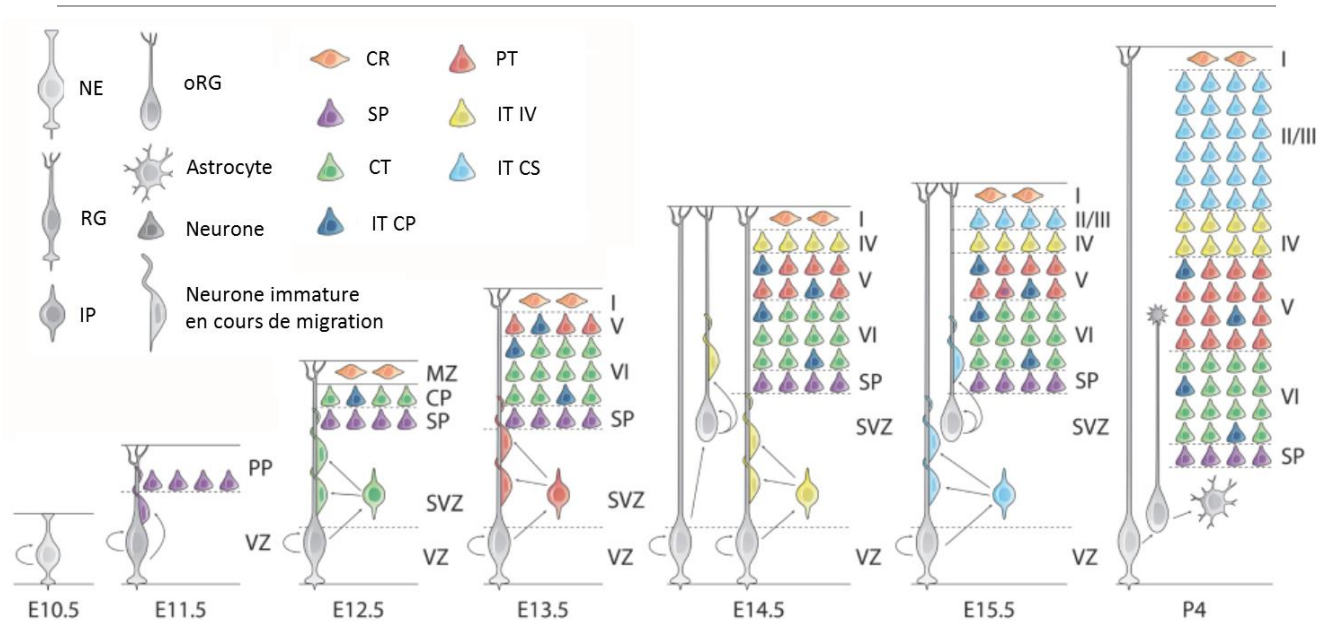


Figure 5 : Mise en place des couches corticales au cours du développement.

Voir le texte pour les explications.

Abréviations : CR, cellules de Cajal-Retzius ; CT, neurones cortico-thalamiques ; E, jour embryonnaire ; IP, progéniteur intermédiaire ; IT CP, neurones intratélencéphaliques des couches profondes ; IT CS neurones IT des couches superficielles ; IT IV, neurones intratélencéphaliques de la couche IV ; NE, neuroépithélium indifférencié ; oRG, glie radiale externe ; P, jour postnatal ; PT, neurones du tractus pyramidal ; RG, glie radiale ; SP, sous-plaque ; SVZ, zone sous-ventriculaire ; VZ, zone ventriculaire.

(Adaptée de Woodworth et al., 2012)

La compartimentation en aires du cortex cérébral est initiée grâce à l'intervention de morphogènes diffusibles et des molécules de signalisation. Au niveau de la VZ, cet adressage est déjà prédéfini et les progéniteurs neuronaux expriment des niveaux précis de facteurs de transcription selon les coordonnées rostro-caudale et médio-latérale qu'ils occupent. Ainsi, une précartographie (Figures 6A, C) du cortex est déjà établie à des stades précoces du développement cérébral.

Lors de l'insertion dans les couches corticales, les neurones générés en même temps colonisent la même couche en repoussant les neurones les plus précocement générés vers le centre du cerveau (Figure 5). Et comme l'information de position définie dans la VZ est maintenue lors de la migration, la position finale du neurone correspondra à la position du progéniteur au niveau de la précartographie établie dans la VZ (Figure 6C). Ainsi, lors de l'arrivée dans le cortex, l'information de position à 2 dimensions de la VZ est transformée en une information à trois dimensions. En d'autres termes, la position finale d'un précurseur pyramidal dans une aire corticale est définie par sa position dans la VZ, alors que l'appartenance à une couche et la position dans cette couche sont définis par son moment

de génération (Kriegstein et al., 2006). L'exécution d'un programme développemental précis, faisant intervenir des gènes et facteurs de transcription spécifiques (Figure 6A), est requise pour la mise en place des couches corticales et pour l'établissement des connexions appropriées par les neurones qui les composent. Pendant ce programme, trois paramètres sont donc cruciaux : le temps, la différenciation en sous-types neuronaux et la différenciation des aires corticales. Les progéniteurs corticaux répondent à des signaux inductifs en exprimant différents facteurs de transcription selon la place qu'ils occupent dans la VZ. Ainsi, leur développement est restreint à des zones spécifiques (O'Leary et al., 2007) (Figure 6). A E9.5, lorsque la cartographie corticale est en formation, deux sources majeures de signaux d'adressage interviennent : une source rostrale qui exprime *Fgf8* (*Fibroblast growth factor 8*) et *Fgf17*, ainsi qu'une autre exprimant *Bmps* (*bone morphogenetic protein*) et *Wnt* (*Wingless integration signaling pathway*). *Fgf8* et *Fgf17* sont sécrétés par la plaque commissurale selon un axe rostromédian (Crossley and Martin, 1995; Maruoka et al., 1998), alors que les membres des familles *Bmps* et *Wnt* sont sécrétés suivant un axe caudomédian. De plus, *Sfrp2* (*Secreted frizzled-related protein 2*, antagoniste de *Wnt*) et plusieurs membres de la famille *Egf* (*Epidermal growth factor*) sont sécrétés latéralement (Grove et al., 1998). Cependant, seul *Fgf8* est considéré comme un véritable déterminant de l'identité des aires (Fukuchi-Shimogori and Grove, 2001; Garel et al., 2003; Cholfin and Rubenstein, 2007). Ces facteurs diffusibles induisent une expression graduée de facteurs de transcription par les progéniteurs de la VZ. D'autres facteurs, tels que *Pax 6* (*Paired box 6*) et *Emx2* (*Empty spiracles homolog 2*) sont exprimés suivant un gradient rostrolateral/caudomédian réciproque (Walther and Gruss, 1991; Gulisano et al., 1996), alors que *Sp8* (*Specificity factor 8* ou *transcription factor Sp8*) et *Couptf1* (*Chicken ovalbumin upstream promotor transcription factor 1*) sont exprimés suivant un gradient rostromédian/caudolatéral réciproque (C. Zhou et al., 2001; Sahara et al., 2007) (Figure 6A). Caudalement, une forte expression d'*Emx2* et de *Couptf1* conduit à la formation de l'aire sensorielle, alors que rostralement, c'est l'expression combinée de *Pax6* et de *Sp8* qui favorise l'identité motrice (Figures 6A, B). Comme ces deux couples de facteurs possèdent des gradients d'expression orthogonalement opposés, ils peuvent théoriquement contrôler tout le panel de coordonnées de position corticale possible. Une petite modification de leurs répartitions, ou

du sens de leurs gradients, suffit à impacter la taille et la position des aires corticales (Greig et al., 2013).

Ainsi, comme mentionné ci-dessus, c'est une véritable précartographie qui est établie au niveau de la VZ contenant la RG et les IP. Elle peut donc être transmise aux progéniteurs neuronaux qui l'interprèteront et l'exécuteront au travers d'un second réseau de facteurs de transcription postmitotiques contrôlant l'appartenance aux couches.

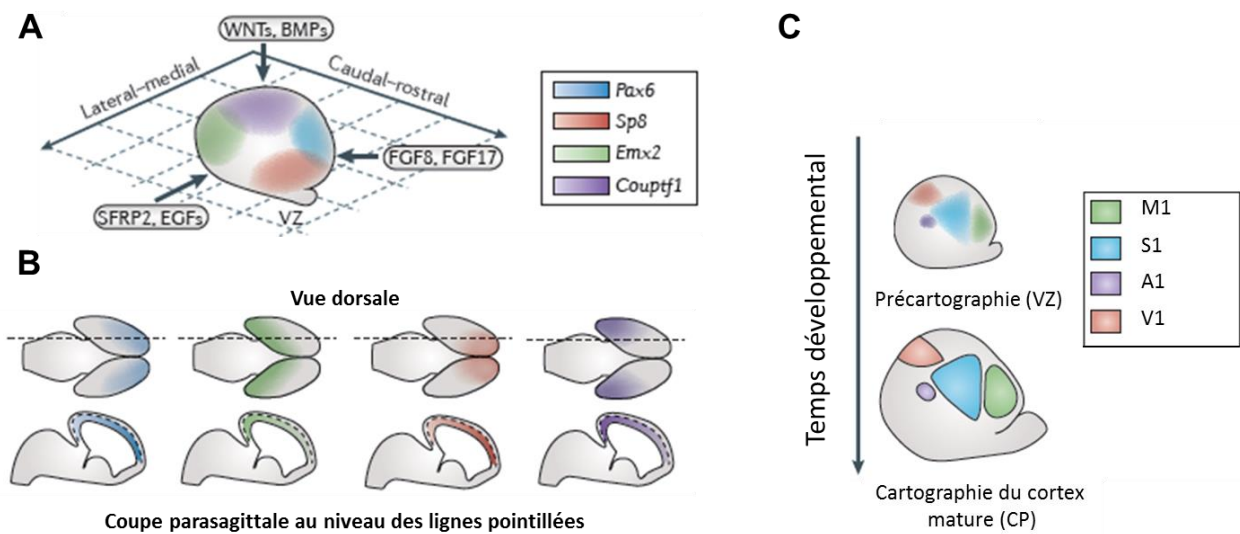


Figure 6 : Déterminisme des aires corticales au cours du développement.

(A) Distribution des différents morphogènes nécessaires à la régionalisation du cortex au cours du développement embryonnaire.

(B) Vues dorsale et parasagittale des patrons d'expression des morphogènes Pax6, Sp8, Emx2 et Coup1.

(C) Maturation des aires corticales au cours du développement. Les aires primaires motrice (M1), sensorielle (S1), associative (A1) et visuelle (V1) sont illustrées.

(Adaptée de Greig et al., 2013)

I.4.a. Développement des neurones pyramidaux des couches profondes du cortex

Un contrôle postmitotique est nécessaire pour déterminer à quel sous-type neuronal appartiendront les progéniteurs. Les neurones pyramidaux corticofuges comprennent les neurones PT, les neurones CT et les neurones de la sous-plaque. Du point de vue des cibles qu'ils contactent, ils sont opposés aux neurones IT qui sont corticopètes. En l'absence de contrôles postmitotiques cruciaux, chacune de ces deux populations peut se développer au détriment de l'autre (Greig et al., 2013). L'acquisition du phénotype d'appartenance à un sous-type de neurone particulier fait également l'objet d'un raffinement progressif. Tous les progéniteurs traversent une période particulière durant laquelle un état plastique leur permet de co-exprimer simultanément les marqueurs d'appartenance de deux couches adjacentes (Deck et al., 2013; Sohur et al., 2014), le déterminisme d'identité finale se faisant pendant la période postmitotique. Pendant cet intervalle de temps, l'expression et la cohabitation corticale de facteurs de transcription, tels que SATB2, FEZF2, CTIP2, TBR1, SOX5 (*SRY-related HMG-box 5*) et COUPTF1, sont cruciales pour l'organisation et l'intégration correcte des neurones pyramidaux dans les différentes couches corticales.

Fezf2 promeut le devenir en neurones PT. Il est exprimé par une sous-population de la VZ pendant que les couches profondes du cortex se développent. Il est également exprimé par les autres neurones pyramidaux corticofuges postmitotiques, cependant il n'est pas connu si son action se limite à une fenêtre temporelle définie (par exemple : action postmitotique ou au stade des progéniteurs). Un haut niveau d'expression de *Fezf2* est retrouvé chez les neurones PT, alors que les neurones CT et ceux de la sous-plaque l'expriment à de plus faibles niveaux (Arlotta et al., 2005; Chen et al., 2005; Molyneaux et al., 2005). Chez la souris *Fezf2*^{-/-}, l'expression de TBR1, un facteur de transcription crucial pour le développement des neurones CT (Bedogni et al., 2010; McKenna et al., 2011), est retrouvée dans la future couche V et la plupart des neurones de cette couche projettent vers le thalamus (Molyneaux et al., 2005; McKenna et al., 2011). Ceci indique que les neurones ont changé de phénotype, passant de PT à CT, et ces résultats suggèrent que *Fezf2* caractérise l'identité PT en partie en réprimant l'identité CT. FEZF2 apparaît également comme un régulateur à plus grande échelle pour les neurones pyramidaux corticofuges, puisque sa délétion entraîne une désorganisation des neurones CT et des neurones de la sous-plaque,

de plus, l'expression de certains gènes spécifiques des neurones CT n'est plus permise en son absence (Chen et al., 2005; Molyneaux et al., 2005). Ainsi, FEZF2 ne serait pas simplement responsable de l'identité PT mais participe de façon plus globale à l'identité des neurones pyramidaux corticofuges.

CTIP2 agit en aval de FEZF2 et permet le bon développement des projections des neurones PT. En l'absence de *Ctip2*, les neurones PT sont bien présents et à la bonne place mais présentent des défauts de croissance axonale et leurs prolongements n'atteignent plus leurs cibles (Arlotta et al., 2005). Il constitue également une cible cruciale pour la régulation transcriptionnelle pendant le développement des neurones de projection, puisque plusieurs contrôles transcriptionnels du développement des neurones CT, des neurones IT et de ceux de la sous-plaque s'opèrent en réprimant l'expression de *Ctip2* (Alcamo et al., 2008; Britanova et al., 2008; Lai et al., 2008; Tomassy et al., 2010).

TBR1 quant à lui est spécifique des neurones CT. Son expression est postmitotique et très forte dans les neurones CT et dans ceux de la sous-plaque, alors qu'elle est faible dans les neurones IT (Bedogni et al., 2010; McKenna et al., 2011). En cas d'absence de *Tbr1*, les neurones immatures censés se développer en neurones CT, expriment des niveaux aberrants de FEZF2 et CTIP2, et leurs projections se dirigent vers des cibles sub-cérébrales au lieu d'atteindre le thalamus (Han et al., 2011). TBR1 fonctionne en partie en réprimant l'identité PT puisqu'il se lie à une région régulatrice de *Fezf2* pour réduire son expression dans la couche VI.

SOX5 contrôle l'apparition ordonnée des neurones de la sous-plaque, des neurones CT et des neurones PT qui peuplent les couches profondes. Il réprime les hauts niveaux d'expression de *Fezf2* et *Ctip2* par les neurones PT jusqu'à ce que la formation de la sous-plaque et des neurones CT soit achevée. SOX5 réprime *Fezf2* en se liant sur une région promotrice, requise pour son expression rostrale dans le cortex (Kwan et al., 2008; Lai et al., 2008; Shim et al., 2012). Chez la souris *Sox5*^{-/-}, on assiste à une désorganisation générale des couches profondes. Les neurones de la sous-plaque expriment des facteurs de transcription de façon aberrante et présentent des défauts de positionnement ainsi que de leurs projections. La différenciation entre neurones PT et neurones CT ne se fait plus correctement et de manière générale les projections des neurones pyramidaux corticofuges n'atteignent plus les bonnes cibles (Kwan et al., 2008; Shim et al., 2012).

COUPTF1 permet de réprimer le phénotype PT chez les derniers neurones CT générés dans la partie supérieure de la couche VI. Son absence entraîne l'adoption d'un phénotype moteur par les neurones CT des aires sensorielles ; de plus, ces derniers et les neurones PT développent des prolongements aberrants (Tomassy et al., 2010).

SATB2 est crucial pour l'acquisition de l'identité IT et il réprime l'acquisition de l'identité corticofuge. Il est fortement exprimé par les neurones IT de toutes les couches corticales (Alcamo et al., 2008; Britanova et al., 2008). Une absence de son expression ou son remplacement entraîne des défauts de projection et d'expression de gènes. Les axones ne passent plus par le corps calleux et projettent sur le bulbe et la moelle épinière (Alcamo et al., 2008; Srinivasan et al., 2012). De plus, l'expression des gènes caractéristiques des neurones IT est perdue et les neurones des couches superficielles expriment des marqueurs spécifiques des neurones PT comme CTIP2. Cependant, la conversion en neurones PT dans ce modèle est partielle, car *Satb2* réprime directement l'activité de *Ctip2* sans interagir avec *Fezf2* (Alcamo et al., 2008; Britanova et al., 2008). Dans la couche V, les neurones PT et IT partagent le même cadre développemental puisqu'ils vont cohabiter dans la couche V et leurs progéniteurs sont générés pendant la même fenêtre temporelle. A ce niveau, FEZF2 semble jouer un rôle majeur dans l'orientation correcte des projections des neurones PT en leur évitant de traverser la ligne inter-hémisphérique, à la différence des neurones IT. *In vivo*, sa surexpression est suffisante pour rediriger les axones des neurones IT vers des cibles sous-corticales (Rouaux and Arlotta, 2013). En cas d'absence de *Fezf2*, une partie des neurones PT de la couche V sont convertis en neurones qui expriment les gènes caractéristiques et présentent les propriétés électrophysiologiques des neurones IT. En effet, on retrouve notamment chez ces neurones une expression marquée de SATB2 (Chen et al., 2008; Molyneaux et al., 2009; Lodato et al., 2011).

Cependant il ne faut pas perdre de vue qu'en aval du contrôle précis exercé par ces « *master genes* » que je viens de décrire, il existerait des programmes capables de finaliser la différenciation définitive des populations neuronales en développement (Srinivasan et al., 2012).

II. LE STRIATUM

II.1. Le striatum et les ganglions de la base

Le striatum (noyau caudé et putamen chez les primates et l'Homme) est la principale structure d'entrée des ganglions de la base (GB), qui représentent un réseau de noyaux sous-corticaux interconnectés. Ce réseau, comprenant également le globus pallidus (GP), le noyau subthalamique (NST) et la substance noire (SN), est impliqué dans un ensemble de boucles cortico-sous-cortico-thalamo-corticales qui assure la régulation de fonctions motrices, associatives et limbiques (Alexander et al., 1986). Le striatum reçoit des projections de différentes aires corticales qui définissent la fonction du réseau. On distingue ainsi schématiquement le striatum dorsal, qui reçoit des projections des aires corticales motrices, et le striatum ventral, aussi appelé noyau accumbens (NAc), qui reçoit des projections des aires préfrontales. La partie dorsale du striatum est donc impliquée préférentiellement dans le contrôle et l'apprentissage moteur (circuit moteur) alors que le NAc intervient dans la régulation des processus motivationnels (circuit limbique).

Le striatum est constitué essentiellement (environ au 95%) de neurones de projection GABAergiques dits *medium spiny neurons* (MSNs; voir paragraphe suivant) qui contrôlent les structures de sortie des GB : la SN réticulée (SNr, principale structure de sortie chez le rongeur) et le GP interne (GPi, ou noyau entopedunculaire (EP) chez le rongeur). Cette liaison se fait au travers de deux voies dites "directe" et "indirecte". La voie directe, inhibitrice et monosynaptique, met en jeu les MSNs qui expriment la substance P (SP), la dynorphine, les récepteurs dopaminergiques D1 et les récepteurs muscariniques de type 1 (M1) (Gerfen, 1992; Ince et al., 1997) ; la voie indirecte est polysynaptique et constituée des MSNs qui expriment les enképhalines (Enk), les récepteurs dopaminergiques D2, les récepteurs à l'adénosine A2A et les récepteurs muscariniques M4 en plus des M1 (Schiffmann et al., 1991; Gerfen, 1992). Les MSNs de la voie indirecte contrôlent l'activité de la SNr via deux noyaux relais : ils contactent d'abord le GP externe (GPe ou GP chez le rongeur) dans la boucle motrice et le pallidum ventral dans la boucle limbique, qui envoient à leur tour des projections inhibitrices vers le NST, seule structure glutamatergique des GB, lequel exerce une action excitatrice sur la SNr. La voie indirecte a donc un effet *in fine*

excitateur sur la SNr, contrairement à la voie directe qui est inhibitrice (Albin et al., 1989) (Figure 7).

Dans la boucle motrice, la SNr exerce un contrôle tonique inhibiteur sur le cortex moteur via le thalamus latéral. L'activation de la voie striatale directe va réduire ce contrôle inhibiteur et permettre ainsi la réalisation d'un mouvement. A l'inverse, l'activation de la voie indirecte va renforcer l'inhibition du thalamus et empêcher le mouvement. Des données récentes montrent assez clairement que, lors d'un mouvement, les deux voies s'activent de façon simultanée, sans doute afin de stimuler et inhiber, respectivement, le programme moteur approprié et les programmes concurrents (Cui et al., 2013). Enfin, il faudrait considérer les voies directe et indirecte non pas comme deux compartiments séparés, mais plutôt comme un réseau de neurones interconnectés qui interagissent entre eux et avec d'autres structures cérébrales afin de produire un message efférent cohérent pour la bonne réalisation du mouvement ; d'autant plus que la ségrégation des projections "directes" et "indirectes" ainsi que des marqueurs de population neuronale (récepteurs D1, D2 etc.) n'est pas absolue (Calabresi et al., 2014).

Les neurones dopaminergiques de la substance noire compacte (SNc) projettent massivement sur le striatum dorsal et exercent une influence opposée sur ces deux voies au travers de l'expression différentielle des récepteurs dopaminergiques par les deux types de MSNs : excitatrice sur les MSNs de la voie directe (MSNs D1) au travers des récepteurs D1, et inhibitrice sur ceux de la voie indirecte (MSNs D2) au travers des D2 (Figure 7). La dopamine est donc essentielle pour maintenir l'équilibre entre l'activité des deux voies trans-striatales et assurer ainsi l'exécution correcte du mouvement. De plus, elle exerce une action présynaptique inhibitrice au travers des récepteurs de type D2.

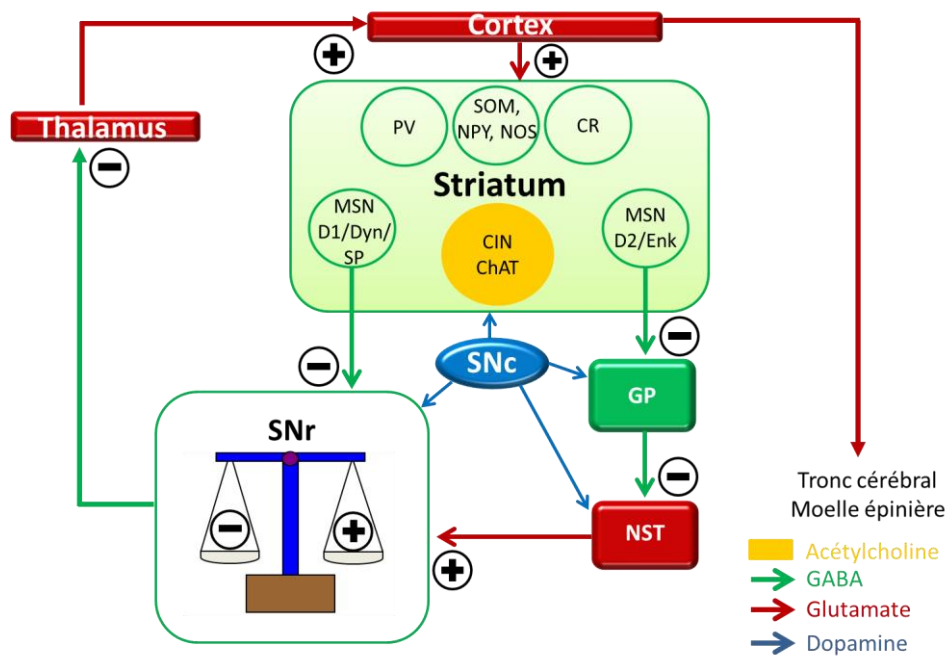


Figure 7 : Organisation générale des GB et place du striatum au sein de ce réseau.

Abréviations : ChAT, choline acétyl transférase ; CIN, interneurone cholinergique ; CR, interneurone à calrétinine ; D1, récepteur à la dopamine de type 1 ; D2, récepteur à la dopamine de type 2 ; Dyn, dynorphine ; SP, substance P ; Enk, enképhaline ; GP, globus palidus ; MSN, neurone épineux moyen ; NST, noyau subthalamique ; PV, interneurone à parvalbumine ; SNc, substance noire compacte ; SNr, substance noire réticulée ; SOM, NPY, NOS, interneurone à somatostatine, neuropeptide Y et oxyde nitrique synthase.

II.2. Les différents types neuronaux du striatum

Comme mentionné ci-dessus, le striatum est constitué à 95% de neurones GABAergiques épineux de projection, les MSNs. Il comprend également des populations d'interneurones GABAergiques et cholinergiques (*cholinergic interneurons*, CINs) (Gittis and Kreitzer, 2012; Tremblay et al., 2016). Les interneurons reçoivent des connexions majoritairement en provenance du cortex et du thalamus, et contactent préférentiellement les MSNs. Bien qu'en faible nombre, ils possèdent des propriétés morphologiques et fonctionnelles qui en font des acteurs cruciaux capables de moduler l'afférence et l'efférence striatale au travers des micro-circuits qu'ils décrivent (Tepper and Bolam, 2004). On peut identifier 3 types d'interneurones GABAergiques et au moins deux patrons de décharge différents sous lesquels les regrouper (Kawaguchi et al., 1995; Tepper and Bolam, 2004; Kreitzer, 2009). Les interneurons qui expriment la PV répondent à une injection de courant par une décharge rapide et prolongée ; de ce fait ils sont connus comme les « *fast-spiking interneurons* » (FS). Les interneurons qui expriment la SOM possèdent une plus faible fréquence de décharge et un « potentiel plateau », et ils sont connus pour avoir un seuil de déclenchement du PA très

bas ; ainsi ils sont nommés « *low-threshold spiking* » (LTS). Le troisième type exprime la calretinine et il n'est pas bien décrit, mais ces interneurons possèderaient les mêmes caractéristiques de décharge que les LTS (Tepper and Bolam, 2004) (Figure 8). Enfin, les CINs sont aisément identifiables, caractérisés par l'expression d'un courant activé par l'hyperpolarisation et d'une activité de décharge tonique spontanée en conditions physiologiques (Wilson et al., 1990).

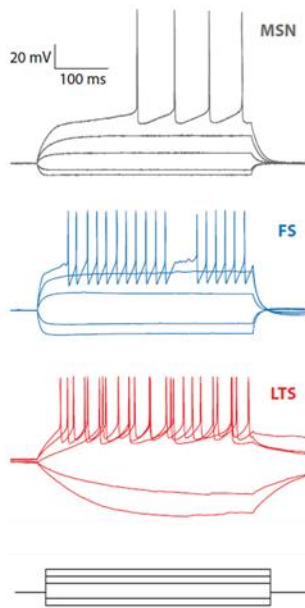


Figure 8 : Réponses électrophysiologiques de différents types neuronaux du striatum à des courants hyper- et dépolarisants, enregistrées en configuration cellule entière.

Les MSNs ont une faible résistance d'entrée, ils présentent une rectification entrante et un décalage de l'initiation de la décharge. Les interneurons PV (ou FS) ont une faible résistance d'entrée et un patron de décharge rapide caractéristique. Les interneurons SOM/NPY/NOS (ou LTS) ont une résistance d'entrée élevée et sont caractérisés par l'expression d'un potentiel plateau qui persiste après l'injection de courant (les interneurons CR ont un profil similaire).

(D'après Kreitzer, 2009)

→ Les neurones épineux moyens (MSNs)

Au niveau local, les deux classes de MSNs reçoivent des afférences des interneurons ainsi que des collatérales des autres MSNs (Tepper and Bolam, 2004). Les MSNs reçoivent la majorité des afférences externes au striatum (Somogyi et al., 1981). Par contre, ce sont les MSNs striatopallidaux qui reçoivent la plus grande partie des afférences corticales sensorimotrices (Parthasarathy and Graybiel, 1997) (Berretta et al., 1997). Au-delà de cette connectivité, les deux types de MSNs partagent la quasi-totalité de leurs propriétés morphologiques et électrophysiologiques. Ce sont des cellules de taille moyenne avec un soma de 10 à 20 μm et une arborisation dendritique densément recouverte d'épines qui s'étend sur environ 200 μm (Izzo et al., 1987), d'où ils tirent leur appellation. Ils sont caractérisés par une faible résistance d'entrée (autour de 80 $\text{M}\Omega$) et un potentiel de repos hyperpolarisé (autour de -80 mV) (Kita et al., 1984), et leur patron de décharge est façonné par plusieurs types de conductances potassiques (Nisenbaum and Wilson, 1995) (Figure 8).

L'ensemble de ces propriétés est favorisé par l'expression de canaux potassiques Kir à l'origine d'un courant rectifiant entrant. La dépolarisation de la membrane entraîne une inactivation des canaux Kir et une activation des courants potassiques de type A à désactivation rapide (Kv4.2) et lente (Kv1.2) ainsi que la mise en jeu de conductances potassiques persistantes (Kv7). L'ensemble de ces mouvements potassiques ("synergie du potassium") sous-tend une dépolarisation lente et un décalage (retard) de l'émission du premier PA (Surmeier et al., 1989; Nisenbaum et al., 1996). La dépolarisation et l'émission de PAs entraînent aussi une entrée de calcium qui activera des canaux potassiques calcium-dépendants à basse (SK) et haute conductance (BK), limitant la fréquence de décharge des MSNs (Bargas et al., 1999). Cependant, les propriétés des canaux Kir sont différentes dans les MSNs striatopallidaux, avec une désactivation plus rapide (Mermelstein et al., 1998) et une inhibition plus efficace suite à l'activation des récepteurs M1 (Shen et al., 2007). Ces données sont corroborées par le fait que ces MSNs présentent une plus forte excitabilité en tranche (Kreitzer and Malenka, 2007).

In vivo, les MSNs présentent un patron de décharge irrégulier qui s'accompagne d'un changement de potentiel de membrane passant de -90/-70 mV à -60/-40 mV. Ces différents états ont été respectivement nommés « *Down state* » et « *Up state* ». La décharge n'est observée qu'en l'état *Up* mais tous les états *Up* ne sont pas forcément associés à l'émission de PAs (Wilson and Groves, 1981). Ce sont les propriétés de membranes ainsi que le type et la cohérence de l'activité provenant du cortex et du thalamus qui régissent la nature de l'état adopté par les MSNs (Wilson and Kawaguchi, 1996). Au repos, le maintien du *Down state* est dû à une forte expression des canaux Kir qui limite la dépolarisation de la membrane. Le passage en *Up state* est favorisé par l'activation conjuguée de plusieurs afférences glutamatergiques pour dépolariser suffisamment le MSN et bloquer les Kir (Blackwell et al., 2003). L'intensité du passage en *Up state* est déterminée par des conductances potassiques voltage-dépendantes faisant suite à une dépolarisation et qui en limitent la durée (Wilson and Kawaguchi, 1996). Enfin le passage en *Up state* s'accompagne d'un changement des propriétés de conductances des MSNs. Cependant, des études plus récentes suggèrent que ce type d'activité ne soit pas la seule possible : d'autres patterns apparaissent en fonction de l'activation des différents inputs corticaux, ainsi que du type d'anesthésie utilisé au cours des enregistrements *in vivo* (Mahon et al., 2003). Enfin, alors

que la signalisation glutamatergique passe par les récepteurs AMPA en état *Down*, lors de l'état *Up* elle s'effectue aussi via les récepteurs NMDA (Carter and Sabatini, 2004).

→ **Les interneurones PV (ou FS)**

Ces interneurones ont un diamètre du soma de 16 à 18 μm et possèdent une arborisation dendritique compacte et sphérique qui s'étend sur 200 à 300 μm (Kita et al., 1990; Kawaguchi, 1993). Ce sont les cellules du striatum les plus réactives pour la GAD67 (Kita et al., 1990; Lenz et al., 1994). Bien que peu nombreux (environ 1% de la population totale), ces interneurones semblent cruciaux dans la régulation du message efférent du striatum. Ils sont prépondérants dans la partie dorsolatérale du striatum (Bennett and Bolam, 1994) suggérant leur implication dans l'intégration sensorimotrice. Ils reçoivent peu d'afférences, mais avec des origines variées, qui forment souvent des contacts multisynaptiques (Ramanathan et al., 2002). Les interneurones PV contactent principalement les MSNs avec lesquels ils forment des synapses proximales qui inhibent l'émission des PA. Un MSN donné reçoit des synapses inhibitrices de 4 à 27 interneurones PV différents, alors que un même interneurone PV peut contacter jusqu'à 500 MSNs. De façon intéressante, un seul de ces interneurones peut retarder la décharge de plusieurs MSNs (Koós and Tepper, 1999). Certains critères morphologiques permettent d'identifier différents sous-types d'interneurones PV, mais nous ne les détaillerons pas. Les interneurones PV partagent les mêmes propriétés électrophysiologiques que leurs homologues corticaux, à savoir une courte durée du PA, une fréquence de décharge élevée et l'établissement de jonctions communicantes (*gap junction*) avec les autres interneurones PV (Kawaguchi, 1993). Ils sont hyperpolarisés au repos (autour de -80 mV) et présentent une faible résistance d'entrée (50-150 $\text{M}\Omega$). Ils sont caractérisés par une décharge soutenue pouvant atteindre plus de 400 Hz et une petite adaptation en réponse à un courant dépolarisant (Tepper et al., 2010) (Figure 8).

→ **Les interneurones SOM (ou LTS)**

Plusieurs études ont montré que ces interneurones GABAergiques (Kubota and Kawaguchi, 2000) co-expriment la SOM, le neuropeptide Y et la NADPH diaphorase (considérée comme une oxyde nitrique synthase) (Vincent et al., 1983; Vincent and Johansson, 1983; Hope et al., 1991). Les interneurones SOM sont décrits comme possédant un soma rond, allongé ou

polygonal, d'un diamètre de 9 à 25 μm . Leurs arborisations dendritiques sont simples, formant peu de branches et couvrant une zone d'environ 600 μm de diamètre autour du corps cellulaire (DiFiglia and Aronin, 1982; Kawaguchi, 1993). Par contre leurs axones sont remarquables car ce sont les moins ramifiés mais les plus longs parmi les neurones striataux (Kubota and Kawaguchi, 2000). Les caractéristiques électrophysiologiques majeures qui les distinguent des autres populations striatales sont : l'émission de PAs calciques de bas seuil (due aux canaux calciques voltage-dépendants de bas seuil de type T), une résistance d'entrée très élevée ($>600\text{ M}\Omega$), un potentiel de repos dépolarisé (-55 mV) et l'expression de potentiels de plateau de longue durée (observables après une simple dépolarisation au repos, sous forme de rebond en réponse à l'injection d'un fort courant hyperpolarisant, ou bien après à un potentiel synaptique excitateur de forte intensité). Leurs PAs sont de longue durée (1 ms pour atteindre la moitié de leurs amplitude) (Kawaguchi, 1993) (Figure 8). Les interneurones LTS reçoivent des afférences glutamatergiques en provenance du cortex et dopaminergiques en provenance de la SNc (Kubota et al., 1988; Vuillet et al., 1989) mais ne semblent pas être une cible des projections thalamiques (Kachidian et al., 1996). Ils sont également ciblés par les neurones du GP (Bevan et al., 1998) et par les CINs (Vuillet et al., 1992).

→ **Les interneurones à calrétinine**

Très peu d'informations sont disponibles sur ce sous-type d'interneurones striataux. Ce sont des neurones non épineux de taille moyenne (12-20 μm de diamètre) présentant une arborisation dendritique peu dense et fine, qui représentent environ 1% de la population striatale (Bennett and Bolam, 1993; Rymar et al., 2004). Du point de vue électrophysiologique, ils seraient assimilables aux interneurones SOM (Figure 8), bien que peu d'études aient été réalisées (Tepper and Bolam, 2004; Tepper et al., 2010).

→ **Les interneurones cholinergiques (CINs)**

Le striatum contient également des interneurones cholinergiques (CINs), qui seront traités de façon plus exhaustive dans cette introduction (partie IV).

III. TRANSMISSION ET PLASTICITÉ SYNAPTIQUE

III.1. Les récepteurs

Dans le système nerveux central des mammifères adultes, la plupart des synapses sont de type chimique, alors que les synapses électriques sont minoritaires et reléguées à d'autres tissus ou à des stades embryonnaires. Dans ce paragraphe nous allons donc traiter les récepteurs des principaux neurotransmetteurs dont le rôle a été identifié et caractérisé au niveau du cortex et du striatum, les deux régions du cerveau qui font l'objet de cette thèse.

Les récepteurs peuvent être divisés en deux grands groupes : les récepteurs ionotropiques et les récepteurs métabotropiques :

→ Récepteurs ionotropiques

Ce sont des protéines canaux permettant une transmission rapide du signal nerveux. Après liaison du neurotransmetteur, la protéine change de conformation, passant d'un état fermé à un état ouvert. Ils peuvent être perméables à des cations (sodium, potassium, calcium) ou à des anions (chlore).

→ Récepteurs métabotropiques

Ce sont des récepteurs couplés à des protéines G : une fois le récepteur activé, son action dépend donc du type de protéine G à laquelle il est associé. Ils se nomment ainsi GPCRs (*G protein-coupled receptors*), et ils sont formés de sept domaines protéiques transmembranaires ancrés dans la membrane. Ils possèdent un large domaine N-terminal extracellulaire, leurs sept segments transmembranaires sont reliés entre eux par des courtes boucles extra- et intracellulaires, et le domaine C-terminal est de taille variable.

III.1.a. Les récepteurs du glutamate

→ Récepteurs ionotropiques du glutamate (iGlu)

Chacun de ces récepteurs représente une combinaison hétérotétramérique de sous-unités. La zone perméable aux ions est formée par une boucle en épingle à cheveux située au niveau de la membrane. Il y a trois types de récepteurs ionotropiques au glutamate,

nommés par rapport à leurs agonistes sélectifs synthétiques : les AMPA (amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-ioxazole-propionate), les NMDA (N-méthyl-D-aspartate) et les kaïnate (KAR).

Récepteur AMPA : Il existe quatre sous-unités différentes des récepteurs AMPA codées par quatre gènes : GluR1, 2, 3 et 4. La sous-unité GluR2 est en général retrouvée au moins une fois dans chaque tétramère, conférant l'imperméabilité au calcium (Bowie, 2012). Elle est combinée avec GluR1 et/ou GluR3, la sous-unité GluR4 étant essentiellement exprimée pendant le développement.

Récepteur NMDA : On peut trouver six sous-unités différentes pour les récepteurs NMDA : NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D, NR3. Dans chaque tétramère on retrouve de façon obligatoire la sous-unité NR1, qui comporte le site de fixation d'un co-agoniste (glycine ou D-sérine) nécessaire à l'activation du récepteur, combinée à trois autres sous-unités (un récepteur NMDA constitué uniquement de sous-unités NR2 et NR3 n'est pas fonctionnel). Il est à noter qu'au cours du développement les sous-unités NR2B sont en grande partie remplacées par NR2A, alors que chez l'adulte les NR2B sont généralement trouvées dans des récepteurs NMDA extrasynaptiques (Watanabe et al., 1993).

Récepteur kaïnate : Il existe 5 sous-unités pour ces récepteurs : GluR5, GluR6, GluR7, KA1 et KA2. Les sous-unités KA1 et 2 possèdent une faible affinité pour le kaïnate alors que les sous-unités GluR5 à 7 présentent une forte affinité (Lerma, 2006).

→ Récepteurs métabotropiques du glutamate (mGlu)

Ces récepteurs possèdent une structure particulière, car le site de fixation du glutamate s'organise en deux domaines globulaires pivotants, situés au niveau du domaine N-terminal, qui se referment lorsque le glutamate s'y lie. Ce domaine est aussi appelé *venus flytrap domain* pour sa ressemblance avec la plante carnivore *Dionaea muscipula* (dionée attrape-mouche, en anglais *Venus flytrap*). Il existe huit sous-types de récepteurs mGlu classés en trois groupes en fonction de leur homologie de séquence, de leur pharmacologie, de leur voie de transduction et de leur localisation cellulaire (Nicoletti et al., 2011).

Groupe I : Il comprend mGlu1 et mGlu5. Ils sont couplés positivement à la phospholipase C (PLC) via des protéines G de type Gq. La PLC induit la formation d'inositol triphosphate (IP3) qui permet la libération de calcium des stocks intracellulaires. Elle induit aussi la formation de diacylglycerol (DAG), un activateur de la protéine kinase C (PKC). Les

mGlu du groupe I sont principalement postsynaptiques et modulent l'activité des canaux ioniques et des iGlu.

Groupe II et III : Le Groupe II inclut mGlu2 et mGlu3, alors que mGlu4, mGlu6, mGlu7 et mGlu8 font partie du Groupe III (mGlu6 est exprimé exclusivement dans la rétine). Les Groupes II et III sont couplés négativement à l'adénylate cyclase (AC) via une protéine G de type Gi/Go. L'activation de ces récepteurs induit une diminution de production d'AMPc (Adénosine monophosphate cyclique) et donc une baisse d'activité de la protéine kinase A (PKA). Les récepteurs mGlu des Groupes II et III sont essentiellement présynaptiques et modulent négativement la libération de neurotransmetteur en agissant comme des auto- et des hétéro-récepteurs.

III.1.b. Les récepteurs de l'acétylcholine

→ Récepteurs nicotiques (nACh) ionotropiques

Ils sont nommés ainsi car ils partagent un agoniste commun, la nicotine. Les récepteurs nACh participent à une grande variété de fonctions physiologiques incluant la régulation de l'excitabilité neuronale et la libération de neurotransmetteur. Ils peuvent être localisés au niveau pré- ou postsynaptique et de manière extrasynaptique, où ils prennent part à la communication de type volumique (Albuquerque et al., 2009). La description de la composition de base du récepteur découle de travaux réalisés sur le muscle, où le nACh est une structure pentamérique comprenant deux sous-unités alpha (α) et trois autres sous-unités distinctes : beta (β), delta (δ) et gamma (γ). La présence d'une paire de cystéine au début du premier domaine transmembranaire est requise pour la liaison avec l'agoniste (Karlin et al., 1986) et détermine le type de la sous-unité alpha (Lukas et al., 1999). Dans le système nerveux, les récepteurs nACh sont des pentamères constitués par des combinaisons variées des différentes sous-unités alpha et beta (Dineley et al., 2015). Dans le cerveau des mammifères on retrouve huit types de sous-unités alpha (alpha2–7, 9 et 10) et trois types de sous-unités beta (beta2–4). Les différentes combinaisons d'assemblage changent les propriétés des récepteurs nACh, notamment du point de vue de la perméabilité aux cations, de l'affinité pour les agonistes et de la désensibilisation (Dani and Bertrand, 2007). Dans le striatum, les pentamères les plus présents sont ceux contenant les sous-unités alpha4-beta2 et alpha6-beta2 (Clarke et al., 1985).

→ Récepteurs muscariniques (mACh) métabotropiques

Ils sont nommés ainsi puisqu'ils lient tous un agoniste commun : la muscarine. Cinq gènes distincts codent pour 5 sous-types de récepteurs différents, notés M1 à M5, couplés aux protéines G. Ils peuvent apparaître sous la forme d'un ensemble homomérique ou hétérodimérique. La forme dimérique a une grande influence sur la pharmacologie du ligand et la voie de signalisation cellulaire activée (Devi, 2001). Ils sont divisés en deux groupes selon l'impact qu'ils ont sur l'activité des neurones. Le groupe M1-like comprend les récepteurs M1, M3 et M5 qui mobilisent l'IP3 et le DAG via l'activation spécifique de la PLC, ce qui aura pour effet d'augmenter la concentration de calcium intracellulaire (Caulfield and Birdsall, 1998). Ils activent également d'autres messagers intracellulaires comme l'oxyde nitrique et la phospholipase A2, qui ont les mêmes effets intracellulaires mais moins marqués (Lanzafame et al., 2003). Les M1-like sont opposés au groupe M2-like, qui comprend les récepteurs M2 et M4 couplés à la protéine Gi/a : ils inhibent l'activité de l'AC (Caulfield and Birdsall, 1998) et prolongent l'ouverture de canaux potassiques (Lanzafame et al., 2003; Kruse et al., 2014). Dans certains cas, les sous-unités beta et gamma de la protéine G jouent un rôle crucial dans la signalisation cellulaire, par exemple en activant la PLC lorsque c'est le récepteur M2 qui est mis en jeu. L'interface entre le récepteur et la protéine G peut parfois être un site d'action pour des substances exogènes comme les anesthésiques, qui peuvent déstabiliser de manière sélective l'interaction entre le récepteur M1 et la protéine G (Murasaki et al., 2003). Enfin, les récepteurs mACh peuvent également présenter une activité constitutive et avoir un impact direct sur la signalisation intracellulaire (Caulfield and Birdsall, 1998).

III.1.c. Les récepteurs de la dopamine

Jusqu'à aujourd'hui, il n'a été identifié que des récepteurs métabotropiques pour la dopamine. Il existe 5 sous-types différents, séparés en deux groupes : les D1-like (D1 et D5) et les D2-like (D2, D3 et D4) (Vallone et al., 2000). Cette séparation est basée sur la présence d'introns dans leurs séquences codantes (Gingrich and Caron, 1993) mais surtout sur leur capacité à moduler la production d'AMPc : en effet, les D1-like sont couplés positivement à l'AC via la protéine Gs, alors que les D2-like sont couplés à la protéine Gi qui entraîne l'inhibition de l'AC. Les D1-like sont exclusivement présents sur le compartiment

postsynaptique, comme au niveau des MSNs par exemple, alors que les D2-like, ils sont à la fois présents sur les compartiments pré- et postsynaptiques (Rankin and Sibley, 2010; Rondou et al., 2010). Ces récepteurs présentent également une activité constitutive, indépendante de la mise en jeu des protéines G (Luttrell and Lefkowitz, 2002).

Certaines études rapportent qu'au-delà de leurs signaux de régulation de l'AMPC, les récepteurs dopaminergiques peuvent également être couplés à la protéine Gq et ainsi réguler la PLC ainsi que la production d'IP3 et de DAG. Ce dernier active la PKC, pendant que l'IP3 favorise l'augmentation des réserves intracellulaire de calcium (Friedman et al., 1997; Lee et al., 2004; Sahu et al., 2009). Les niveaux de calcium intracellulaire peuvent également être modulés suite à la mise en jeu des récepteurs D2-like, qui agissent soit directement sur les canaux ioniques soit sur les stocks intracellulaires (Nishi et al., 1997; Missale et al., 1998).

Lorsqu'ils sont localisés au niveau présynaptique, ils jouent le rôle d'autorécepteurs et d'hétérorécepteurs fournissant un mécanisme de rétrocontrôle négatif qui permet d'ajuster le taux de décharge neuronale ainsi que la synthèse et la libération de neurotransmetteur, en réponse aux variations extracellulaires des niveaux de dopamine (Wolf and Roth, 1990; Sibley, 1999).

Dans le striatum, ce sont surtout les récepteurs D1 et D2 qui sont fortement exprimés (Gerfen, 2000). En particulier, cette structure est enrichie, au niveau des MSNs, de la protéine DARPP-32 (*dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein, 32 kDa*). La DARPP-32 est une cible pour la PKA et la protéine kinase GMPc dépendante (PKG) : une fois phosphorylée, elle devient un puissant inhibiteur de la protéine phosphatase 1 (PP1), qui est un régulateur de l'état de phosphorylation/activation de plusieurs cibles dont, notamment, les récepteurs AMPA et NMDA (Greengard et al., 1999).

III.1.d. Les récepteurs de l'acide γ -aminobutyrique

→ Les récepteurs ionotropiques du GABA

L'acide γ -aminobutyrique (GABA) est le neurotransmetteur prépondérant des GB. Il va créer, au travers du récepteur ionotropique au GABA ($GABA_A$), une inhibition synaptique rapide et extrasynaptique tonique, et cela dans chaque et entre les différents noyaux du réseau (Tepper and Bolam, 2004).

Chez les mammifères, le récepteur GABA_A est formé par un assemblage hétéropentamérique de sous-unités, appartenant à une famille de 19 sous-unités codées par des gènes distincts ($\alpha 1\alpha 6$, $\beta 1- \beta 3$, $\gamma 1- \gamma 3$, δ , ϵ , θ , π et $\rho 1-\rho 3$) (Korpi et al., 2002; Whiting, 2006). Une analyse de la totalité du tissu cérébral révèle que la combinaison la plus abondante du cerveau est celle qui comprend deux sous-unités $\alpha 1$ (dans 61% du tissu analysé) (Benke et al., 2004). D'autres analyses révèlent que la combinaison de sous-unités prépondérante au sein du striatum contiendrait le plus souvent $\alpha 4$, β et δ (Bencsits et al., 1999). Les différentes combinaisons de sous-unités sous-tendent la diversité fonctionnelle des divers pentamères.

Les récepteurs GABA_A appartiennent à la grande famille des récepteurs ionotropiques à « boucle cys-cys » (comme le récepteur nicotinique) (Unwin, 2005). C'est la liaison de deux molécules de GABA sur le domaine extracellulaire du récepteur qui va induire un changement conformationnel de l'oligomère et permettre l'entrée du chlore, à l'origine d'une hyperpolarisation dans la plupart des neurones matures (Baumann et al., 2003). La liaison du GABA se fait précisément à l'interface entre la sous-unité α et la sous-unité β , et cette dernière est cruciale pour la sélectivité ionique du pore (Jensen et al., 2002).

Du fait de sa diffusion depuis la fente synaptique, une faible concentration de GABA est toujours présente à l'extérieur de la synapse, et participe à une activation tonique des récepteurs extrasynaptiques (Brickley et al., 2001; Maguire et al., 2005). Cette inhibition tonique est découplée des événements synaptiques, ce qui entraîne un tonus inhibiteur continu au niveau des neurones, impactant leur résistance d'entrée et donc l'efficacité et l'intégration synaptique. *In fine*, ce phénomène va surtout influencer la taille des réponses excitatrices au niveau des dendrites (Farrant and Nusser, 2005). La sous-unité δ participe au caractère extrasynaptique du récepteur et donc à la conductance inhibitrice tonique (Stell et al., 2003; Cope et al., 2005). En effet, dans le striatum les récepteurs de type $\alpha 4\beta\delta$ sont souvent extrasynaptiques, présentent une haute affinité pour le GABA et une faible désensibilisation, ce qui contribue à une réponse tonique au GABA.

→ Les récepteurs métabotropiques du GABA

De nombreuses études ont montrés que le récepteurs GABA_B était majoritairement couplé aux protéines G de type G_i α et G_o α (Campbell et al., 1993; Menon-Johansson et al., 1993;

Greif et al., 2000). Il est maintenant bien connu que les récepteurs GABA_B présynaptiques diminuent l'influx de calcium en inhibant les canaux calciques sur une partie restreinte de la membrane au travers de l'action des sous-unités de la protéine G ($\beta\gamma$). Les récepteurs postsynaptiques quant à eux, déclenchent l'ouverture de canaux potassiques, également via l'intervention de sous-unités G $\beta\gamma$, entraînant une hyperpolarisation qui sous-tend la phase tardive des courants postsynaptiques inhibiteurs (Lüscher et al., 1997; Schuler et al., 2001). Le récepteur GABA_B influence également positivement ou négativement l'AC, selon la mise en jeu de G_i α , G_o α et/ou des sous-unités G $\beta\gamma$ (Simonds, 1999). Des analyses utilisant le système de double hybride ont montré l'existence d'au moins deux isomères différents de récepteurs GABA_B qui interagissent : GABA_{B(1)} et GABA_{B(2)} (Kuner et al., 1999; White et al., 1998). Ces deux sous-unités sont co-exprimées pour former un récepteur fonctionnel (Jones et al., 1998; Kaupmann et al., 1998). Chaque groupe de sous-unités comporte également des sous-classes que je ne détaillerais pas.

III.1.e. Autres récepteurs

Je viens d'énumérer les principaux types de récepteurs que l'on retrouve et associés aux neurotransmetteurs prépondérants dans le striatum et le cortex, mais au sein de ces structures il en existe d'autres. Dans ce paragraphe, je vais brièvement en aborder quelques-uns.

Dans le cortex et dans le striatum, en particulier sur les CINs, on retrouve l'expression de récepteurs métabotropiques à la sérotonine (5-HT). Les récepteurs 5HT-1A sont couplés aux protéines Gi/Go et ont une activité inhibitrice (Avesar and Gullledge, 2012), alors que les récepteurs 5HT-2A, couplés à la protéine Gq, ont une action stimulatrice (Blomeley and Bracci, 2005; Weber and Andrade, 2010). Les récepteurs 5HT-6 et 7 sont également exprimés par les CINs et vont stimuler leurs activité via un couplage avec la protéine Gs (Bonsi et al., 2007). D'autre part, la sérotonine est connue depuis longtemps pour avoir des effets hétérogènes sur les neurones corticaux (Araneda and Andrade, 1991; Davies et al., 1987).

Au niveau striatal, on retrouve également des récepteurs à l'histamine, aux opioïdes, aux tachykinines et aux endocannabinoïdes. Il existe quatre types de récepteurs

métabotropiques à l'histamine, notés H1, H2, H3 et H4 (Parsons and Ganellin, 2006). Les récepteurs H1, 2 et 3 sont retrouvés dans le striatum ; les deux premiers sont respectivement couplés aux protéines Gq et Gs favorisant ainsi l'activité des CINs, et le troisième, couplé à la protéine Gi, est un autorécepteur inhibiteur retrouvé sur les afférences histaminiques du striatum (Haas et al., 2008).

Les récepteurs aux opioïdes (comme l'énképhaline ou la dynorphine) sont de nature métabotrope et sont représentés par trois types différents notés δ , κ et μ . Ils sont tous les trois couplés à la protéine Gi (Mansour et al., 1994; Tso and Wong, 2003), cependant les récepteurs κ peuvent également être couplés à la protéine Gs (Crain and Shen, 1996) selon la concentration extracellulaire en agoniste (Claye et al., 1996). Les récepteurs de type μ sont co-exprimés avec la choline acétyltransférase dans les CINs et le pourcentage de co-expression est variable au cours de la journée (Jabourian et al., 2005). Enfin, il a été montré que la stimulation de chaque type de récepteur aux opioïdes entraîne la diminution de la libération d'ACh dans le striatum (Mulder et al., 1984; Schoffelmeer et al., 1997; Ponterio et al., 2013).

Les récepteurs aux tachykinines (comme la substance P) sont représentés dans le striatum par les récepteurs métabotropiques NK1 exprimés par les CINs (Richardson et al., 2000). Leur activation stimule l'activité de ces interneurons (Aosaki and Kawaguchi, 1996; Preston et al., 2000).

Les récepteurs du NPY (Y1, 2, 4 et 5) sont tous couplés à une protéine Gi. Ils interviennent dans plusieurs processus physiologiques (régulation de la prise alimentaire, de la pression artérielle et de la température, fonctions sexuelles, etc.). Le NPY aurait un effet inhibiteur sur l'activité de décharge des neurones du NAc (van den Heuvel et al., 2015).

Enfin, les récepteurs métabotropiques de type CB1 sont activés par les endocannabinoïdes : l'anandamide et le 2-arachidonoyl glycérol. Ce sont des récepteurs localisés au niveau présynaptique, et modulent négativement la libération de neurotransmetteur via leur couplage aux protéines Gi (Kendall and Yudowski, 2016).

III.2. Plasticité synaptique à long terme

Le cerveau possède la capacité de s'adapter et d'intégrer de nouvelles informations par des phénomènes de mémorisation et d'apprentissage (Bliss and Collingridge, 1993; Bear and Abraham, 1996). A l'échelle cellulaire, ces phénomènes, tout comme d'autres processus cérébraux, font appel à la plasticité des synapses (Alkon and Nelson, 1990; Kandel, 1997; Morris, 1999), qui est un processus par lequel la structure et le fonctionnement des synapses sont modifiés en réponse à différents stimuli environnementaux. La notion de plasticité synaptique a éclo du postulat de Hebb (1949), qui a proposé que lorsqu'un neurone A permet l'activation répétée d'un neurone B, alors l'efficacité de la connexion entre les neurones A et B est augmentée. Les premières évidences expérimentales de la « plasticité Hebbienne » proviennent des travaux de Bliss et Lømo (Bliss and Lomo, 1973), qui montrent que des activations brèves et répétitives de l'activité des synapses excitatrices de l'hippocampe provoquent une augmentation persistante de l'efficacité de la transmission synaptique, appelée potentialisation à long terme ou LTP (*long-term potentiation*).

Depuis, de nombreux travaux se sont intéressés aux différentes formes de plasticité et aux mécanismes cellulaires/moléculaires sous-jacents. Les deux formes "classiques" de plasticité synaptique sont la LTP et la dépression à long terme (*long-term depression*, LTD), cette dernière consistant en une diminution à long terme de l'efficacité de la transmission synaptique (Bliss and Gardner-Medwin, 1973; Bear and Malenka, 1994). La LTD et la LTP ont été décrites dans plusieurs structures du cerveau, notamment dans l'hippocampe, le cervelet, le striatum, etc., avec des mécanismes aussi bien similaires que particuliers à chaque structure. Dans ce paragraphe je me focaliserai exclusivement sur la plasticité synaptique cortico-striée, très bien caractérisée, et de celle au niveau de la couche V du cortex moteur, qui au contraire n'a pas été très étudiée.

Le glutamate et ses récepteurs occupent une place très importante dans les phénomènes de plasticité synaptique à long terme. En raison de leurs caractéristiques biophysiques, ces récepteurs vont fonctionnellement se différencier au cours de ces processus : les récepteurs NMDA, qualifiés de "détecteurs de coïncidence" entre l'activité pré- et postsynaptique, seront plus impliqués dans le déclenchement de la plasticité, alors que les récepteurs AMPA seront plus impliqués dans son expression.

III.2.a. Plasticité synaptique cortico-striée

La synapse cortico-striée constitue la voie d'entrée prédominante au sein des GB et joue un rôle majeur dans l'apprentissage moteur, l'initiation et le contrôle d'une multitude de comportements. Les informations issues de l'ensemble des aires corticales convergent vers le striatum, où elles sont traitées et sélectionnées, avant d'être transmises aux structures de sortie. La mise en place correcte de ces messages efférents repose sur un ajustement et une modification permanente de l'activité synaptique au sein des GB et en particulier du striatum. C'est pourquoi les mécanismes de plasticité ainsi que toutes modifications/modulations synaptiques de la voie cortico-striée sont cruciaux.

La voie cortico-striée est matérialisée par les neurones pyramidaux (IT et PT) des couches corticales III, V et VI (Reiner et al., 2010; Shepherd, 2013), qui forment des connexions glutamatergiques avec les MSNs et les interneurons du striatum. Sur les MSNs, ils forment principalement des contacts au niveau de la tête des épines des dendrites distales (Bouyer et al., 1984), mais parfois aussi au niveau du tronc (Kemp and Powell, 1971).

Chez le rat, le volume striatal occupé par l'arborisation dendritique d'un seul MSN représente une zone où environ 2840 MSNs se superposent et, dans ce même volume, il y aurait environ 380000 axones cortico-striés. Globalement, les neurones pyramidaux effectuent peu de synapses avec les MSNs : en effet, un axone pyramidal ne serait à l'origine que de 40 contacts synaptiques effectués sur seulement 1.5% des MSNs présents dans ce même volume striatal. Finalement, un MSN ne reçoit que 1 à 4 synapses provenant d'un neurone pyramidal (Kincaid et al., 1998).

En conditions de base, le glutamate libéré par la voie cortico-striée viendra dépolariser un MSN via ses récepteurs AMPA. Cette synapse a été montrée comme étant relativement faible, étant incapable d'activer les récepteurs NMDA (bloqués par le magnésium au potentiel de repos des MSNs), voire déclencher un PA (Choi and Lovinger, 1997). Une stimulation simultanée de plusieurs fibres cortico-striées afférentes sur un même MSN sera donc nécessaire pour induire une dépolarisation suffisamment forte qui puisse déinactiver les récepteurs NMDA et produire un PA (Calabresi et al., 2000a). Sur une échelle de temps relativement plus longue, le glutamate peut aussi agir au travers des récepteurs mGlu du groupe I présents sur les MSNs, qui peuvent contribuer à l'excitation du neurone. Les MSNs reçoivent également de nombreuses connexions GABAergiques provenant des

autres MSNs et des interneurons, qui déclenchent une inhibition rapide à travers les récepteurs GABA_A (Tepper et al., 2004). En plus des signaux glutamatergiques et GABAergiques, la synapse cortico-striée est modulée par l'ACh libérée par les CINs et par la DA libérée par les afférences nigrales. D'ailleurs, dans le striatum, une interaction fonctionnelle majeure a lieu entre l'ACh et la dopamine, qui retentit nettement sur la synapse cortico-striée et de manière générale sur l'ensemble des GB (Cohen et al., 2012; Kosillo et al., 2016). L'intégration postsynaptique des signaux dopaminergiques se fait via les récepteurs D1 et D2 des MSNs, et ce sont majoritairement via les récepteurs muscariniques M1 que passeront les signaux cholinergiques.

Au niveau présynaptique, les afférences corticales expriment des récepteurs D2, M2 et CB1, qui ont tous un effet inhibiteur sur la libération du glutamate. Il est également intéressant de noter que les terminaisons dopaminergiques nigro-striées possèdent des récepteurs nACh jouant un rôle important dans la transmission basale et la plasticité de la synapse cortico-striée (Threlfell et al., 2010). L'ACh, dont la source striatale principale est représentée par les CINs, occupe donc une place importante au cœur de cette synapse, car elle peut non seulement agir directement sur les MSNs mais aussi moduler leurs principales afférences.

L'ensemble de ces neurotransmetteurs et de leurs récepteurs permet à la synapse cortico-striée de supporter les deux formes classiques de plasticité à long terme : la LTD et la LTP (Fino et al., 2005; Calabresi et al., 2007; Lovinger, 2010).

→ **Dépression à long terme (LTD)**

Au niveau de la synapse cortico-striée, c'est d'abord la LTD qui a été mise en évidence. Elle peut être induite grâce à un protocole de stimulation à haute fréquence des fibres corticales (trois trains de stimulation à 100 Hz) par une électrode placée sur le corps calleux, associée à une décharge postsynaptique des MSNs (Calabresi et al., 1992a; Dupuis et al., 2014). La LTD est associée à une diminution de la fréquence mais pas de l'amplitude des potentiels postsynaptiques excitateurs "miniatures" (libération de glutamate non dépendante des PAs), suggérant l'implication du compartiment présynaptique pour son expression (Choi and Lovinger, 1997). Cette forme de plasticité n'est pas altérée en présence d'antagonistes des récepteurs NMDA ou GABA_A. Par contre, la LTD est abolie en présence d'antagonistes des

récepteurs mGlu, D1 et D2 (Calabresi et al., 1992a). Elle nécessite également l'activation de protéine kinase calcium dépendante et de l'activation sélective des récepteurs mGlu1 (Gubellini et al., 2004, 2001). La stimulation de ces derniers entraîne une augmentation de calcium intracellulaire via les Cav1.3 (type L) (Kreitzer and Malenka, 2005) facilitant la libération d'endocannabinoïdes, qui vont agir sur les récepteurs CB1 des terminaisons corticales (Cui et al., 2015). L'activation de ces récepteurs inhibe la libération de glutamate, contribuant à la LTD (Gerdeman et al., 2002; Wilson and Nicoll, 2002). La dopamine, au travers des récepteurs D2, diminue les niveaux intracellulaires d'AMPc, ce qui va diminuer, via la PKA, l'état de phosphorylation et donc l'activité de DARPP-32. Cela provoque une désinhibition de la PP1 qui est un régulateur de l'activité de nombreux effecteurs physiologiques comme les récepteurs AMPA et NMDA (Yan et al., 1999). La libération de dopamine dans le striatum est aussi sous le contrôle positif des récepteurs nACh sur les fibres dopaminergiques (Zhou et al., 2001; Threlfell et al., 2012a). La dopamine ainsi libérée active les récepteurs D2 des CINs entraînant une diminution de la libération d'ACh et donc une moindre stimulation des récepteurs M1 sur les MSNs. Ceci promeut la désinhibition des canaux calciques Cav1.3 favorisant ainsi l'augmentation de la concentration de calcium intracellulaire puis *in fine* la LTD (Di Filippo et al., 2009) (Figure 9). Un autre neuromodulateur impliqué dans l'induction de la LTD est le NO (oxyde nitrique), libéré par les interneurons SOM (NADPH-positifs) suite à la stimulation de récepteurs de type D1, qui stimule l'activité de la voie de signalisation via la PKG (Calabresi et al., 1999c).

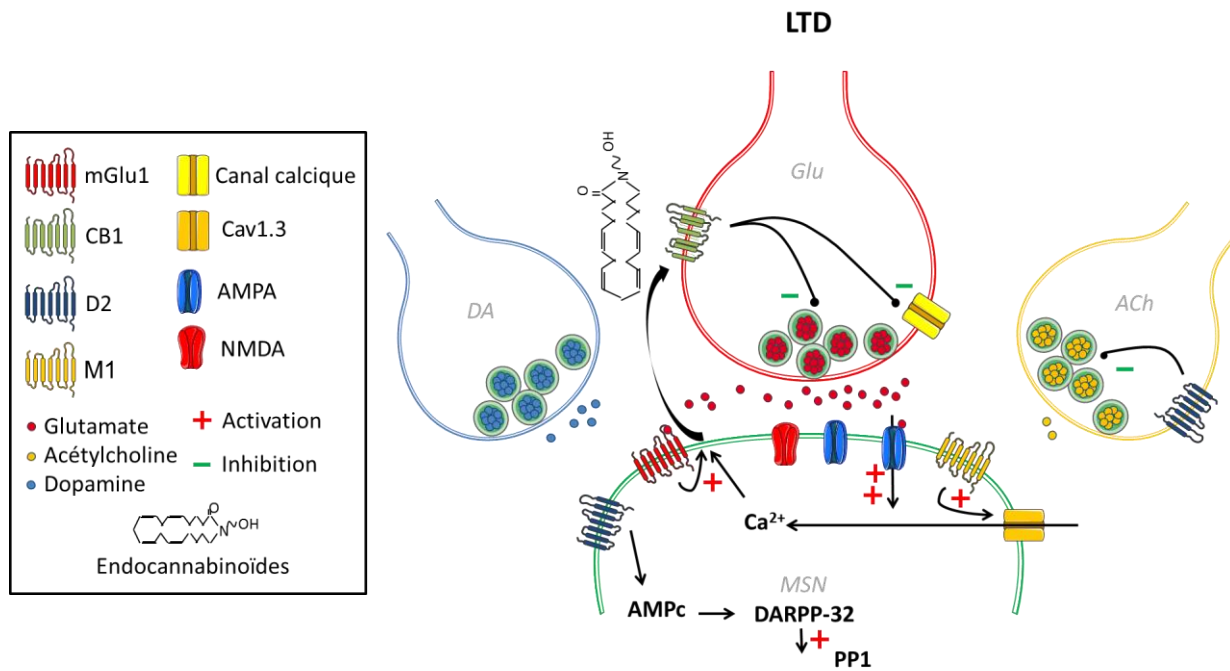


Figure 9 : Principaux mécanismes moléculaires de la LTD cortico-striée.

Deux événements combinés permettent l'induction de la LTD : d'une part la dépolarisation postsynaptique active les canaux Cav1.3, d'autre part le glutamate stimule les récepteurs mGlu1. L'activité de ces derniers et l'augmentation de calcium intracellulaire favorisent la synthèse d'endocannabinoïdes, qui vont agir sur leurs récepteurs CB1 présynaptiques. L'action des CB1 entraîne une diminution de la probabilité de libération du glutamate à long terme. La dopamine, au travers des récepteurs D2, diminue les niveaux intracellulaires d'AMPA, ce qui va diminuer, *in fine*, l'activité de DARPP-32. Cela provoque une désinhibition de la PP1, ainsi le nombre de récepteurs AMPA et NMDA phosphorylés (activés) sera diminué. La dopamine diminue également la quantité d'ACh libérée par les CINs, ce qui entraîne une moindre stimulation des M1 sur les MSNs, qui modulent les canaux calciques.

→ Potentialisation à long terme (LTP)

La LTP cortico-striée a été plus longue à être caractérisée car son induction est variable selon la zone striatale considérée (Partridge et al., 2000) et elle est dépendante des récepteurs NMDA postsynaptiques, qui sont bloqués par le magnésium au potentiel de repos. Expérimentalement, cette désinhibition s'obtient soit en utilisant un milieu extracellulaire sans magnésium (Calabresi et al., 1992b), soit en dépolarisant fortement le neurone postsynaptique au cours de chaque train de stimulation (les mêmes que pour la LTD) (Chassain et al., 2016). La LTP cortico-striée est corrélée essentiellement à une augmentation de sensibilité des récepteurs AMPA postsynaptiques (Shen et al., 2008). Concernant les mécanismes, la désinhibition des récepteurs NMDA produit une forte augmentation de calcium dans les MSNs qui déclenche l'activation de la protéine kinase II calmodulin-dépendante (CaMKII). La CaMKII entraîne une augmentation du nombre et de la sensibilité

des récepteurs AMPA au niveau postsynaptique, ce qui intensifie l'activité excitatrice du glutamate (Barria et al., 1997). La LTP nécessite également l'activation des récepteurs D1 et D5 (Kerr and Wickens, 2001; Schotanus and Chergui, 2008). Pour cela, la libération d'une grande quantité de DA permettrait l'activation des récepteurs D1 (à faible affinité), entraînant la modulation des niveaux intracellulaires d'AMPc via l'activation de l'AC (Kerr and Wickens, 2001). Cette dernière, au travers de la PKA, va augmenter l'état de phosphorylation de la DARPP-32, qui à son tour inhibe PP1 (Yan et al., 1999). Cet ensemble de réactions permettra une augmentation du nombre de récepteurs AMPA et NMDA phosphorylés à la membrane postsynaptique (Calabresi et al., 1999c). L'activité des récepteurs M1 et des mGlu du Groupe I (mGlu1 et 5) est aussi requise pour l'induction de la LTP, probablement via l'activation de mécanismes impliquant la PKC (Calabresi et al., 1999a; Gubellini et al., 2003). Par contre la mise en jeu des récepteurs M2 aurait une influence négative sur la LTP en réduisant la libération de glutamate au niveau des fibres corticales (Calabresi et al., 1998) (Figure 10). L'étude de Shen (2008) montre l'implication des récepteurs A2A dans la LTP. On sait que les MSNs de la voie directe expriment le récepteur D1 et pas le A2A, alors que ceux de la voie indirecte expriment le D2 et le A2A (et faiblement le D1) (Gerfen et al., 1990; Augood and Emson, 1994). La mise en jeu différentielle de ces récepteurs favoriserait la potentialisation de l'une ou de l'autre voie de sortie striatale : l'alternance et la coordination de l'expression de la plasticité sur les deux populations de MSNs sont nécessaires pour l'exécution correcte de séquences d'actions (Lovinger, 2010).

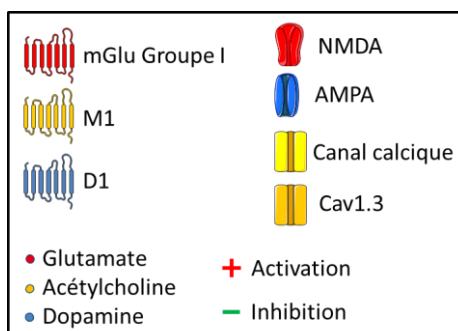
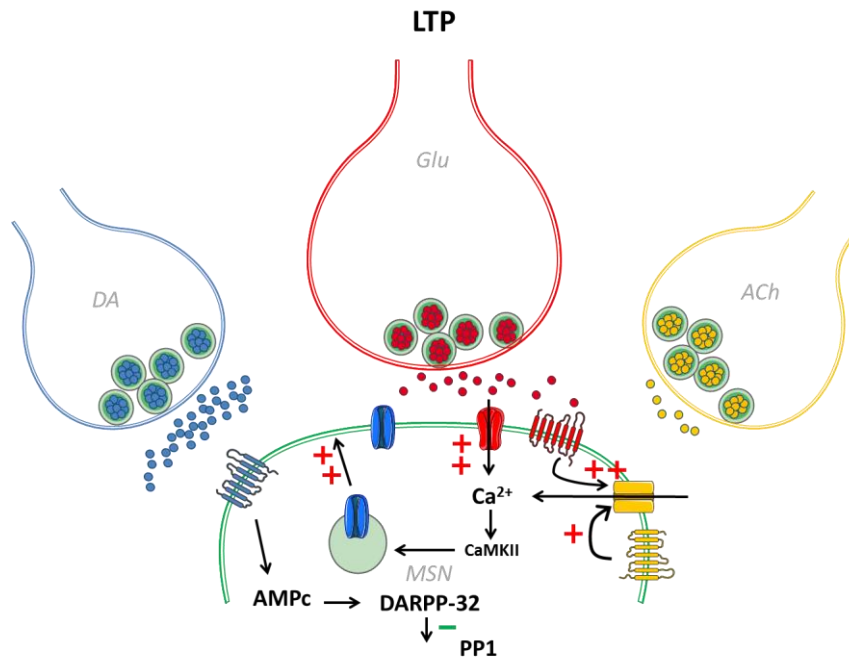


Figure 10 : Principaux mécanismes moléculaires de la LTP cortico-striée.

L'induction de la LTP implique la mise en jeu des récepteurs NMDA, qui permettent l'entrée massive de calcium dans les MSNs. La stimulation des récepteurs mGlu du Groupe I (mGlu1 et mGlu5) ainsi que des M1 entraîne une forte entrée ultérieure de calcium qui, au travers de la CaMKII, produit un adressage à la membrane des récepteurs AMPA. La dopamine, au travers des récepteurs D1, augmente l'activité de la DARPP-32 qui provoque une inhibition de la PP1, ainsi le nombre de récepteurs AMPA et NMDA phosphorylés (activés) sera augmenté.

→ Quelques hypothèses mécanistiques

Les différents patrons d'activité dopaminergique et cholinergique dans le striatum pourraient influencer la plasticité à long terme cortico-striée de manière bidirectionnelle : une faible décharge tonique des afférences dopaminergiques entretiendrait la libération d'un faible niveau de dopamine, ce qui jouerait en faveur de l'activité des récepteurs D2 de haute affinité et de l'expression de la LTD ; à l'inverse, une activité élevée (phasique ou en burst) concomitante à la décharge des fibres corticales favoriserait l'activation des récepteurs D1 de faible affinité et l'expression de la LTP (Reynolds and Wickens, 2000; Lovinger et al., 2003). Dans la même veine, une forte activité de décharge des CINs et la stimulation des récepteurs mACh favoriserait la LTP (via une libération accrue de dopamine et une stimulation des récepteurs M1), alors que la pause dans la décharge des CINs et l'arrêt de la stimulation de ces récepteurs interviendraient dans la LTD. Alternativement, la

pause dans l'activité de décharge des CINs pourrait être un facteur annonciateur de la LTP, puisque cette période de non activité conduit à une moindre stimulation des récepteurs M2 et donc à une désinhibition des afférences corticales (Calabresi et al., 1998). Dans ce contexte, il ne faut pas oublier que les CINs sont essentiellement sous le contrôle des afférences thalamiques. Cela implique que la LTP cortico-striée pourrait être influencée par une action combinée des afférences corticales, thalamiques et nigrales. *In fine*, il n'a pas encore été déterminé si la LTD est un mécanisme spécifique, indépendant de la LTP, qui influence les processus synaptiques : en effet, la LTD pourrait simplement jouer le rôle d' "assistant" de la LTP en augmentant le ratio signal/bruit, en réajustant le poids synaptique et/ou en effaçant les informations précédemment stockées sous forme de LTP (Massey and Bashir, 2007). En effet, on connaît des processus de dépotentialisation après l'induction d'une LTP cortico-striée (Picconi et al., 2003).

L'ensemble des mécanismes de LTD et LTP cortico-striée présentés ci-dessus a été obtenu par des études *ex vivo* (sur tranche). Pour ce qui concerne la situation *in vivo*, il y a beaucoup moins de données (Charpier and Deniau, 1997; Braz et al., 2017). Dans ce contexte il est cependant intéressant de reprendre le concept de « *Up and Down state* » pour ce qui concerne LTP et la LTD dans le cerveau d'un animal vivant : le *Up state*, en permettant l'activation des récepteurs NMDA, favoriserait la LTP (NMDA-dépendante), alors que le *Down state* serait plus propice à la LTD (NMDA-indépendante) et/ou empêcherait l'induction de la LTP (Calabresi et al., 2007).

III.2.b. La plasticité synaptique dans le cortex (couche V)

La plasticité synaptique au niveau de la couche V du cortex moteur a été très peu étudiée et caractérisée. Les neurones et les synapses impliqués dans ce processus sont schématisés dans la figure 11. Je donnerai ici un bref résumé des données de la littérature, principalement issues de travaux effectués dans l'hippocampe.

→ LTP

La LTP est généralement déclenchée par des stimulations répétées des fibres afférentes à la couche V (généralement, l'électrode de stimulation est placée entre les couches II-III et V), chacune couplée à la dépolarisation du neurone postsynaptique (Bindman et al., 1988; Guo et al., 2015).

Dans l'hippocampe, la LTP est dépendante de trois facteurs clés au niveau de l'élément postsynaptique : sa dépolarisation (Malinow and Miller, 1986), l'activation des récepteurs NMDA (Collingridge et al., 1983) et une augmentation de la concentration intracellulaire en calcium (Malenka et al., 1988). La libération massive de glutamate déclenchée par les trains de stimulation entraîne l'activation des récepteurs AMPA et NMDA, dont découle une succession de potentiels postsynaptiques excitateurs (PPSE) qui peuvent aussi déclencher des PAs. La rétropropagation de ces PAs au niveau dendritique favorise l'activation de canaux calciques voltage-dépendants (Larkum et al., 2001) et cette dépolarisation calcique désinhibe les récepteurs NMDA (Ascher and Nowak, 1988). Ce couplage entre l'arrivée de PAs rétrogrades et l'activation des récepteurs NMDA entraîne transitoirement une nette augmentation du courant calcique qui est à l'origine du déclenchement de la LTP (Malenka et al., 1988). L'expression de la LTP se caractérise par des phénomènes pré- et postsynaptiques. Au niveau postsynaptique, les mécanismes les plus connus sont l'augmentation du nombre de récepteurs AMPA (Malinow and Malenka, 2002; Song and Huganir, 2002) et/ou l'augmentation de leur affinité pour le glutamate lorsqu'ils sont phosphorylés (Malenka and Nicoll, 1999), notamment via la CaMKII (Barria et al., 1997). Au niveau présynaptique, l'induction de la LTP entraînerait une augmentation de la quantité de neurotransmetteur par vésicule et/ou une augmentation du nombre de molécules qui permettent l'ancrage des vésicules à la membrane (Choi et al., 2000).

→ LTD

La LTD dans le cortex est généralement induite par une stimulation à basse fréquence (1 Hz) (Guo et al., 2015). Comme la LTP, la LTD dans l'hippocampe est dépendante de l'activation des récepteurs NMDA et d'une augmentation de la concentration de calcium postsynaptique, cependant moins importante que celle qui est nécessaire pour déclencher la LTP (Mulkey and Malenka, 1992). Une stimulation présynaptique prolongée à basse fréquence (Dudek and Bear, 1993) va déclencher des PPSE et une rétropropagation des PAs consécutive à la dépolarisation de l'élément postsynaptique (Christie et al., 1996). L'activation des récepteurs NMDA et/ou la mise en jeu de canaux calciques voltage-dépendants est à l'origine de l'augmentation de calcium postsynaptique (Mulkey and Malenka, 1992). De plus, une libération de calcium à partir des stocks intracellulaires est également suspectée (Cummins et al., 1996). La LTD s'exprime au travers du changement de l'état de phosphorylation des récepteurs AMPA. De façon générale, la phosphorylation du récepteur AMPA est assurée par les PKA et C, qui sont peu actives pendant l'induction de la LTD ; des données plus récentes semblent impliquer l'activation du récepteur M1 dans l'induction de la LTD dans la couche V du cortex (Caruana et al., 2011). La PKA est notamment active au niveau de la sous-unité GluR1 du récepteur AMPA (Lee et al., 1998, 2000). La déphosphorylation des substrats de la PKA est réalisée par la PP1, qui est active pendant l'induction/expression de la LTD (Morishita et al., 2001) : en effet, des inhibiteurs de PP1 appliqués au niveau postsynaptique inhibent la LTD (Mulkey et al., 1994). La déphosphorylation subséquente des récepteurs AMPA diminue leur probabilité d'ouverture ainsi que leur nombre à la synapse par un mécanisme d'internalisation (Ehlers, 2000).

Pour résumer, la LTP dans le cortex serait favorisée par l'activité de phosphorylation via la PKA, alors que la LTD serait favorisée par l'activité de déphosphorylation via la PP1.

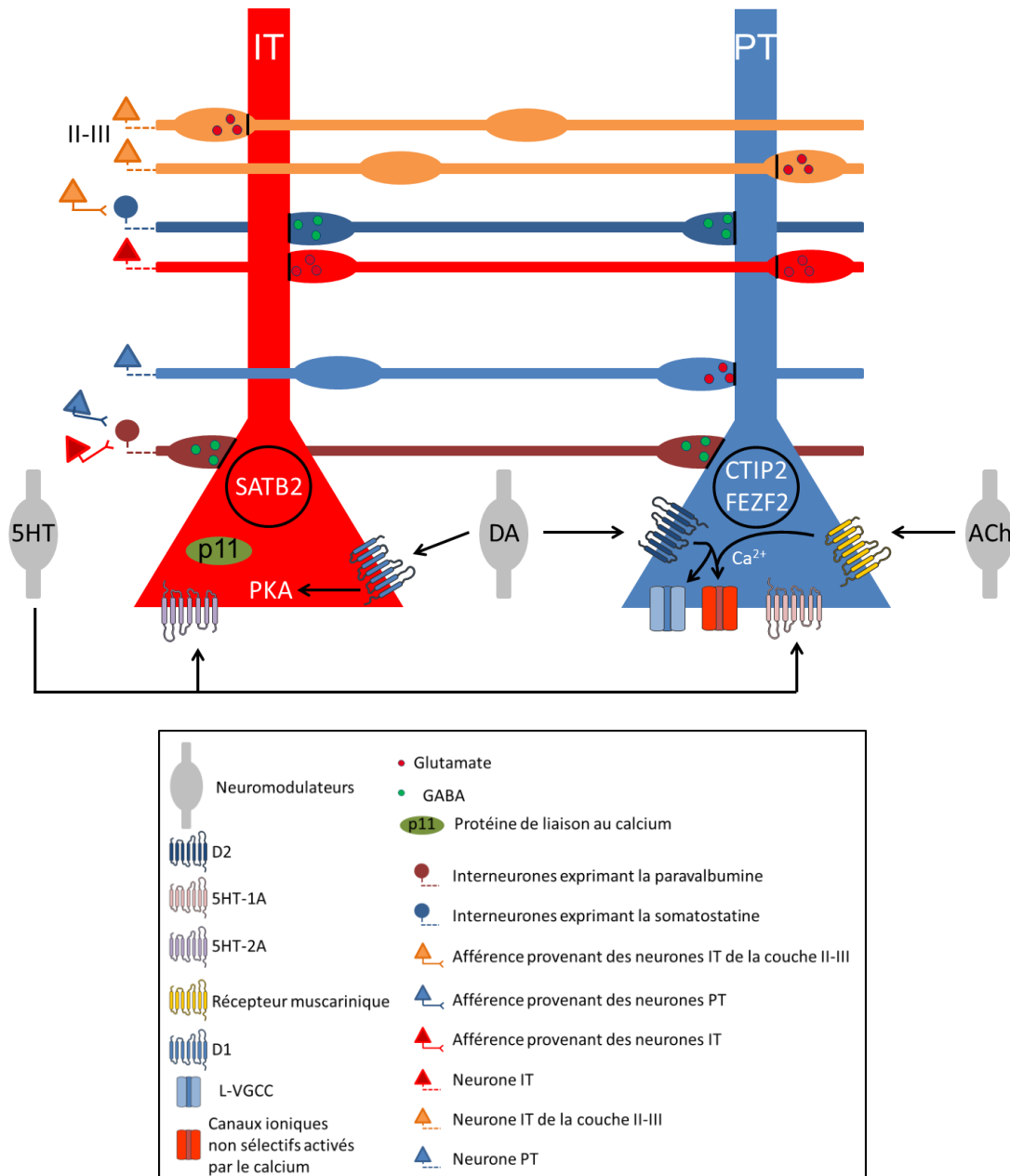


Figure 11 : Connectivité des neurones pyramidaux de la couche V.

L'ensemble des neurones cortico-striés est sous l'influence d'interneurones LTS et FS, qui sont eux-mêmes sous l'influence des projections des IT, des PT et/ou des neurones des couches II-III. Cependant, les contributions de ces différents acteurs moléculaires dans les processus de plasticité à long terme restent encore peu connues. Les neurones IT expriment : le facteur de transcription SATB2, la protéine de liaison au calcium p11, la protéine kinase A, le récepteur sérotoninergique 2A (5HT-2A) et le récepteur dopaminergique D1. Les neurones PT expriment les facteurs de transcription CTIP2 et FEZF2, des récepteurs muscariniques, les récepteurs 5HT-1A, les récepteurs D2, les canaux calciques voltage-dépendants de type L (L-VGCC) et des canaux ioniques non sélectifs activés par le calcium (ainsi que les canaux HCN, non représentés). (Adaptée de Shepherd, 2013)

IV. FOCUS SUR LES INTERNEURONES CHOLINERGIQUES DU STRIATUM

La plupart de l'innervation cholinergique de l'encéphale est assurée par des neurones de projection qui contactent des cibles lointaines. Dans le cerveau antérieur, des neurones cholinergiques sont présents dans le noyau basal de Meynert/substance innominée, le septum médian et les noyaux des bandes diagonales. Ces structures constituent la source cholinergique majeure du cortex, de l'hippocampe, du thalamus et de l'amygdale (Mesulam et al., 1983). Le complexe tegmental latérodorsal et le noyau pédonculopontin constituent les structures cholinergiques du cerveau moyen qui innervent le thalamus et des cibles pontiques (Hallanger and Wainer, 1988). Enfin, le noyau médian de l'habenula projette sur le noyau interpedonculaire du mésencéphale (Ren et al., 2011).

Contrairement aux structures mentionnées ci-dessus, dans le striatum l'innervation cholinergique est essentiellement interne et elle est fournie par une population d'interneurones cholinergiques, les CINs (Bolam et al., 1984). Cependant, le striatum reçoit également des projections qui proviennent du complexe tegmental latérodorsal et du noyau pédonculopontin, mises en évidence récemment (Dautan et al., 2014).

Les CINs représentent 1 à 2% des neurones striataux et sont identifiables par une immuno-détection de la choline acétyltransférase (ChAT, enzyme de synthèse de l'acétylcholine). Bien qu'en faible nombre, ils possèdent une arborisation dendritique (dépourvue d'épines) et axonale très densément ramifiées, couvrant de vastes zones du striatum (Bolam et al., 1984; Kawaguchi et al., 1995). Leur soma est très grand (25 à 50 μm de diamètre) : en effet, ils ont été initialement décrits comme « *large aspiny cells* » (Kawaguchi, 1992) (Figure 12A). Les CINs possèdent une activité électrophysiologique caractéristique : ils émettent des PAs de façon tonique et généralement assez régulière (activité « *pacemaker* »), sans l'intervention d'entrées synaptiques. *In vivo*, ils sont qualifiés de « *tonically active neurons* », soulignant leur patron de décharge spécifique (Figures 12B, C). L'ensemble de ces caractéristiques leur confère une position et un rôle clé dans l'intégration, la régulation et la distribution fine des informations au sein des réseaux intrastriataux.

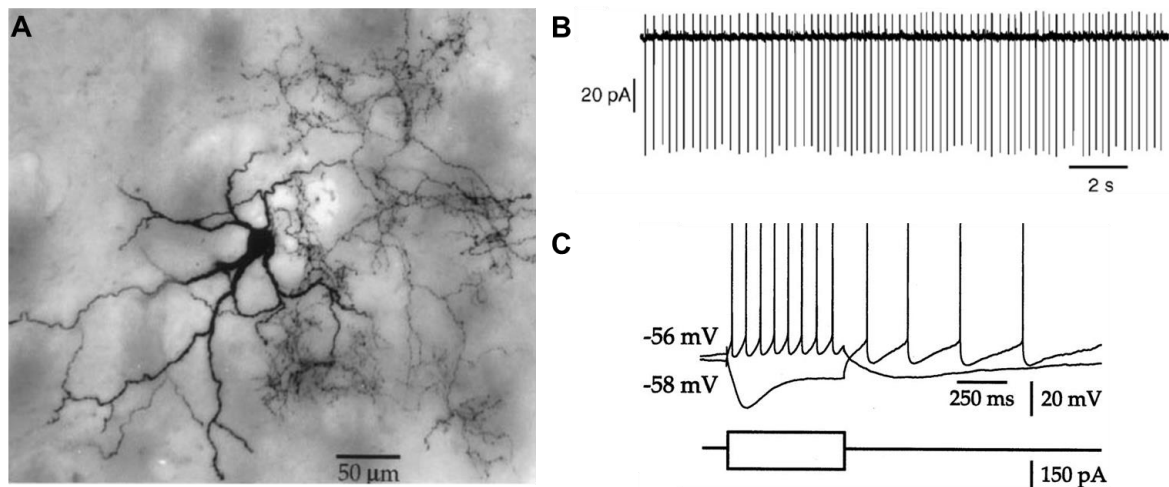


Figure 12 : Caractéristiques morphologiques et électrophysiologiques des CINs.

(A) CIN rempli à la biocytine au travers de l'électrode d'enregistrement. Les prolongements et les ramifications multiples des dendrites de deuxième ordre et d'ordres supérieurs sont bien visibles. (D'après Bennett and Wilson, 1999)

(B) Activité spontanée d'un CIN recueillie en configuration cellule attachée. (D'après Pisani et al., 2007)

(C) Réponses d'un CIN à une hyper- et une dépolarisation (configuration cellule entière). L'injection d'un courant négatif produit une hyperpolarisation initiale suivie d'une dépolarisation rapide avec un épaulement (sag) caractéristique, soulignant la mise en jeu du courant I_h . L'injection d'un courant positif, quant à lui, entraîne une décharge régulière et une longue posthyperpolarisation (AHP). (D'après Bennett and Wilson, 1999)

IV.1. Activité intrinsèque des CINs

Les CINs possèdent un potentiel de repos difficile à évaluer à cause de leur activité de décharge spontanée, mais qui est assez dépolarisé (autour de -57 mV) (Figure 12C), ainsi qu'une résistance d'entrée élevée (autour de 400-500 MΩ). Ce sont les seules cellules du striatum qui présentent une activité de décharge spontanée sans l'intervention d'une source excitatrice externe (Kawaguchi, 1993; Bennett and Wilson, 1999). Cette capacité provient d'un équipement en canaux ioniques particulier qui leur permet de générer des PAs de façon autonome et répétitive (Figure 13). Ils présentent donc une activité de type *pacemaker* (Figures 12B, C).

L'expression de canaux de type HCN (*hyperpolarisation-activated cyclic nucleotide-modulated cation non-selective channel*), des canaux non sélectivement perméables aux cations qui s'ouvrent en réponse à une hyperpolarisation de la membrane, produit dans les CINs un courant activé par l'hyperpolarisation, appelé courant I_h (pour *hyperpolarization-*

induced). Ce courant a été décrit indépendamment dans le cœur et dans le système nerveux central. C'est pourquoi il a été aussi nommé I_Q (pour *queer*, étrange) et I_f (pour *funny*, amusant) (Kaupp and Seifert, 2001). Certains auteurs parlent de courant rectifiant entrant cationique, parce qu'il agit comme un rectifieur. Comme il est activé par l'hyperpolarisation et perméable à la fois au potassium et au sodium, le canal HCN, à l'origine du courant dit I_h , permet de ramener le neurone vers son potentiel de repos puis vers son potentiel liminaire (autour de -50 mV). Le courant I_h caractérise donc les CINs qui, suite à l'injection d'un courant hyperpolarisant, répondent par une dépolarisation avec un épaulement (*sag*) marqué (Figures 12C, 13).

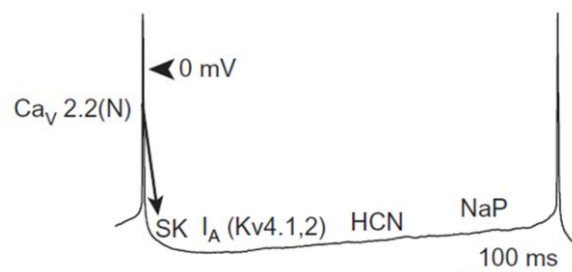


Figure 13 : Activation séquentielle de différentes conductances au cours d'un cycle de décharge des CINs.

Les canaux calciques de haut seuil $Ca_v2.2$ (type N, HVA) sont activés pendant le potentiel d'action. Ce courant calcique active de manière sélective le courant SK qui génère la posthyperpolarisation (AHP). Le courant potassique I_A contribue à la posthyperpolarisation et à l'activation des canaux HCN. Cela produit la rampe de la dépolarisation due au courant I_h conduisant au seuil de déclenchement du potentiel d'action suivant. Le courant I_h est responsable de la dépolarisation dans une gamme de voltage dans laquelle le courant sodique persistant (NaP) emmène le CIN jusqu'au seuil de déclenchement du potentiel d'action. Ce cycle est à l'origine de l'activité rythmique et spontanée des CINs.

(D'après Goldberg and Wilson, 2010)

L'activité constante des CINs relève d'une action combinée entre le courant I_h , qui est actif à tous les potentiels sous-liminaires, et des conductances sodiques qui assurent la génération de PAs (Figure 13). Ces derniers entraînent l'entrée de calcium dans la cellule, qui va influencer la durée du PA et permettre l'activation de conductances potassiques calcium-dépendantes (Bennett et al., 2000). Deux types de courants potassiques calcium-dépendants sculptent le patron de décharge des CINs : les « *big-K* » (BK) et les « *small-K* » (SK), qui sont à l'origine d'une posthyperpolarisation marquée (*after-hyperpolarization*, AHP) qui suit le PA, dont la durée détermine la fréquence d'émission des PAs. Les BK prennent part plus particulièrement à la repolarisation de la membrane au cours d'un PA, alors que les SK génèrent l'AHP qui rythme l'activité des CINs. Il existe deux types de courant SK : un qui est

bloqué par l'apamine et dépendant de l'activation des canaux calciques Cav2.2 (type N), et un autre qui est insensible à l'apamine et qui dépend des canaux Cav1 (type L). Le courant BK quant à lui est dépendant des canaux Cav2.1 (type Q). Plusieurs types d'activité de décharge des CINs ont été enregistrés *in vitro*, comprenant notamment une décharge « régulière » et une décharge « irrégulière », reflétées par des coefficients de variation respectivement faibles et élevés (Bennett and Wilson, 1999).

IV.2. Connectivité des CINs

IV.2.a. Afférences

→ Afférences GABAergiques

Les CINs reçoivent de nombreux signaux GABAergiques provenant des MSNs et des autres populations d'interneurones striataux, mais parfois même de sources extrastriatales. Ces signaux sont majoritairement intégrés via les récepteurs GABA_A (DeBoer and Westerink, 1994). Alors que les sous-unités les plus exprimées dans le striatum sont les alpha2, 4 et beta2, 3 (Persohn et al., 1992), les CINs sont les seuls neurones striataux à exprimer la sous-unité alpha3 (Rodríguez-Pallares et al., 2000). L'apparition d'un courant postsynaptique inhibiteur (IPSC) enregistré dans des CINs après stimulation locale est perdue après ajout de bicuculline (antagoniste GABA_A), témoignant d'une activité GABAergique ionotrope effective (Sato et al., 2014).

Les afférences GABAergiques sur les CINs issues des MSNs se font principalement via leurs collatérales et cette connexion représente d'ailleurs 24% de la totalité des afférences des CINs (Gonzales et al., 2013). Dans ce sens, il a été montré que l'activation des MSNs par optogénétique, *ex vivo*, conduit à l'inhibition des CINs dans 75% des cas (Chuhma et al., 2011). Les afférences marquées à la substance P sont plus nombreuses que celles exprimant l'enképhaline, ce qui indique probablement que les MSNs D1 effectuent plus de synapses avec les CINs, comparativement aux MSNs D2 (Martone et al., 1992).

Les connexions GABAergiques provenant des interneurones striataux seraient surtout issues des SOM (Vuillet et al., 1992), mais il n'y a pas de preuve fonctionnelle de l'existence de cette connexion. Les interneurones PV ne contactent pas directement les CINs, mais pourraient les désinhiber au travers des MSNs (Szydlowski et al., 2013).

De manière générale, l'activation d'autorécepteurs nACh localisés sur les terminaisons des interneurons GABAergiques induit l'inhibition de la décharge tonique des CINs (de Rover et al., 2002; Sullivan et al., 2008). Enfin, les terminaisons des afférences dopaminergiques issues de la SNc ou de l'aire tegmentale ventrale, qui contactent respectivement le striatum dorsal et le NAc, possèdent des autorécepteurs nACh présynaptiques et seraient capables de co-libérer du GABA. La fixation d'acétylcholine sur ces récepteurs nACh entraînerait une augmentation des taux de GABA libérés, et diminuerait ainsi l'activité des CINs et des MSNs (Nelson et al., 2014b).

→ **Afférences glutamatergiques**

Les synapses glutamatergiques représentent environ 13% de la totalité des afférences des CINs (Gonzales et al., 2013), et proviennent majoritairement du thalamus et du cortex. La signalisation glutamatergique sur les CINs se fait au travers de récepteurs iGlu à court terme, et à plus long terme au travers des récepteurs mGlu. Fonctionnellement, il a été montré que le glutamate est nécessaire à la synchronisation de l'activité des CINs (Ding et al., 2010; Threlfell et al., 2012a).

La présence des trois types de récepteurs iGlu au niveau des CINs suggère que le glutamate prend part de manière importante à leur excitabilité. Les CINs expriment les sous-unités GluR1, 2 et 4 du récepteur AMPA (Y. P. Deng et al., 2007) et GluR5, 6 et 7 du récepteur au kainate (Chen et al., 1996). L'action du glutamate sur les récepteurs iGlu entraîne une dépolarisation rapide des CINs. Les marquages d'ARNm révèlent une forte présence des sous-unités NR1 et NR2D du récepteur NMDA, et des agonistes de ce récepteur utilisés *ex vivo* augmentent le taux de décharge des CINs, suggérant une implication de la composante NMDA dans la réponse glutamatergique de ces neurones (Feng et al., 2014).

Le glutamate module l'activité des CINs aussi au travers des récepteurs mGlu. Les CINs expriment les mGlu du Groupe I (mGlu 1 et 5), au travers desquels le glutamate va augmenter leur activité (Calabresi et al., 1999b; Bell et al., 2002; Conn et al., 2005). Par contre, la mise en jeu des récepteurs du groupe II (mGlu 2 et 3)(Bell et al., 2002), en agissant principalement comme autorécepteurs présynaptiques, diminue leur activité (Pisani et al., 2002; Martella et al., 2009; DiRaddo et al., 2014). Les récepteur mGlu7 sont les seuls

représentants du Groupe III exprimés par les CINs et, à l'instar des mGlu du groupe II, ils diminuent la probabilité de libération d'ACh (Bell et al., 2002).

De la même manière que pour le GABA, il y aurait une co-libération intrastriatale de glutamate par des neurones non glutamatergiques. Plusieurs sources ont été proposées : les afférences DA de l'aire tegmentale ventrale (Stuber et al., 2010; Tritsch et al., 2012), les projections sérotoninergiques du noyau du raphé (Nicholas et al., 1992) et enfin les CINs eux-mêmes (Higley et al., 2011). En effet, le transporteur vésiculaire VGLUT3 est retrouvé dans les CINs sur des vésicules transportant de l'ACh (Nelson et al., 2014a) et une diminution des taux striataux d'ACh est retrouvée chez l'animal KO pour VGLUT3 (Gras et al., 2008).

→ Afférences dopaminergiques

La transmission dopaminergique sur les CINs est de nature synaptique (Hattori et al., 1976) mais aussi, probablement, volumique (Lehmann and Langer, 1983). Les afférences dopaminergiques sont issues de la SNc et de l'aire tegmentale ventrale, et contactent respectivement le striatum dorsal et le NAc (Kubota et al., 1987; Threlfell and Cragg, 2011). La majorité des CINs exprime les récepteurs D2 et D5 et seulement 20% expriment les D1 (Bergson et al., 1995; Yan et al., 1997).

Les différents auteurs ne sont pas d'accord sur les mécanismes mis en jeu pour augmenter ou diminuer l'excitabilité des CINs via la dopamine, cependant tous s'accordent pour dire que les CINs sont modulés par ce neurotransmetteur (Abercrombie and DeBoer, 1997; Centonze et al., 2003; P. Deng et al., 2007; Ding et al., 2011; Chuhma et al., 2014). Ce qui est généralement accepté, c'est que l'excitabilité des neurones est augmentée par l'activation des récepteurs D5 et diminuée après activation des D2 (Beaulieu and Gainetdinov, 2011). De plus, il existerait au sein du striatum une petite population d'interneurones dopaminergiques (Dubach et al., 1987; Ibáñez-Sandoval et al., 2010), n'ayant pas d'interaction directe avec les CINs démontrée à ce jour (Lim et al., 2014), mais formant des synapses GABAergiques avec les MSNs (Ibáñez-Sandoval et al., 2010). Cette population augmenterait en cas de déplétion dopaminergique (Jollivet et al., 2004).

→ Afférences cholinergiques

La signalisation cholinergique au niveau des CINs est assurée par des récepteurs nACh et mACh. Les CINs forment des synapses entre eux et des expériences d'hybridation *in situ* révèlent que ces neurones expriment tous la sous-unité beta2 des nACh et seulement 20% d'entre eux expriment la sous-unité alpha7 (Azam et al., 2003). L'existence d'une telle signalisation est révélée en tranche par l'application de nicotine mais nécessite une inhibition préalable des récepteurs D2. En effet, l'utilisation de sulpiride (antagoniste D2) permet de mettre en évidence la libération d'ACh en présence de nicotine, ce qui n'est pas observé en condition contrôle (Sandor et al., 1991).

Les récepteurs mACh M2 et les M4 sont les plus retrouvés sur les CINs. Le plus souvent, ils jouent le rôle d'autorécepteurs présynaptiques régulant la libération d'ACh, en particulier dans les cas d'hyperexcitabilité cholinergique (Weiner et al., 1990; Ding et al., 2006).

Au plan fonctionnel, lors de la présentation d'un stimulus prédisant une récompense, les CINs seraient capables de synchroniser leur activité (Apicella et al., 1997), simultanément favorisée par les afférences thalamostriatales (Ding et al., 2010; Threlfell et al., 2012a). Lors d'un tel scénario, un rétrocontrôle positif entre les CINs contribuerait à leur synchronie.

→ Autres afférences

Le striatum reçoit des afférences sérotoninergiques en provenance du raphé (Hervé et al., 1987). La sérotonine va agir sur les CINs via leurs récepteurs 5HT-1A, -2A, -6 et -7 (Bonsi et al., 2007).

L'histamine libérée dans le striatum (Haas et al., 2008), via des fibres issues du noyau tuberomammillaire de l'hypothalamus (Blandina et al., 2012), agit sur les CINs au travers des récepteurs H1 et H2.

Les MSNs libèrent des opioïdes et des tachykinines, ceux de la voie directe libèrent de la dynorphine et de la substance P alors que ceux de la voie indirecte libèrent de l'enképhaline (voir la partie II.1). Localement, ces substances vont notamment agir sur les CINs qui expriment les récepteurs δ et μ aux opioïdes et les récepteurs aux tachykinines NK1 (Le Moine et al., 1994; Richardson et al., 2000; Jabourian et al., 2005).

IV.2.b. Efférences

Du fait de leur morphologie axonale très étendue, les CINs contactent un vaste territoire striatal incluant différents types cellulaires (Figure 14). Ainsi, le moindre changement de la physiologie et/ou de l'activité des CINs peut retentir sur une multitude de cibles au travers des récepteurs nicotiniques et muscariniques.

De façon générale dans le striatum, les récepteurs nACh sont aussi bien exprimés en pré- et en postsynaptique et ils induisent une dépolarisation et une augmentation de l'excitabilité (MacDermott et al., 1999). La plupart du temps ces récepteurs sont composés des sous-unités alpha4, 6 et 7 et beta2 et 3 (Quik et al., 2007) et leur activité induit une dépolarisation rapide de la cible qui l'exprime.

Les 5 classes de récepteurs mACh sont exprimées dans le striatum (Yan et al., 2001) mais ce sont les M1 et M4 qui prédominent. On trouve également un faible niveau de M2 et des niveaux très bas de M3 et M5 (Yasuda et al., 1993). Les mACh ne sont pas seulement présents au niveau dendritique et somatique mais également au niveau présynaptique, comme c'est le cas pour les M2 qui sont majoritairement présents sur les terminaisons cholinergiques déclenchant un message autoinhibiteur (Hersch et al., 1994), ainsi que sur les terminaisons glutamatergiques de la voie cortico-striée (Pisani et al., 2007; Di Filippo et al., 2009) et GABAergiques issues des interneurons striataux (Sugita et al., 1991).

→ Efférences sur les cellules GABAergiques

L'influence cholinergique des CINs sur les MSNs, qui représentent la seule sortie du striatum, est cruciale car elle peut moduler/modifier de manière conséquente le message efférent du striatum et *in fine* l'information issue des GB. Cette influence est exercée au travers d'une action directe sur les récepteurs nACh et induit une dépolarisation rapide des MSNs (Liu et al., 2007).

Cependant la littérature est plus complexe concernant la modulation cholinergique des MSNs via les récepteurs mACh. En culture et sur tranche, il a été rapporté que l'application d'un agoniste muscarinique pouvait augmenter l'activité des MSNs (Galarraga et al., 1999), suggérant la mise en jeu des récepteurs M1. Cependant, l'activation des M1 a également un effet inhibiteur (Hsu et al., 1996), qui pourrait être lié à l'inhibition de courants calciques (Howe and Surmeier, 1995). L'effet inhibiteur via les M4 serait dû à une

diminution de l'entrée de calcium, réduisant ainsi l'excitabilité des MSNs. Il faut cependant noter que les MSNs "indirects" exprimeraient moins de récepteurs M4 que les "directs" (Bernard et al., 1992), ce qui suggère que l'ACh aurait une influence différente sur les deux types de MSNs.

Les CINs influencent également les MSNs de manière indirecte au travers des interneurons GABAergiques. La stimulation cholinergique des nACh localisés sur les interneurons PV/FS (Chang and Kita, 1992) ou sur les interneurons SOM/LTS (English et al., 2011) favoriserait la libération de GABA au niveau des MSNs. De plus, une interaction étroite entre les CINs et les interneurons SOM/LTS impliquant les récepteurs nACh, mACh et l'oxyde nitrique a été récemment mise en évidence (Elghaba et al., 2016).

→ **Efférences sur les terminaisons glutamatergiques**

Les principales afférences glutamatergiques du striatum proviennent du cortex somatosensoriel et des noyaux intralaminaires du thalamus. Ces terminaisons possèdent des nACh à l'origine d'un accroissement de l'activité excitatrice sur les MSNs. Cet effet passe majoritairement via les récepteurs nACh composés de sous-unités alpha7 (Carpenedo et al., 2001; Campos et al., 2010) qui sont hautement perméables au calcium. Cette entrée de calcium serait à l'origine de l'augmentation de libération de glutamate (Gray et al., 1996). Ces terminaisons glutamatergiques expriment également des mACh de type M2, dont l'activation diminue la probabilité de libération du glutamate (Malenka and Kocsis, 1988; Calabresi et al., 1998; Pancani et al., 2014). Des études d'hybridation *in situ* et d'immunohistochimie montrent que les types de mACh les plus exprimés au niveau de ces terminaisons sont les M2 et M4 (Hersch et al., 1994; Ding et al., 2010).

→ **Efférences sur les terminaisons dopaminergiques**

Les terminaisons dopaminergiques striatales expriment en très forte quantité les sous-unités alpha4 et beta2 des nACh (Sharples et al., 2000; Keath et al., 2007). De manière générale, l'utilisation d'antagonistes des nACh diminue la libération de dopamine striatale (Grady et al., 2007) alors que les agonistes l'augmentent (Campos et al., 2010). Ceci souligne une forte composante cholinergique dans la libération de dopamine. Dans ce sens, des données rapportent que le taux de dopamine libérée sur tranche dépend de la fréquence de

stimulation des afférences dopaminergiques par l'ACh, et que l'activation des récepteurs nACh contenant la sous-unité beta2 serait requise et déterminerait la quantité de dopamine libérée. La même sous-unité serait impliquée dans la signalisation conduisant à une activité synchrone des CINs (Cachope et al., 2012; Threlfell et al., 2012b).

La présence ou non de récepteurs mACh au niveau des afférences DA n'est pas encore élucidée. Cependant, plusieurs travaux utilisant l'oxotrémorine (agoniste mACh) suggèrent la mise en jeu des récepteurs M5 au niveau de ces terminaisons (Lehmann and Langer, 1983; Zhang et al., 2002; Threlfell et al., 2010).

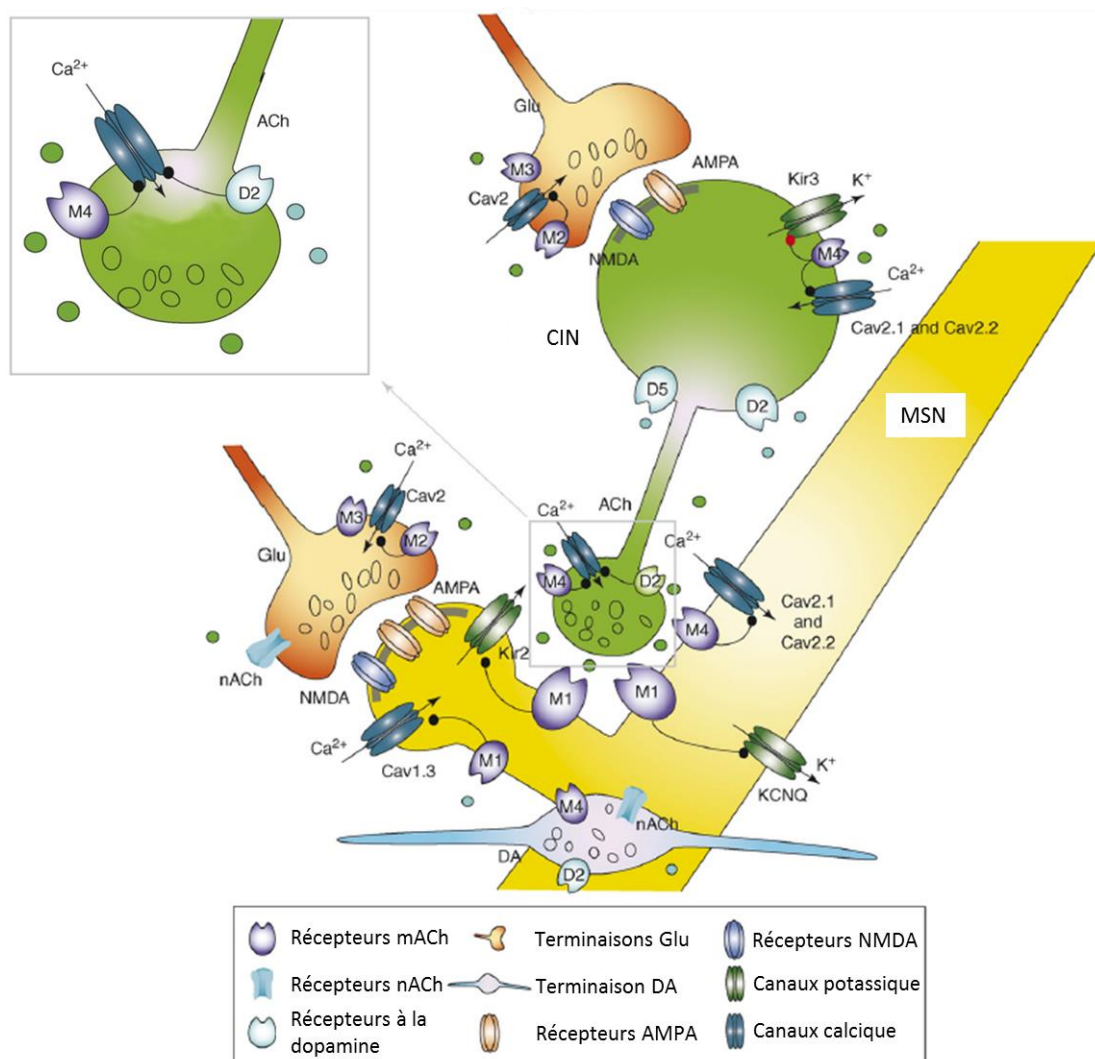


Figure 14 : Connectivité des CINs.

Schéma d'un CIN (vert), de ses connections avec un MSN (jaune), des terminaisons cortico-striées (orangées) et d'une dopaminergique (bleue). Les récepteurs métabotropiques et leurs cibles y sont représentés, ainsi que les récepteurs ionotropiques et les canaux ioniques.

Abréviations : ACh, acétylcholine ; DA, dopamine ; Glu, glutamate ; MSN, neurone épineux moyen. (Adaptée de Pisani et al., 2007)

IV.3. Développement des CINs

Les CINs du striatum partagent une origine embryonnaire commune avec les neurones cholinergiques de projection du cerveau antérieur et les interneurons GABAergiques striataux et corticaux. En effet, les progéniteurs de ces populations sont issus d'une zone caractérisée par l'expression du facteur de transcription NKX2.1 (*NK1 homeobox 2*) comprenant l'éminence ganglionnaire médiane, le septum et l'aire pré-optique.

L'identité télencéphalique de ces progéniteurs est établie au stade de plaque neurale, c'est-à-dire avant E9 chez la souris, via l'intervention du facteur de transcription FOXG1 (*forkhead box G1*). Ce dernier, au travers du contrôle du FGF (*fibroblast growth factor*) et de BMP (*bone morphogenetic protein*), permettra l'acquisition du caractère ventral du télencéphale. *Sonic hedgehog* (SHH), sécrété par la partie ventrale du tube neural, permet ensuite l'expression de NKX2.1 dans le télencéphale ventral juste avant le début de la neurogénèse à au temps E9.5. Cette région où prédomine NKX2.1 est ensuite subdivisée en sous-domaines grâce à la l'expression combinée d'autres facteurs de transcription tels que DBX1 (*developing brain homeobox 1*), OLIG2 (*oligodendrocyte lineage transcription factor 2*), NKX 6.2 (*NK6 homeobox 2*), LHX6 (*LIM-homeodomain*) et LHX8 (Flames et al., 2007). Le sous-domaine comprenant les progéniteurs qui expriment fortement DBX1 sera à l'origine d'une sous-population d'interneurones cholinergiques ainsi que de tous les interneurons GABAergiques striataux (Gelman et al., 2011).

NKX2.1 est donc le marqueur qui permet de différencier les cellules cholinergiques des interneurons GABAergiques : en effet, les neurones cholinergiques maintiennent son expression jusqu'à l'âge adulte, alors qu'elle est perdue par les interneurons GABAergiques lorsqu'ils commencent leur migration tangentielle dans le cortex (Marin et al., 2000). NKX 2.1 est nécessaire durant la spécialisation prénatale et la maturation postnatale des neurones cholinergiques, et de manière générale il préserve leur intégrité (Magno et al., 2011). Il va également réguler l'expression des récepteurs à la « neuropiline » qui permettent la réponse aux facteurs de guidage axonal, les sémaphorines (Nóbrega-Pereira et al., 2010). *Nkx2.1* est donc crucial tout au long du processus développemental des neurones cholinergiques, intervenant durant la spécialisation des progéniteurs, leur migration, leur maturation et leur maintien.

Selon Fragkouli *et al* (2009) il existerait un mécanisme de compétition entre LHX6 et LHX8, selon lequel les progéniteurs NKX2.1-positifs accèderaient à un état « pré-GABAergique » en exprimant LHX6 au moment de quitter la zone sous-ventriculaire. Parmi les cellules LHX6-positives certaines se mettront à exprimer LHX8, ce qui leur confèrera une identité cholinergique en réprimant l'expression de LHX6, alors que les autres maintiendront un phénotype GABAergique. Seuls 30 à 40% des progéniteurs qui expriment LHX8 pendant le développement deviendront des cellules cholinergiques, les autres deviendront des cellules GABAergiques probablement en réprimant l'expression transitoire de *Lhx8* par LHX6 (Fragkouli et al., 2005). Dans ce sens, il a été montré que des souris adultes dont le génome est totalement dépourvu de *Lhx8*, présentent une perte de neurones cholinergiques dans le striatum (Zhao et al., 2003). De plus, la délétion conditionnelle de *Lhx8* dans les cellules cholinergiques provoque l'expression de marqueurs de populations GABAergiques dans les interneurons cholinergiques du striatum (Lopes et al., 2012). Enfin, cette proximité identitaire cholinergique/GABAergique est soulignée par le fait qu'à l'état mature la majorité des neurones cholinergiques du cerveau basal antérieur est capable de co-libérer du GABA (Granger et al., 2016). Une autre protéine nécessaire au développement des neurones cholinergiques est LDB1, qui est capable de former un complexe soit avec LHX6 soit avec LHX8 (Zhao et al., 2014). Son expression est embryonnaire et postnatale que ce soit dans les interneurons ou dans les neurones de projection cholinergiques.

Au-delà du développement des neurones cholinergiques, il y a des facteurs qui semblent être primordiaux pour le développement des CINs, comme par exemple *Islet 1* (*Isl1*) et *gastrulation brain homeobox 2* (*Gbx2*). ISL1 est un autre facteur de transcription ayant un rôle central pour le développement des cellules cholinergiques du cerveau antérieur. Son expression débute à E10.5 chez la souris au niveau de l'éminence ganglionnaire médiane, du septum de l'aire pré-optique et de l'éminence ganglionnaire latérale (Zhuang et al., 2013). A l'inverse de LHX8, tous les progéniteurs qui co-expriment ISL1 dans l'ensemble NKX2.1- positif deviendront des cellules cholinergiques. ISL1 est donc un marqueur précoce du phénotype cholinergique (Fragkouli et al., 2009), d'autant plus que son expression est maintenue chez l'adulte (Wang and Liu, 2001). Des études qui permettent sa délétion conditionnelle chez la souris ont montré que le nombre de CINs était diminué chez ces animaux (Elshatory and Gan, 2008; Cho et al., 2014).

GBX2 est un facteur de transcription dont l'expression débute à E10.5 dans l'éminence ganglionnaire médiane (Waters et al., 2003). Son expression est réduite chez l'animal *knock-out* pour *Lhx8* ce qui sous-entend que l'action de GBX2 se ferait en aval de LHX8 (Zhao et al., 2003). Il constituerait un marqueur discriminant les CINs puisque la majorité des neurones GBX2-positifs du cerveau antérieur sont des neurones de projection GABAergiques, alors que toutes les cellules positives pour GBX2 dans le striatum sont cholinergiques. De plus, sa délétion conditionnelle dans la population exprimant *Nkx2.1* conduit à une perte importante des CINs (Chen et al., 2010).

De nombreux signaux extrinsèques participent également au développement des cellules cholinergiques et au maintien de leur phénotype, comme le *bone morphogenic protein 9* (BMP9) (López-Coviella et al., 2000; Yue et al., 2015), le *nerve growth factor* (NGF) via son récepteur TrkA (Mobley et al., 1985; Higgins et al., 1989; Sobriela et al., 1994; Barrett, 2000; Lopez-Coviella et al., 2005; Schnitzler et al., 2010; Niewiadomska et al., 2011) et le BDNF (*Brain derived neurotrophic factor*) (Alderson et al., 1990; Ward and Hagg, 2000).

V. TSHZ3 DANS LE CERVEAU

Initialement découvert chez la drosophile par Laurent Fasano, le gène *teashirt* (*tsh*) code pour une protéine (Tsh) de 993 acides aminés contenant trois motifs à doigt de zinc atypiques, décrits par la séquence consensus CX2CX3FX5(L,M)X2HMX4H (Fasano et al., 1991). La protéine Tsh possède également un motif consensus (PLDLS) d'interaction directe avec le corépresseur de la transcription *C-terminal binding protein* (CtBP), et il a été montré qu'il pouvait se lier à l'ADN et avoir une activité de facteur de transcription (Alexandre et al., 1996; Waltzer et al., 2001). Le gène *tsh* joue un rôle fondamental pendant le développement de la drosophile, où il intervient dans la mise en place de l'identité du tronc, dans la spécification de l'identité prothoracique, dans l'établissement de la polarité segmentale, pour le développement des disques imaginaux et dans la formation de l'intestin et des yeux (Fasano et al., 1991; Bhojwani et al., 1997; Pan and Rubin, 1998; Erkner et al., 1999). Chez les mammifères (Homme/souris) il existe trois paralogues de *tsh* : « *teashirt zinc-finger homeobox family member* » 1 à 3 (*TSHZ/Tshz1*, 2 et 3), qui tous contiennent deux exons codants. Le deuxième exon code pour 1068 acides aminés sur les 1081 des protéines TSHZ, et code notamment pour les motifs à doigts de zinc et un motif d'interaction avec les corépresseurs CtBP. La conservation de la séquence complète entre les protéines TSHZ de souris et Tsh de drosophile est essentiellement restreinte à la région des motifs à doigts de zinc (Caubit et al., 2000; Manfroid et al., 2004) (Figure 15). Des analyses en cultures cellulaires révèlent que les protéines TSHZ présentent une activité de répresseur de la transcription, mais il n'est pas connu si la protéine TSHZ est capable de se fixer seule sur l'ADN (Waltzer et al., 2001; Manfroid et al., 2004). Il a cependant été montré que la protéine TSHZ3 interagit avec la protéine FE65 (Amyloid Beta Precursor Protein Binding Family B Member 1) pour favoriser le recrutement d'histones désacétylase (HDAC) et former un complexe capable de réprimer l'expression du gène *CASP4* qui code pour la Caspase-4 (Kajiwara et al., 2009). De plus, un crible double hybride réalisé chez la souris a montré que TSHZ3 interagit avec le facteur de transcription SOX9 et avec BAF57 (*BRG1-Associated Factor 57* ou *SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of*), une sous-unité du complexe SWI/SNF de remodelage de la chromatine (Faralli et al., 2011).

Le gène *Tshz3*, et plus précisément, les conséquences de sa délétion au niveau du cortex et du striatum, constituent le cœur de mon travail de thèse, qui est le fruit d'une collaboration étroite avec l'équipe dirigée par Laurent Fasano à l'IBDM.

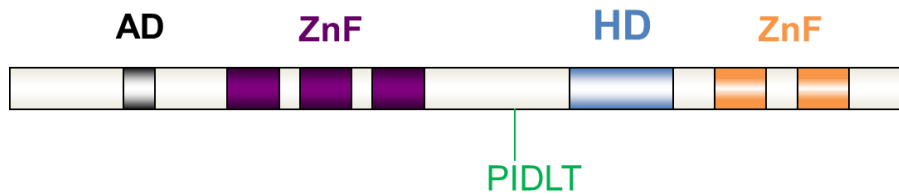


Figure 15 : Structure de la protéine TSHZ chez les vertébrés.

AD	Domaine acide
ZnF	Domaines à doigt de Zinc caractéristiques de la famille <i>Tshz</i>
HD	Homeodomaine
ZnF	Forme classique des domaines à doigt de Zinc
PIDLT	Domaine d'interaction avec le corepresseur CtBP (<i>C-terminal binding protein</i>)

V.1. Expression et rôle chez la souris

Un modèle de souris dans lequel la séquence codante du gène bactérien *lacZ* a été substituée à la quasi-totalité du second exon du gène *Tshz3* (souris *Tshz3*^{+/*lacZ*}, hétérozygote pour *Tshz3*) (Caubit et al., 2008) a été produit pour caractériser la fonction du gène *Tshz3* et suivre les cellules qui expriment ce gène ; en effet, l'allèle muté code pour une protéine de fusion TSHZ3- β -galactosidase et un immunomarquage révélant la localisation de la β -galactosidase permet de déterminer le patron d'expression du gène au cours du développement pré- et postnatal, et ce, même chez des animaux *knock-out* pour *Tshz3* (*Tshz3*^{*lacZ/lacZ*}). Cette approche a permis de montrer que TSHZ3 est présent dans des structures dont la morphogénèse dépend d'une interaction épithélio-mésenchymateuse (dents, uretère, poumons, vessie, pancréas, utérus, glande mammaire, moustaches, etc.), suggérant son possible rôle dans le développement de ces structures. L'ensemble des observations faites au niveau du système nerveux central indique que l'expression de TSHZ3 est régionalisée très précocement le long de l'axe antéropostérieur, en particulier dans le rhombencéphale (Caubit et al., 2010). A partir du stade E10.5, son expression est restreinte

uniquement à des neurones postmitotiques. Dans le cerveau postérieur et la moelle épinière en développement, l'expression de TSHZ3 concerne de nombreuses populations de neurones qui dérivent de positions spécifiques le long de l'axe dorsoventral. Dans la moelle épinière comme dans le cerveau postérieur, la protéine TSHZ3 est présente dans des populations d'interneurones et dans des sous-populations de motoneurones. TSHZ3 marque des neurones postmitotiques ayant des phénotypes très divers : glutamatergiques (comme dans le noyau parafacial embryonnaire), sérotoninergiques (raphé pallidus), adrénergiques (A1/C1 et A2/C2) et exprimant la SOM (en particulier dans le complexe de Pré-Bötzinger au niveau du cerveau postérieur) (Caubit et al., 2010).

Chez l'adulte à P20, TSHZ3 est exprimée dans toutes les couches du cortex cérébral, mais ses plus hauts niveaux d'expression sont retrouvés dans les couches profondes (V-VI) et dans les couches II-III. Son expression est modérée dans l'amygdale et faible dans le thalamus et le gyrus denté de l'hippocampe (Caubit et al., 2005) (Figure 16).

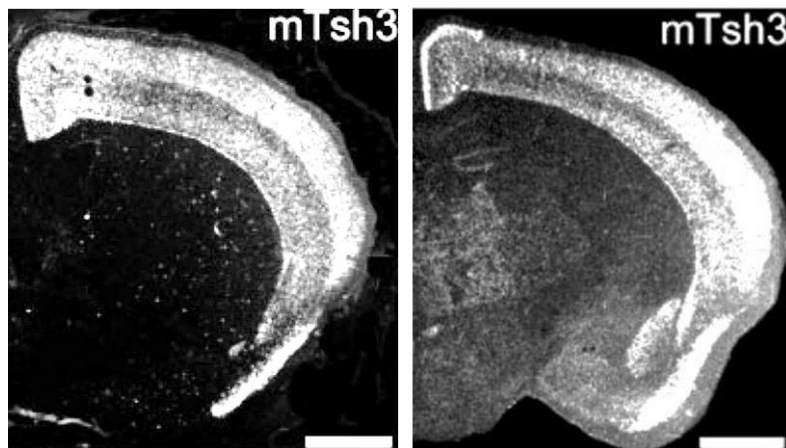


Figure 16 : Expression de *Tshz3* chez la souris à P20 révélée par hybridation *in situ*.

Les niveaux des ARNm pour *Tshz3* (mTsh3) sont élevés dans les couches corticales II-III et V-VI, modérés dans l'amygdale et faibles dans le gyrus denté de l'hippocampe et dans le thalamus. Quelques cellules sont marquées dans le striatum. Echelles : 1 mm.

(D'après Caubit et al., 2005)

L'analyse de souris *Tshz3*^{lacZ/lacZ} a permis de montrer que la protéine TSHZ3 participe à une cascade transcriptionnelle impliquée dans la différenciation des muscles lisses de l'uretère et qu'elle a une fonction dans la neurogénèse. Ces mêmes animaux meurent aussitôt après la naissance d'une insuffisance respiratoire et présentent des anomalies rénales sévères. L'analyse de leurs systèmes réno-urinaires isolés à E17.5 révèle un phénotype d'hydro-uretère (dilatation de l'uretère) et d'hydronéphrose (dilatation du rein)

par accumulation anormale de l'urine. La formation d'un hydro-uretère est la conséquence d'un défaut de transport de l'urine lié à un défaut de différenciation du muscle lisse urétéral. Cette différenciation dépend d'une cascade d'évènements dans laquelle interviennent les molécules signales SHH, BMP4 (*bone morphogenetic protein 4*) et l'activateur transcriptionnel Myocardin (MYOCD). Il a été montré que chez les souris *Tshz3^{lacZ/lacZ}*, cette cascade d'évènements est perturbée, produisant une absence de différenciation des muscles lisses qui résulte en des défauts fonctionnels de contraction de la région proximale des uretères (Caubit et al., 2008). Par la suite, un crible double hybride a permis d'identifier SOX9 comme l'un des partenaires de TSHZ3. Plus exactement, ce travail montre que TSHZ3, SOX9 et MYOCD sont co-exprimées dans les cellules progénitrices des muscles lisses de la paroi urétérale. TSHZ3, en collaboration avec SOX9, est un régulateur clé de la différenciation myogénique qui contrôle l'expression de myocardin et module l'activité de MYOCD (Martin et al., 2013).

Les souris *Tshz3^{lacZ/lacZ}* meurent à la naissance car elles sont incapables de respirer. L'acte respiratoire des mammifères est sous le contrôle d'une commande centrale localisée au niveau du bulbe rachidien qui met en jeu des générateurs de rythmes centraux permettant l'initiation et le maintien de l'activité respiratoire chez le nouveau-né. Il existe deux générateurs : le complexe pré-Bötzinger et le groupe respiratoire parafacial (GRpF). Le déroulement correct des mouvements respiratoires nécessite également une coordination et une activation finement contrôlée des muscles dit de la « pompe », comprenant le diaphragme, les intercostaux et les abdominaux, et ceux de la « valve », notamment les muscles striés du larynx et du pharynx. Ces derniers sont sous le contrôle de motoneurones localisés dans le noyau ambigu. Chez les souris *Tshz3^{lacZ/lacZ}*, des analyses en imagerie calcique réalisées au cours de l'embryogenèse ont montré que les neurones du GRpF sont incapables de générer une activité de décharge physiologique (Figure 17C). Ce défaut d'activité conduit vraisemblablement à un dysfonctionnement du générateur de rythme au cours de l'embryogenèse. De plus, des observations histologiques indiquent une réduction drastique des motoneurones qui forment le noyau ambigu chez les embryons *Tshz3^{lacZ/lacZ}* (Figure 17B) ; au stade E14.5, après leur migration, ces neurones sont perdus par apoptose. Par conséquent, le contrôle central du rythme respiratoire ainsi que le contrôle musculaire des voies aériennes supérieures ne sont pas correctement assurés chez les nouveaux nés

Tshz3^{lacZ/lacZ}, les conduisant à une mort rapide après la naissance (Caubit et al., 2010) (Figure 17).

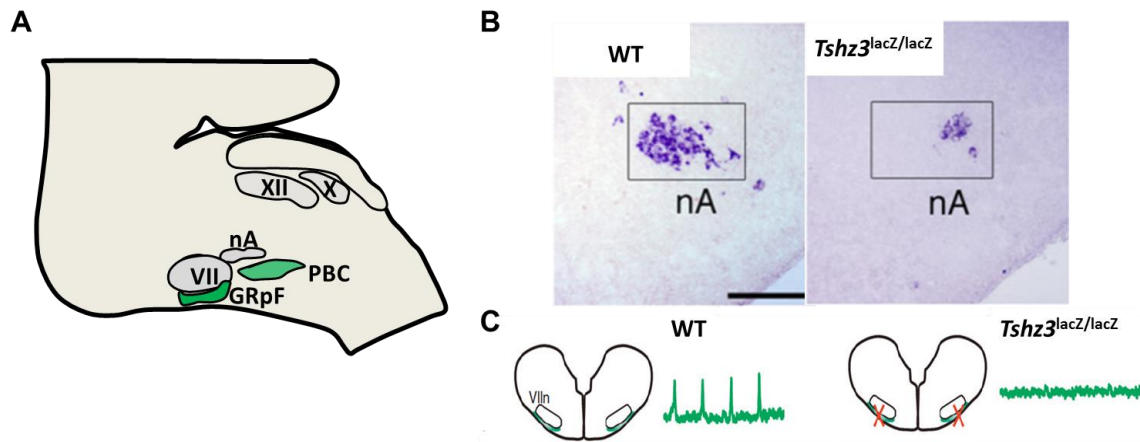


Figure 17 : Dysfonctionnement du système respiratoire chez les souris *Tshz3*^{lacZ/lacZ}.

(A) Schéma d'une coupe parasagittale de bulbe rachidien permettant la visualisation des noyaux générateurs et modulateurs du rythme respiratoire. Abréviations : nA, partie compacte du noyau ambigu ; PBC, complexe de Pré-Bötzinger ; GRpF, complexe du groupe respiratoire parafacial ; VII, noyau du nerf facial ; X, noyau du nerf vague ; XII, noyau du nerf hypoglosse.

(B) Hybridation *in situ* de la périphérine au niveau du noyau ambigu : ce noyau est quasiment totalement perdu chez les souris *Tshz3*^{lacZ/lacZ}, échelle : 100 µm.

(C) Enregistrement de l'activité électrophysiologique *pacemaker* du GRpF. Cette activité autonome est perdue chez les souris *Tshz3*^{lacZ/lacZ}.

(Adapté de Caubit et al., 2010)

V.2. *TSHZ3/Tshz3* et troubles du spectre autistique (TSA)

Des données antérieures ont associé des microdélétions 19q13.11 à un syndrome caractérisé notamment par un retard de croissance pré et postnatal, un retard mental et une microcéphalie et identifié une région critique de 324-kb comme étant la plus petite zone de recouvrement (SRO) (Kulharya et al., 1998; Malan et al., 2009; Schuurs-Hoeijmakers et al., 2009; Chowdhury et al., 2014). Toutefois, des patients ayant une microdélétion plus large ou une microdélétion ne recouvrant pas cette SRO, présentent un syndrome incluant un retard de croissance postnatal, un désordre développemental ou des déficiences intellectuelles, suggérant l'existence de gènes en dehors de la SRO qui pourraient sous-tendre les anomalies phénotypiques de ce syndrome (Chowdhury et al., 2014). Chez l'homme, le gène *TSHZ3* réside en position 19q12 (Figure 18). Le Dr. J. Andrieux (responsable du Laboratoire de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire Régional de Lille) a identifié des patients ayant des délétions hétérozygotes en position 19q12 qui contiennent *TSHZ3*. Chez un de ces patients, l'analyse de puces d'hybridation génomique comparative (*CGH array*)

indique une microdélétion affectant uniquement *TSHZ3*. Cette délétion élimine une partie de l'intron et la totalité de l'exon 2, et le patient présente un retard mental, des troubles envahissants du spectre autistique (TSA), à savoir des troubles de l'interaction sociale et des comportements répétitifs avec une restriction des champs d'intérêts (American Psychiatric Association, 2013), et des défauts du tractus rénal. D'autres patients avec une délétion en position 19q12 recouvrant la même région critique, présentent des symptômes similaires assimilables aux TSA (Figure 18). Récemment, un consortium international impliquant l'équipe Fasano et l'équipe Kerkerian-Le Goff a établi un lien entre la perte de fonction du gène *TSHZ3* et les TSA (Caubit et al., 2016).

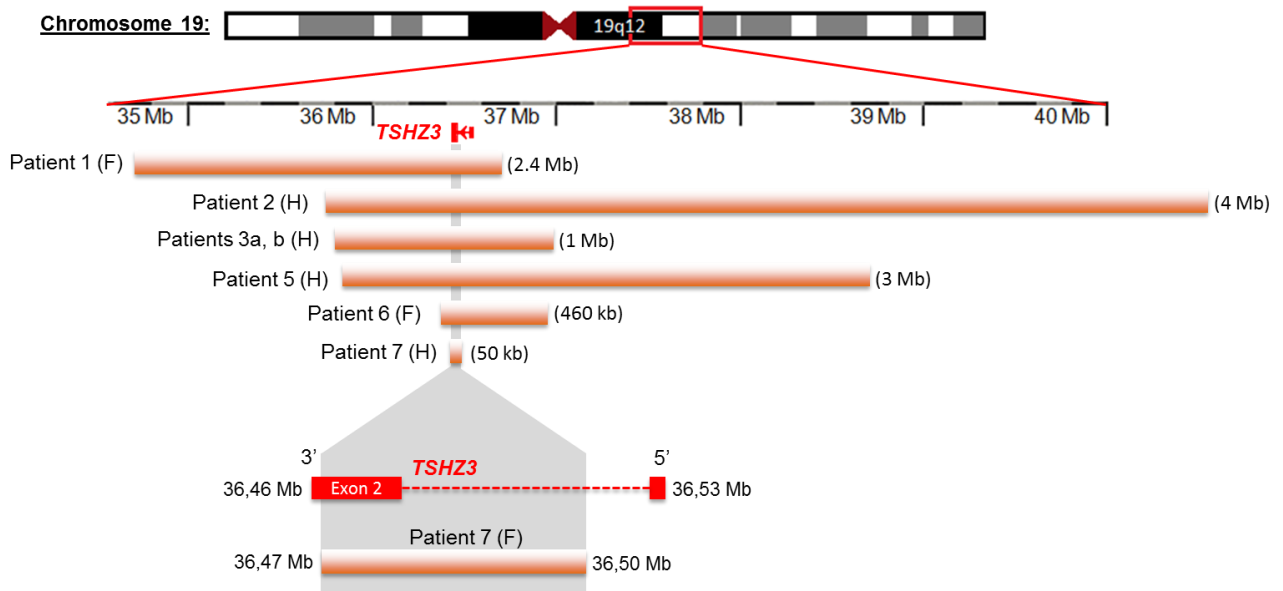


Figure 18 : Perte du gène *TSHZ3* sur la région chromosomique 19q12-q13 chez 7 patients souffrant de TSA.

Les délétions sont représentées par les barres orange. Noter que chez les patients 1 à 6 la délétion produit la perte totale de *TSHZ3* (représenté en rouge), alors que chez le patient 7 (détaillé dans l'encadré gris du bas) seulement l'exon 2 est perdu. Le patient 3 représente 2 frères (a, b) porteurs de la même délétion (H, homme ; F, femme).

(Adaptée de Caubit et al., 2016)

Les TSA, d'origine généralement génétique, regroupent un ensemble vaste et hétérogène de pathologies caractérisées par des déficits d'interactions sociales et de la communication, des champs d'intérêt restreints et des comportements répétitifs, ainsi que des troubles moteurs (Toro et al., 2010; Spooren et al., 2012; Chukoskie et al., 2013). Les anomalies de l'interaction sociale et de la communication se déclinent en des déficits de la réciprocité sociale et émotionnelle (pas ou peu d'initiation aux interactions sociales comme par exemple les conversations), de la communication non verbale (la gestuelle, le regard et

les expressions faciales) et de la compréhension des relations sociales (l'intérêt pour les autres, la création de liens amicaux et l'adaptation du comportement au contexte social). Les champs d'intérêt restreints et les patrons répétitifs des comportements se déclinent en des comportements et/ou séquences d'actions qui se répètent (stéréotypies). Cela concerne les mouvements (se taper les joues ou agiter les mains « comme pour voler »), les objets (alignements, retournements) et le langage (écholalies, ou répétitions de phrases hors de leurs contextes). Les patients atteints de TSA sont très attachés à l'immuabilité des choses, à une routine quotidienne, comme par exemple une série d'actions qu'ils réalisent tous les jours juste après leur réveil. Ils présentent un intérêt persistant pour des choses qui paraissent futiles au plus grand nombre (par exemple, un très fort attachement ou grande préoccupation pour un objet particulier, qu'ils vont sentir et toucher de manière excessive). Enfin, ils présentent une hypersensibilité aux variations des sons ou des textures et paradoxalement ils sont souvent hyposensibles à la douleur et aux variations de température (American Psychiatric Association, 2013). Le premier à avoir décrit de tels cas chez des enfants est le psychiatre américain Leo Kanner en 1943 (Kanner, 1995). De nos jours, les TSA sont considérés comme un trouble du développement et de l'apprentissage conduisant à des perturbations mentales qui persistent toute la vie.

L'étude collaborative coordonnée par les équipes Fasano et Kerkerian-Le Goff, chez l'homme et sur des modèles murins, montre l'existence d'un lien direct entre la déficience hétérozygote de *TSHZ3/Tshz3* et un sous-type de TSA (Caubit et al., 2016). Comme mentionné ci-dessus, elle identifie des patients présentant des déficits cognitifs sévères pouvant être associés aux TSA et des microdélétions localisées sur le chromosome 19 définissant une région limitée au gène *TSHZ3* ou contenant ce gène (Figure 18).

Chez l'homme, l'analyse de co-expression de réseaux de gènes réalisée pendant le développement cortical a identifiée *TBR1*, *FEZF2* et *SOX5* parmi plusieurs gènes candidats pour l'autisme, comme ayant les plus fortes interactions avec *TSHZ3*. Cinq gènes de cette analyse (*FEZF2*, *KLHL1*, *PRDM8*, *SLA* and *SLC44A5*) présentent un patron d'expression modifié chez les souris *Tshz3^{lacZ/lacZ}*. Ces données placent *TSHZ3/Tshz3* dans une position charnière au sein d'un réseau de régulation transcriptionnelle cortical associé avec les TSA (Caubit et al., 2016) et corroborent l'étude GWAS qui propose *TSHZ3* comme un gène de susceptibilité pour l'autisme (Hussman et al., 2011; Kang et al., 2011). De plus, plusieurs

études associent la fenêtre spatiotemporelle du développement des neurones glutamatergiques des couches V et VI à un ensemble de maladies génétiques faisant toutes parties des TSA (Willsey et al., 2013).

Chez l'Homme et la souris, le facteur de transcription TSHZ3 est co-exprimé au cours du développement avec différents marqueurs des couches corticales V et VI, notamment CTIP2 et TBR1 (Figure 19), et l'inactivation du gène *Tshz3* chez la souris (*Tshz3^{lacZ/lacZ}*) affecte l'expression de ces marqueurs d'identité moléculaire à un âge équivalent (Caubit et al., 2016). Des analyses de séquençage d'ARN et histologiques réalisées chez les souris *Tshz3^{lacZ/lacZ}* prénatales, montrent que *Tshz3* n'est pas requis pour la détermination et le maintien de l'organisation en couches corticales mais il apparaît nécessaire pour l'expression de marqueurs spécifiques des couches profondes et de la sous-plaque. En particulier, FEZF2 (normalement caractéristique de la couche V) serait retenu de manière aberrante dans la couche VI comme pour les modèles mutants *Sox5* (Kwan et al., 2008) et *Tbr1* (Han et al., 2011). Cependant, dans ces derniers, l'établissement des connexions entre le cortex et ses cibles est perturbé alors que ce n'est a priori pas le cas pour les embryons *Tshz3^{lacZ/lacZ}*.

Les souris hétérozygotes pour *Tshz3* (*Tshz3^{+ / lacZ}*) présentent des anomalies comportementales de type autistique ainsi que des altérations de la transmission et de la plasticité au niveau des synapses cortico-striées, soulignant le lien entre TSA et défauts de la formation et/ou du fonctionnement de ces synapses. Plus précisément, leur sociabilité est appauvrie et elles présentent une diminution d'intérêt pour la nouveauté sociale ainsi que des comportements répétitifs et une restriction de leurs champs d'intérêts. TSHZ3 semblerait donc jouer un rôle important dans la mise en place fonctionnelle des PN des couches V et VI lors du développement cortical chez l'Homme et la souris (Caubit et al., 2016).

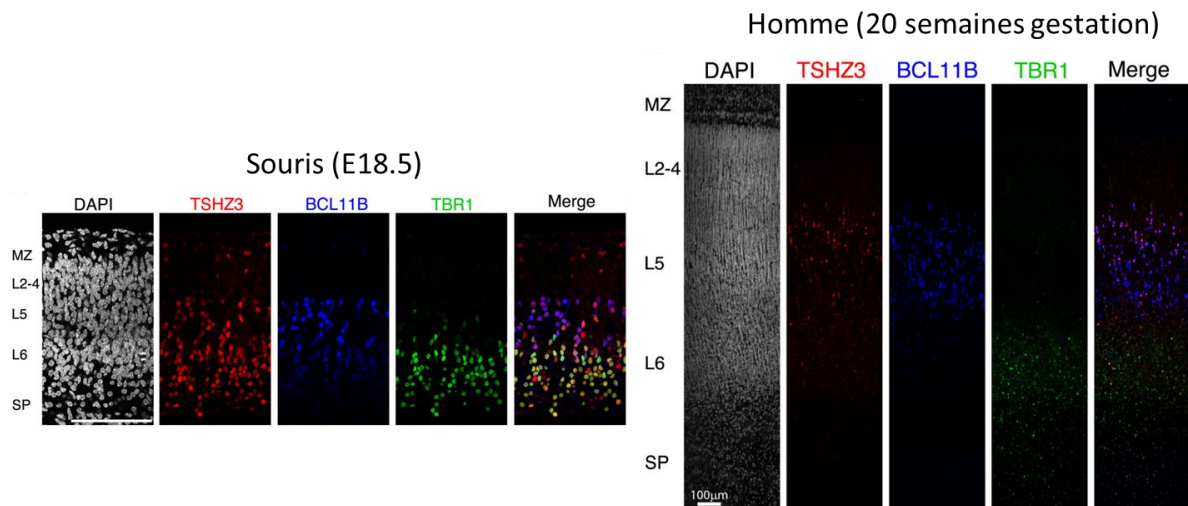


Figure 19 : Expression du facteur de transcription TSHZ3 dans les différentes couches corticales chez la souris et l'Homme au stade embryonnaire.

Chez la souris, TSHZ3 colocalise avec BCL11B (ou CTIP2, marqueur des neurones corticaux de la couche 5) et TBR1 (marqueur des neurones corticaux de la couche 6 et de la sous-plaque).

Ces co-expressions sont également observées chez l'Homme.

Abréviations : SP, sous-plaque ; MZ, zone marginale ; L2-4, couches II à IV ; L5, couche V ; L6, couche VI. Echelle : Souris, 50 µm.

(Adapté de Caubit et al., 2016)

V.3. TSA et circuits cortico-striés

De nombreuses études ont associé les TSA avec des anomalies dans les réseaux cortico-corticaux, mais aussi dans des structures sous-corticales dont le striatum, en particulier la voie cortico-striée (Di Martino et al., 2011; Maloney et al., 2013; Willsey et al., 2013).

La forme la plus commune de TSA (non syndromique) est probablement liée de façon prédominante avec un dysfonctionnement des neurones IT, alors que c'est une atteinte sévère des circuits sous-corticaux faisant intervenir les neurones PT qui est majoritairement impliquée dans les formes plus rares des troubles neurodéveloppementaux (formes syndromiques), comme le syndrome de Rett (Shepherd and Katz, 2011).

Les neurones IT projettent massivement vers le cortex et le striatum controlatéral, leurs fibres axonales représentent ainsi un composant majeur du corps calleux. Des anomalies du corps calleux, comme une diminution de densité (Just et al., 2007), un épaissement modéré du cortex (Schumann et al., 2010), ou encore des déficits de synchronisation interhémisphériques (Dinstein et al., 2011) ont été associées avec les TSA. Comme nous l'avons vu précédemment, les neurones cortico-striés participent largement aux comportements moteurs. C'est pourquoi des anomalies motrices incluant des

stéréotypies ont été associées à cette synapse. Ce sont en particulier les neurones IT qui sont pointés du doigt, sachant que les neurones PT sont plus impliqués dans le codage de la force ou de la dextérité d'un mouvement et non pas de la fréquence d'exécution du mouvement (Gowen and Hamilton, 2013).

De nombreuses études concernant l'aspect génétique des TSA démontrent l'implication des neurones cortico-striés. Des mutations des neuroligines (NLGN) ont été associées avec l'autisme, et les souris déficientes pour NLGN-1 présentent des comportements répétitifs et des perturbations de la synapse cortico-striée (diminution NMDA/AMPA) (Südhof, 2008; Blundell et al., 2010). La mutation d'une protéine postsynaptique d'échafaudage exprimée par les MSNs, SHANK3, est à l'origine d'un syndrome de type autistique associé à une délétion sur la région chromosomique 22q13. Les souris *Shank3*^{-/-} présentent des anomalies d'interactions sociales, des comportements répétitifs et d'automutilation, et les analyses électrophysiologiques révèlent une perturbation de la transmission cortico-striée (Peça et al., 2011).

Chez l'homme, des analyses génétiques ont identifiées le récepteur à activité tyrosine kinase MET comme facteur de risque pour l'autisme (Campbell et al., 2006; Judson et al., 2011) : des réponses anormales à des stimuli sociaux ainsi qu'une réduction de la connectivité cortico-corticale ont été associés à des modifications d'expression de MET (Rudie et al., 2012). MET est exprimé par les neurones IT mais pas dans les neurones PT, que ce soit chez l'homme, le primate ou la souris (Judson et al., 2009). Les souris mutantes pour *Met* présentent une hyperconnectivité des circuits excitateurs, induisant une augmentation de la force synaptique, plus marquée au niveau des neurones IT que des neurones PT (Qiu et al., 2011). Elles présentent également une altération de la morphologie des épines dendritiques des MSNs (Judson et al., 2010). Cet ensemble de données tend vers la notion selon laquelle les altérations des circuits corticaux dans les TSA non syndromiques s'expliqueraient par une hyperconnectivité locale et hypoconnectivité distale (« Théorie de la faible cohérence centrale ») (Frith, 2004; Just et al., 2007).

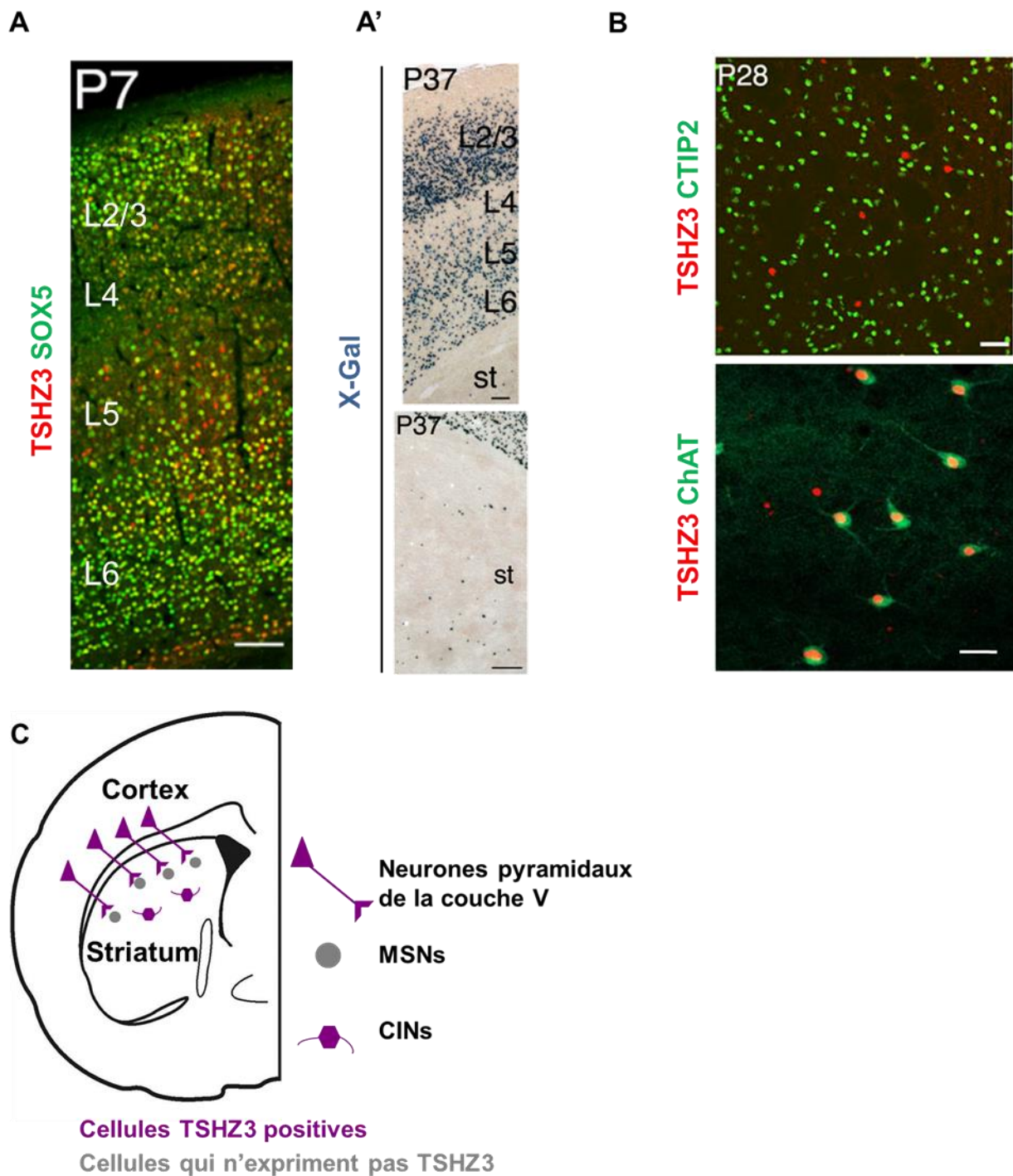


Figure 20 : Expression de TSHZ3 dans la circuiterie cortico-striée chez la souris.

(A) À P7, TSHZ3 co-localise en partie avec les neurones pyramidaux des couches II-III et V-VI exprimant SOX5. Echelle : 100µm.

(A') À P37, TSHZ3 est également exprimé dans le striatum (marquage β -galactosidase chez une souris *Tshz3^{+/lacZ}*). St, striatum ; L2/3, couches II et III ; L4, couche IV ; L5, couche V ; L6, couche VI Echelle : 200 µm (haut), 100 µm (bas).

(B) Dans le striatum, TSHZ3 colocalise avec la ChAT (marqueur des CINs) mais pas avec CTIP2 (marqueur des MSNs). Echelles : 50 µm (haut), 100 µm (bas).

(C) Schéma d'une hémicoupe coronale de cerveau de souris montrant les neurones pyramidaux de la couche V du cortex projetant à travers le corps calleux et formant des connexions avec les MSNs du striatum. TSHZ3 est exprimé par les neurones pyramidaux corticaux et par les CINs, mais pas par les MSNs.

Dans ce contexte, au sein de la circuiterie cortico-striée, il est intéressant de noter que TSHZ3 est exprimé par les neurones des couches V et VI (chez l'Homme et la souris) et II-III (chez la souris) (Figures 20A, C). Dans le striatum, les cibles des neurones pyramidaux de la couche V, les MSNs, ne l'expriment pas (Caubit et al., 2016) (Figures 20A, B), alors que les données qui seront présentées par la suite dans ce manuscrit montrent une expression de TSHZ3 dans la plupart des CINs du striatum (Figure 20B).

L'objectif du travail présenté ici est d'approfondir les connaissances sur les liens existants entre *Tshz3* et les TSA, en évaluant son implication dans la fonctionnalité de la circuiterie cortico-striée, incluant les CINs.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. LES MODÈLES ANIMAUX

Dans le but d'étudier le rôle de *Tshz3* dans des populations neuronales spécifiques, ou à certaines phases du développement pré- et postnatal, l'équipe de L. Fasano à l'IBDM a créé de multiples modèles murins présentant des délétions du gène *Tshz3*. L'hypothèse de travail était que les éventuelles modifications observées à ces différents niveaux, dues à la perte de *Tshz3*, pourraient être impliquées dans les TSA.

Dans ce contexte, le but de cette étude était d'étudier l'impact de la délétion de *Tshz3* dans la circuiterie cortico-striée : nous avons utilisé deux modèles *knock-out* conditionnels permettant l'invalidation du gène *Tshz3*, soit dans les neurones de projection au cours du développement postnatal à partir de P2-P3 (1), soit dans les cellules cholinergiques à partir du stade embryonnaire E11 (2). Pour cela, des souris contenant un site *Lox P* de chaque côté de l'exon 2 du gène *Tshz3* (*Tshz3^{flox/flox}*) ont été croisées avec des souris exprimant la Cre recombinase sous le contrôle de différents promoteurs, comme expliqué ci-dessous. Le fond génétique de ces souris est le C57Bl/6.

1 – Dans le premier modèle, la Cre recombinase est exprimée sous le contrôle du promoteur de la calcium calmoduline kinase IIa (CaMKIIa), qui est exprimée dans les neurones de projection à partir de P2-P3 (Casanova et al., 2001). Il se trouve que *Tshz3* n'est exprimé que par des neurones de projections de nature glutamatergiques (Caubit et al., 2005), donc la perte de *Tshz3* dans ce modèle concerne notamment les neurones de projection du cortex. C'est pour ces raisons que ce modèle a été nommé *Tshz3-pnCxKO* (postnatal cortex KO).

2 – Dans le deuxième modèle, la Cre recombinase est exprimée sous le contrôle du promoteur de la choline acétyl transférase (ChAT), qui est exprimée dès les phases précoces (début à E11) du développement embryonnaire (Semba and Fibiger, 1988). Ce modèle est donc appelé *Tshz3-ChATCre*.

Pour les deux modèles, le contrôle consiste en des souris *Tshz3^{flox/flox}* qui n'ont pas été croisées avec des souris qui expriment la Cre recombinase : elles sont donc nommées Cre- (Figure 21).

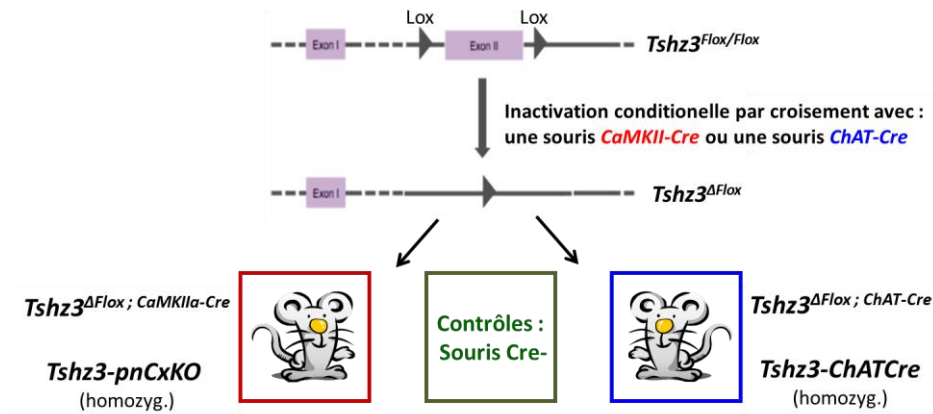


Figure 21 : Modèles murins de délétion du gène *Tshz3*.

Le modèle de KO conditionnel a été généré par l'insertion d'un site Lox P de part et d'autre de l'exon 2 du gène *Tshz3*. Ces souris « floxées » (*Tshz3*^{Flox/Flox}) sont ensuite croisées avec une souris exprimant la Cre recombinase sous le contrôle du promoteur : i) *CaMKIIa* (calmoduline kinase IIa), exprimé par les neurones de projection (la souris n'exprime plus *Tshz3* dans les neurones pyramidaux à partir de P2-P3) ; ii) ou *ChAT* (choline acétyltransférase), exprimée par toutes les cellules cholinergiques.

Les souris sont maintenues dans la salle de stabulation de l'animalerie A1+ de l'IBDM (N° d'agrément : C 13-055-21) à température constante (22°C) selon un cycle jour/nuit de 12h avec un accès *ad libitum* à l'eau et à la nourriture. Les animaux (mâles et femelles) sont âgés de 3 semaines à 2 mois lors des expériences. Les procédures expérimentales pratiquées dans cette étude, respectent les réglementations protégeant les animaux utilisés à des fins de recherche, approuvées par le Comité d'éthique de Marseille enregistré sous le numéro 14 (décision d'autorisation n°45-29102012). Les actes chirurgicaux ont été réalisés sous anesthésie par des personnes habilitées.

II. ÉLECTROPHYSIOLOGIE

II.1. Préparation des tranches pour l'électrophysiologie

Toutes les expériences d'électrophysiologie ont été menées chez des souris âgées de 3-4 semaines (P21-28) et identifiées par génotypage (par l'équipe Fasano). Le cerveau est coupé en tranches coronales de 250 μm d'épaisseur, obtenues à l'aide d'un vibratome (Leica VT 1000S). Les tranches sont conservées le temps de la coupe dans une solution de choline maintenue entre 0°C et 4°C et contenant : choline (126 mM), KCl (2.5 mM), NaH_2PO_4 (1.2 mM), NaHCO_3 (25 mM), MgCl (7 mM), glucose (6.3 mM), CaCl_2 (0.5 mM), bullée avec du carbogène (95% O_2 , 5% CO_2). Les tranches sont ensuite placées dans une solution de liquide cérébro-spinal artificiel (ACSF) contenant : NaCl (126 mM), KCl (2.5 mM), NaH_2PO_4 (1.2 mM), MgCl_2 (1.2 mM), CaCl_2 (2.4 mM), NaHCO_3 (25 mM), glucose (11 mM), pyruvate de sodium (5 mM) et acide kynurénique (0.25 mM) maintenue à température ambiante et bullée avec du carbogène.

II.2. Électrophysiologie en patch-clamp et analyse des données

Les tranches sont placées dans la chambre d'enregistrements du poste d'électrophysiologie et perfusées en continu (2-3 ml/min) par une solution d'ACSF (comme décrite précédemment mais sans pyruvate de sodium ni acide kynurénique) saturée en carbogène. Les neurones sont visualisés grâce à un microscope (Olympus BX51WI) à infrarouge équipé d'une caméra digitale (Hitachi). La microélectrode d'enregistrement est pilotée par un micromanipulateur électrique (Sutter MPC-200). Les données sont acquises et enregistrées grâce à un amplificateur (Axon Instruments AxoPatch 200B,) couplé à un ordinateur utilisant le logiciel pClamp 10.2 (Axon Instruments). La stimulation des fibres présynaptiques est obtenue à l'aide d'un stimulateur (Grass Instruments S88), d'une unité d'isolation à voltage constant (Grass Instruments SIU5) et d'une électrode bipolaire en tungstène pilotée par un micromanipulateur mécanique (ASI MX130L).

Les neurones sont enregistrés en patch-clamp, en configuration cellule attachée (*cell-attached*) et/ou cellule entière (*whole-cell*). La pipette d'enregistrement contient une

solution de K-gluconate (125 mM), NaCl (10 mM), CaCl₂ (1 mM), MgCl₂ (2 mM), 1,2-bis (2-aminophenoxyethane-N,N,N,N-tetraacetic acid (BAPTA, 0.5 mM), acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique (HEPES, 19 mM), guanosine triphosphate (GTP, 0.3 mM), Mg-adenosine triphosphate (Mg-ATP, 1 mM), ajustée à pH 7.3 avec une solution de KOH. Pour les expériences de plasticité synaptique corticale et de mesure du ratio NMDA/AMPA, les neurones ont été enregistrés avec une solution de CsMeSO₃ (126 mM), HEPES (10 mM), EGTA (1 mM), QX-314 chlorure (2 mM), CaCl₂ (0.1 mM), MgATP (4 mM), Na₃GTP (0.3 mM), Na₂phosphocréatine (8 mM), ajustée à pH 7.3 avec une solution de CsOH. La configuration en *whole-cell* nous a permis d'enregistrer les propriétés membranaires du neurone (modalité *current-clamp*) ainsi que les courants (modalité *voltage-clamp*) dus à l'activation des récepteurs ionotropiques du glutamate et du GABA. Les enregistrements ont été effectués en présence de picrotoxine (PTX, 50 µM) afin de bloquer la transmission synaptique GABAergique, sauf quand nous avons étudié la transmission synaptique GABAergique (dans ce cas, les enregistrements étaient effectués en présence de 10 µM de CNQX et 10 µM d'AP-5).

Les neurones enregistrés sont maintenus à un potentiel avoisinant leurs potentiels de repos (autour de -80 mV pour les MSNs du striatum et -60 mV pour les neurones pyramidaux de la couche V du cortex). La résistance en série ainsi que l'état du *seal* (le "scellement" entre la microélectrode de patch-clamp et la membrane neuronale) sont régulièrement vérifiés pendant toute la durée de l'enregistrement par des créneaux 5 mV, et les neurones avec une résistance en série variable de 20% ou plus et/ou avec un *seal* instable ont été exclus de l'étude. Différents protocoles ont été appliqués afin d'étudier et de mesurer les propriétés de membrane, le niveau d'activité et la plasticité (à court et long terme) des neurones.

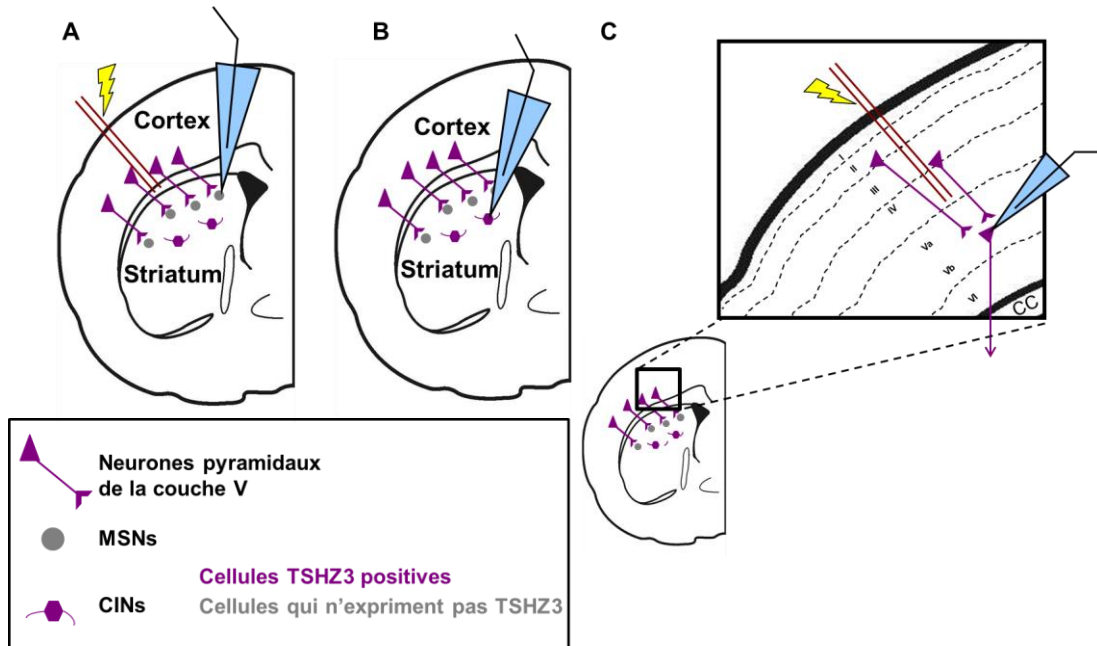


Figure 22 : Schémas des différents enregistrements électrophysiologiques à différents niveaux de la circuiterie cortico-striée.

(A, B, C) Hémicoupe coronale de cerveau de souris montrant les neurones pyramidaux du cortex (couche V) projetant à travers le corps calleux et formant des connexions avec les MSNs du striatum. Les CINs sont aussi représentés. L'électrode de patch-clamp est représentée en bleu, alors que l'électrode de stimulation bipolaire est en rouge.

(A) Enregistrement des MSNs striataux et stimulation de la voie cortico-striée.

(B) Enregistrement des CINs striataux.

(C) Enregistrement des neurones pyramidaux de la couche V et stimulation des afférences (en partie issues des neurones des couches II-III).

→ Enregistrement de l'activité spontanée et "miniature"

L'activité spontanée, ou sEPSCs (*spontaneous excitatory postsynaptic currents*), est enregistrée en continu pendant 1-3 minutes, en absence de stimulation présynaptique, afin d'étudier les réponses synaptiques dues à la libération spontanée de glutamate par les terminaisons présynaptiques. Ce type d'activité est dû à la libération de glutamate par les neurones présynaptiques, à la fois dépendante et indépendante des PAs.

L'activité "miniature" ou mEPSCs (*miniature EPSCs*) est également enregistrée en continu pendant 1-3 minutes, toujours en absence de stimulation présynaptique, mais en présence de tétrotoxine (TTX, 1 mM) afin de bloquer les canaux sodiques voltage-dépendants et les PAs. Les mEPSCs sont donc dus exclusivement à la libération spontanée de glutamate indépendante des PAs.

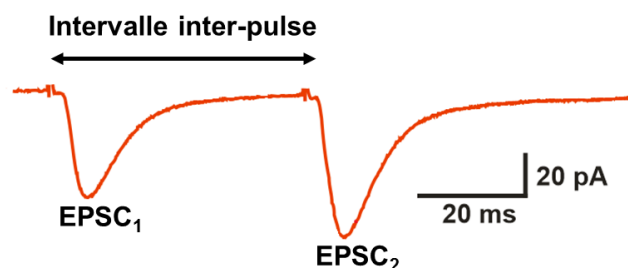
Les enregistrements sont ensuite filtrés avec le logiciel pClamp 10.2 et analysés à l'aide du logiciel MiniAnalysis 6.0 (Synptosoftware), afin de mesurer l'amplitude et la fréquence

des sEPSCs et des mEPSCs, ainsi que l' « *inter-event interval* » (l'intervalle de temps qui sépare deux sEPSCs ou mEPSCs consécutifs).

→ ***Paired-pulse ratio***

Le *paired-pulse ratio* (PPR) est une forme de plasticité à court terme, induite par deux stimulations consécutives et rapprochées (quelques dizaines de ms) des fibres. Sa mesure permet d'évaluer la probabilité de libération de neurotransmetteur PA-dépendante. Le PPR est calculé comme le rapport entre l'amplitude du deuxième EPSC sur le premier ($EPSC_2/EPSC_1$) (Figure 23). Ainsi, un $PPR > 1$ ($EPSC_2$ plus grand que $EPSC_1$) suggère que le 2ème EPSC a été facilité par le 1er (on parle ici de *paired-pulse facilitation*) ; en d'autres termes, plus PPR est élevé, plus la probabilité de libération du glutamate par les terminaisons présynaptiques est réduite (Zucker and Regehr, 2002). Dans notre cas, le but n'était pas d'évaluer la probabilité de libération "absolue", mais de comparer celle des souris mutantes avec celle des contrôles. Nous avons appliqué le même protocole pour mesurer le PPR des synapses GABAergiques du cortex, en mesurant les courants postsynaptiques inhibiteurs ou IPSCs (*inhibitory postsynaptic currents*).

Dans notre protocole, les intervalles entre les deux stimulations sont de 20, 40, 80, 160 et 320 ms. Pour chaque intervalle de temps, 5 à 6 enregistrements sont effectués et le PPR est calculé sur la moyenne de ces enregistrements. L'amplitude est mesurée grâce au logiciel pClamp 10.2 et les données sont intégrées dans un classeur Excel afin de calculer le PPR pour chaque intervalle.



$$PPR = \frac{\text{Amplitude de l'EPSC}_2}{\text{Amplitude de l'EPSC}_1}$$

Figure 23 : Protocole de mesure du *paired-pulse ratio* pour un intervalle de 40 ms.

Exemple d'un tracé obtenu avec un protocole de deux stimulations consécutives (intervalle 40 ms) afin d'étudier le *paired-pulse ratio* (PPR). Le PPR est le rapport entre l'amplitude du $EPSC_2$ sur l' $EPSC_1$. On observe ici une *paired-pulse facilitation* (PPF), c'est à dire que l'amplitude de l' $EPSC_2$ est plus importante que l' $EPSC_1$. : dans ce cas, le PPR est > 1 , indiquant que l' $EPSC_2$ est facilité par l' $EPSC_1$.

→ **Induction de la LTD et de la LTP cortico-striée**

La LTD dans le striatum est induite par 3 trains de stimulation d'une fréquence de 100 Hz ; chaque train de stimulation dure 3 s et est espacé de 20 secondes de repos, et tout le long du protocole le neurone est maintenu à -80 mV (Figure 24A). La LTP est induite par le même type de stimulation, mais chaque train est accompagné par une dépolarisation visant à porter le potentiel de membrane du neurone à -20/-30 mV, afin de permettre l'activation des récepteurs NMDA (Figure 24B). Les EPSCs de contrôle sont enregistrés pendant 5 min (à raison d'une stimulation toutes les 20 sec) afin d'établir une amplitude de référence, et les EPSCs post-protocole pendant, idéalement, au moins 25 min afin d'analyser leurs changements d'amplitude à long terme (toujours à raison d'une stimulation toutes les 20 secondes). Chaque enregistrement est ensuite analysé grâce au logiciel pClamp 10.2 et via des tableaux Excel. L'amplitude des EPSCs est normalisée par rapport à la moyenne de l'amplitude des EPSCs de référence (contrôle), puis la moyenne de 3 EPSCs successifs est calculée afin d'avoir 1 point par min et obtenir un graphique du décours temporel de l'expérience.

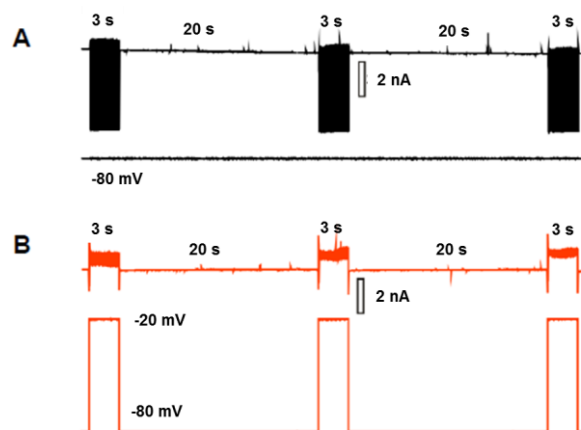


Figure 24 : Protocoles d'induction de la LTD et la LTP cortico-striée.

(A) Protocole d'induction de la LTD (noir) : le tracé du haut montre l'effet sur le courant (modalité voltage-clamp) des 3 trains de stimulation de la voie cortico-striée, chacun d'une durée de 3 s, appliqués à une fréquence de 100 Hz pendant 3 s, avec 20 secondes d'intervalle entre chaque train. Le tracé du bas représente le potentiel de membrane du MSN, ici maintenu à -80 mV.

(B) Protocole d'induction de la LTP (rouge) : le protocole est identique à la LTD, à la différence que le MSN est dépolarisé à -20/-30 mV en même temps que les trains de stimulation, dans le but de lever l'inactivation des récepteurs NMDA due à l'ion Mg^{2+} .

→ Induction de la LTD et de la LTP corticale

La LTP dans la couche V du cortex est théoriquement obtenue en effectuant un protocole de *pairing*, c'est-à-dire des stimulations présynaptiques (2 Hz, 360 *pulses*) chacune couplée à une dépolarisation postsynaptique au potentiel de +10 mV. Suivant le même principe de *pairing*, la LTD corticale s'obtiendrait par une stimulation présynaptique à basse fréquence (1 Hz, 200 *pulses*) en dépolarisant simultanément le neurone pyramidal à -30 mV (Guo et al., 2015) (Figure 25).

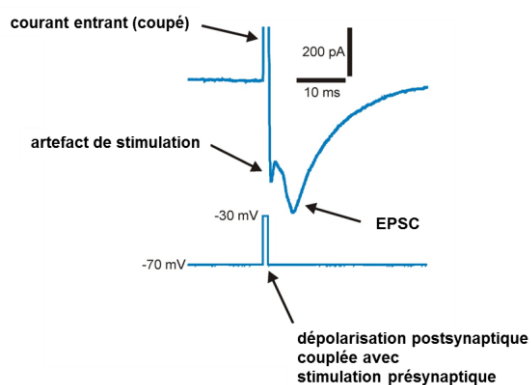


Figure 25 : Protocole d'induction de la LTD corticale.

Ce protocole consiste en la stimulation des fibres afférentes appariée à la dépolarisation (de -70 à -30 mV) du neurone pyramidal de la couche V enregistrée (*pairing*) ; cela est répété 200 fois à une fréquence de 1 Hz (selon Guo et al. 2016).

→ Ratio NMDA/AMPA

Les neurones sont maintenus à un potentiel de -60 mV, potentiel auquel l'EPSC observé suite à la stimulation des fibres présynaptiques est uniquement dû à l'activation des récepteurs AMPA. Le neurone est ensuite amené à un potentiel de +40 mV, afin de permettre l'activation des récepteur NMDA : l'EPSC alors observé est constitué de 2 composantes, AMPA et NMDA (Figure 26). 5 à 6 enregistrements sont effectués à -60 mV et autant à +40 mV. L'amplitude des réponses à chaque potentiel est moyennée et ensuite mesurée grâce au logiciel pClamp 10.2. Afin de déterminer la composante de l'EPSC due aux récepteurs AMPA, l'amplitude est mesurée à -60 mV au pic de la réponse. Pour déterminer la composante de l'EPSC due aux récepteurs NMDA, l'amplitude est mesurée à +40 mV et 40 ms après l'artefact de stimulation, temps à partir duquel on estime la totalité de la composante AMPA disparue (Figure 26, rond gris en haut). Les données sont finalement intégrées dans un classeur Excel afin de déterminer le rapport entre la composante NMDA et

AMPA (ratio NMDA/AMPA). Ce protocole permet d'effectuer ce type de mesures sur le même neurone et sans ajouter des antagonistes sélectifs des récepteurs AMPA et NMDA.

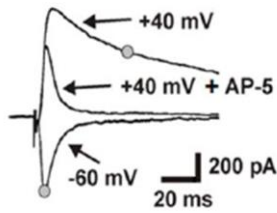


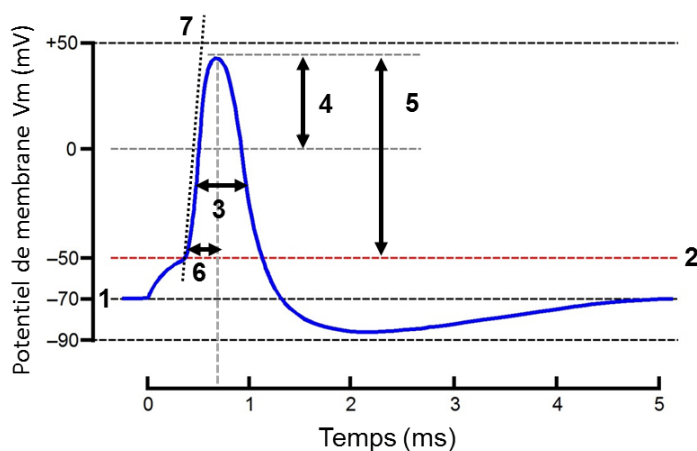
Figure 26 : Protocole de mesure du ratio NMDA/AMPA.

Exemple d'un tracé représentant des EPSCs évoqués dans un MSN par stimulation de la voie cortico-striée, enregistrés à -60 mV (composante due à l'activation des récepteurs AMPA) et à +40 mV (composante due à l'activation des récepteurs AMPA+NMDA). En effet, en présence d'AP-5 (antagoniste des récepteurs NMDA), on perd la composante NMDA : la réponse observée ne met en jeu que les récepteurs AMPA et est similaire (mais inversée) à celle enregistrée à -60 mV. Les points gris montrent à quel moment la composante AMPA (à -60 mV) et la composante NMDA (à +40 mV) des EPSCs ont été mesurées (en l'absence d'antagonistes). On considère qu'à +40 ms après le stimulus la composante AMPA est négligeable, donc on ne mesure que la composante NMDA.

→ Propriétés de membrane et excitabilité

Au cours de certaines expériences, nous avons enregistré les propriétés de membrane des neurones pyramidaux du cortex (couche V) et des CINs en modalité courant imposé (*current-clamp*). En particulier, le potentiel de repos, la relation courant-voltage (relation i-V), la résistance membranaire et des paramètres du PA (Figure 25). Le potentiel de repos a été mesuré en correspondance d'une injection de courant égale à zéro.

La relation i-V a été réalisée en injectant des courants négatifs (hyperpolarisants) et positifs (dépolarisants) en incréments de 50 pA à partir de -200 jusqu'à +300 pA. La résistance membranaire correspond à la pente de la droite qui relie au mieux les points de la relation i-V. La rhéobase est définie comme l'intensité de courant minimale permettant de déclencher un potentiel d'action et elle est mesurée dans chaque neurone, en réponse à l'injection de courants positifs d'amplitude progressivement croissante.



- 1 : potentiel de repos du neurone.
- 2 : seuil de déclenchement du PA.
- 3 : largeur du PA à la moitié de son amplitude maximale (half width).
- 4 : valeurs positives (overshoot) du PA.
- 5 : amplitude maximale (pic) du PA.
- 6 : temps écoulé entre le dépassement du seuil et le pic du PA (time-to-peak).
- 7 : pente (slope) du PA du seuil au pic.

Figure 27 : Mesures effectuées sur le potentiel d'action (PA).

→ **Régularité de la décharge des CINs**

Nous avons enregistré l'activité de décharge spontanée des CINs en configuration *cell-attached* et *whole-cell* sur les mêmes cellules. Par contre, seulement environ deux tiers des enregistrements en *cell-attached* permettaient de mettre en évidence de l'activité de décharge spontanée. Les intervalles inter-PA sont mesurés et analysés à l'aide du logiciel MiniAnalysis 6.0 (Synaptosoft), et le coefficient de variation (CV) est calculé sur un tableur Excel, en faisant le rapport entre l'écart type et la moyenne des valeurs des intervalles inter-PAs pour un même enregistrement.

III. IMMUNO-DÉTECTION

III.1. Principe

L'immunohistochimie permet la détection de protéines grâce à l'utilisation d'anticorps (AC) primaires qui reconnaissent de manière spécifique la protéine d'intérêt. La détection est généralement amplifiée à l'aide d'anticorps secondaires qui sont couplés à un fluorophore et qui reconnaissent de manière spécifique l'anticorps primaire.

III.1.a. Préparation des tissus

→ Tissus perfusés

Les animaux (P20-30) sont dans un premier temps anesthésiés à l'aide d'une injection intrapéritonéale d'une solution de xylazine (Rompun, 10 mg/kg) et de kétamine (Imalgène 500, 75 mg/kg) (ou Kéta/Xyla). Lorsque les souris sont profondément endormies et ne présentent plus aucun réflexe, la cage thoracique est ouverte et une seringue est insérée dans le ventricule cardiaque gauche. Après incision de l'oreillette droite, 5 ml de NaCl 0.9% puis 30 ml de paraformaldéhyde (PFA, Sigma Aldrich) 4% sont perfusés lentement à l'aide d'une pompe (Pharmacia Fine Chemicals) à un débit de 5 ml/min. La PFA est diluée dans du tampon phosphate (TP) 0.12 M (1 L de TP est composé de : 500 ml de K_2HPO_4 , 0.2 M ; 100 ml de NaH_2PO_4 , 0.2 M ; 400 ml d' H_2O). Les cerveaux sont ensuite prélevés et post-fixés 1 jour dans de la PFA 4% à 4°C puis incubés puis dans une solution de TP contenant 30% de sucrose (Sigma Aldrich) permettant de cryoprotéger les tissus. Les cerveaux sont ensuite congelés dans la carboglace pilée. Enfin ils sont coupés en tranches coronales (40 à 70 μm) à l'aide d'un cryostat (Leica CM3050) au niveau du striatum et les coupes sont récupérées une à une de manière sériée dans des plaques de 24 puits contenant une solution d'antigel glycérol (pour 400 ml : 0.628 g de NaH_2PO_4 ; 2.18 g de Na_2HPO_4 ; 160 ml d' H_2O ; 120 ml d'éthylène glycol ; 120 ml de glycérol). Elles sont ensuite conservées à -20°C jusqu'au moment du marquage.

Anticorps primaires	Région	Anticorps secondaires
Anti- β -galactosidase (lapin, 1/1000, Cappel)	Str, nBM, MS, PPT	âne anti-lapin alexa 555 (1/500, Invitrogen, France)
Anti-cholineacétyltransférase (chèvre, 1/100, Millipore)	Str, nBM, MS, PPT	âne anti-chèvre alexa 488 (1/500, Invitrogen) ou âne anti-chèvre alexa 555 (1/500, Invitrogen)
Anti-TSHZ3 (cochon d'inde, 1/2500, don de A.Garratt, Berlin)	Str, Cx	âne anti-cochon d'inde alexa 555 (1/1000, Invitrogen)
Anti-sous unité B de la toxine cholérique (chèvre, 1/1000, Biological Lab)	Str, Cx	âne anti-chèvre alexa 555 (1/1000, Life Technologies)
Anti-NeuN (souris, 1/500, Mab377 Millipore)	Cx	chèvre anti-souris alexa 488 (1/1000, Molecular probes)
Anti-BCL11B (CTIP2, rat, 1/1000, Abcam)	Cx	chèvre anti-rat alexa 488 (1/1000, Molecular probes)
Anti-GFP (lapin, 1/500, Invitrogen)	Str	âne anti-lapin 488 (1/500, Invitrogen)

Tableau I : Liste des anticorps primaire et secondaire utilisés.

→ Tissus non perfusés (tissus frais)

Après sacrifice des animaux (P7 à P20) et ouverture de la boîte crânienne, les cerveaux sont rapidement enfouis dans la carboglace pilée, puis conservés à -80°C . Ils sont ensuite coupés au cryostat (14 à 20 μm) et directement récupérées sur lame *superfrost* qui sont préservées à -80°C . Pour l'immunodétection de TSHZ3, les lames sont décongelées et rapidement immergées dans une solution de PFA 4% pendant 15 minutes.

Que les tissus soient perfusés ou seulement fixés, les protocoles d'immuno-détection sont appliqués de la même façon (sur lame ou dans des puits).

III.1.b. Protocoles d'immunomarquages

Les coupes sont rincées toute une nuit afin de retirer l'antigel dans lequel elles sont conservées. Elles sont ensuite perméabilisées par incubation dans du TPT (TP 0.4 % triton ; sigma Aldrich) pendant 30 min. Afin de bloquer les sites aspécifiques, les coupes sont plongées dans du TPT contenant de l'albumine de sérum bovin 5 % (BSA, Sigma Aldrich) pendant 1 heure. Elles sont incubées pendant une à trois nuits (selon l'anticorps primaire) à

température ambiante dans une solution contenant l'anticorps primaire dilué dans une solution de TPT contenant de la BSA 1% (Tableau I). Le lendemain, les coupes sont rincées dans du TP (4X10 min) puis sont incubées pendant 1h30 dans une solution TPT/1% BSA contenant l'anticorps secondaire approprié (Tableau I). Les coupes sont à nouveau rincées dans du TP et sont montées sur lames gélatinées avec du *Fluorsave Reagent* (Calbiochem), permettant une bonne conservation de la fluorescence. Elles sont conservées à 4°C à l'abri de la lumière.

A la fin de certains protocoles d'immuno-détection, les coupes sont contre-colorées au DAPI (4',6-diamidino-2-phénylindole, fluorescent et se liant aux bases azotées de l'ADN), en les plongeant pendant 5 min dans une solution à une concentration de 1 mM.

L'observation des coupes a été réalisée sur un microscope à épifluorescence ou confocal (LSM 780) et les images ont été acquises avec le logiciel *Zen* (Zeiss). Les coupes immunomarquées ont été analysées à l'aide d'un analyseur d'image (*Explora Nova*) afin de quantifier le nombre de CINs présents dans le striatum après délétion du gène *Tshz3*. Après avoir tracé le contour de la structure d'intérêt (striatum dorsal), on effectue un pointage manuel des cellules immuno-positives. La quantification du nombre de cellules identifiées dans la région d'intérêt est réalisée grâce au logiciel *Mercaptor*. Le nombre de cellules quantifiées est rapporté à la surface striatale précédemment délimitée afin de déterminer une densité de cellules par mm².

Pour la quantification des cellules dans le cortex, les cellules marquées sont comptées dans des surfaces de 250 µm² choisies aléatoirement dans les couche V, VI et les couches II-III (voir aussi ci-dessous). Le comptage des cellules NeuN (*Neuronal Nuclei*) positives a été effectué sur 29 coupes issues de 4 souris par génotypes et les cellules BCL11B (B-cell lymphoma/leukemia 11B) positives ont été comptées à partir de 32 coupes issues de 3 souris par génotype. Le nombre de cellules a été déterminé de manière automatique grâce au logiciel *ImageJ*.

Concernant les données d'évaluation de la colocalisation de TSHZ3 et de la ChAT dans les noyaux cholinergiques de l'encéphale, nous avons rencontré des problèmes techniques pour la détection de TSHZ3 sur tissu fixé, qui est cependant une condition nécessaire pour la détection optimale de la ChAT. L'équipe Fasano ayant déjà montrée que le patron d'expression de la β-galactosidase est équivalent au patron d'expression de TSHZ3 chez les

souris *Tshz3^{+/-lacZ}* (Caubit et al., 2008, 2010), nous nous sommes donc servis de ce modèle pour évaluer l'expression de TSHZ3 dans les différents noyaux cholinergiques. Nous estimons la colocalisation en faisant le rapport entre le nombre de cellules doublement positives (β -galactosidase/ChAT) sur le nombre total de cellules ChAT positives. Cette évaluation est réalisée sur des clichés acquis au microscope confocal.

IV. LA CHIRURGIE STÉRÉOTAXIQUE

Les souris (P30) ont été anesthésiées à l'aide d'une injection intrapéritonéale d'un mélange de Kéta/Xyla. Cet anesthésique permet un endormissement rapide et de courte durée compatible avec la durée des interventions pratiquées dans ce projet. L'animal est fixé sur un appareil de stéréotaxie (David Kopf) et placé pendant toute la durée de l'opération sur un disque chauffant afin d'éviter l'hypothermie. Le scalp est ensuite incisé le long de la ligne médiane et une petite trépanation est réalisée au-dessus de la zone d'intérêt en utilisant les coordonnées stéréotaxiques appropriées (Paxinos G and Franklin KBJ, 2001). Un injecteur métallique (30 gauge, Phymep) est monté sur un bras stéréotaxique est ensuite descendu à travers cette ouverture. Après 3 min d'attente, la solution souhaitée est alors injectée à un débit de 0.3 $\mu\text{l}/\text{min}$ à l'aide d'une seringue Hamilton de 10 μl . Cette seringue est reliée à l'injecteur par un cathéter et montée sur une micropompe motorisée (KD Scientific USA). L'injecteur est ensuite remonté au moins 3 min après la fin de l'injection afin de limiter la diffusion de la substance injectée.

Afin de visualiser les neurones cortico-striés, une injection de 0.3 μl de toxine cholérique (sous-unité B, CT-B 1 mg/ml ; Thermo Fischer Scientific) dans le striatum dorsal est pratiquée comme décrit ci-dessus, suivant des coordonnées déterminées à partir du bregma à l'aide de l'atlas stéréotaxique : AP (antéro-posteriorité) : +1 mm, L (latéralité) : +1.8 mm, DV (dorso-ventral) : -2.9 mm par rapport à la dure-mère (Paxinos G and Franklin KBJ, 2001). 10 jours après l'injection (temps nécessaire au transport rétrograde optimal de la toxine), les animaux sont perfusés et la détection de la sous-unité B de la toxine cholérique est obtenue par un marquage immunohistochimique (voir protocole ci-dessus) utilisant un AC primaire adéquat (voir table I).

A la fin de chaque expérimentation stéréotaxique, des sutures sont effectuées au niveau de l'incision pratiquée. Le réveil des souris a lieu dans une cage munie d'un tapis chauffant. Lorsque l'animal est complètement réveillé, il retourne dans l'animalerie. Un suivi postopératoire est alors effectué pendant quatre jours pendant lesquels l'état général de l'animal ainsi que son poids sont surveillés.

V. LA MICRODIALYSE INTRACÉRÉBRALE

V.1. Principe et mise en place

La microdialyse intracérébrale est une technique qui permet le recueil de composés endogènes présents dans le milieu extracellulaire du tissu cérébral. L'extrémité de la sonde de microdialyse est composée d'une membrane semi-perméable au travers de laquelle va s'effectuer un échange osmotique entre du liquide céphalo-rachidien (LCR) synthétique (le LCR synthétique de base est appelé LCR « classique », Tableau II) et le LCR endogène (agrandissement figure 28).

La microdialyse est généralement couplée à une technique de séparation et de détection appropriée permettant d'extraire des données qualitatives et quantitatives des dialysats, ici l'HPLC (chromatographie liquide à haute performance), couplée à une détection fluorimétrique des acides aminés (Figure 28A).

Le guide de microdialyse (CMA 7, Phymep, France) est implanté au niveau du striatum dorsal (Figure 28B), suivant des coordonnées stéréotaxiques définies à partir du bregma d'après l'atlas stéréotaxique (Paxinos G and Franklin KBJ, 2001). Les coordonnées utilisées pour l'implantation sont : AP : +1 mm, L : +1.5 mm et DV : -1.7 mm par rapport à la dure-mère (Paxinos G and Franklin KBJ, 2001). Afin d'éviter tout dépôt d'impuretés dans le guide, il est clôt par un mandrin qui est retiré lors de la mise en place de la sonde de microdialyse (Figure 28A). Le maintien du guide sur le crâne de l'animal est assuré par du ciment dentaire, la plaie est suturée et les soins postopératoires sont effectués (antiseptie et antalgie), avant que les animaux ne soient replacés dans leurs cages de stabulation.

Composants	LCR Classique	LCR potassique
NaCl	147 mM	2.7 mM
KCl	2.7 mM	40 mM
CaCl ₂	1.2 mM	1.2 mM
MgCl ₂	0.85 mM	0.85 mM

Tableau II : Composition des liquides céphalo-rachidiens classique et enrichis en potassium « potassique » pour les expériences de microdialyse.

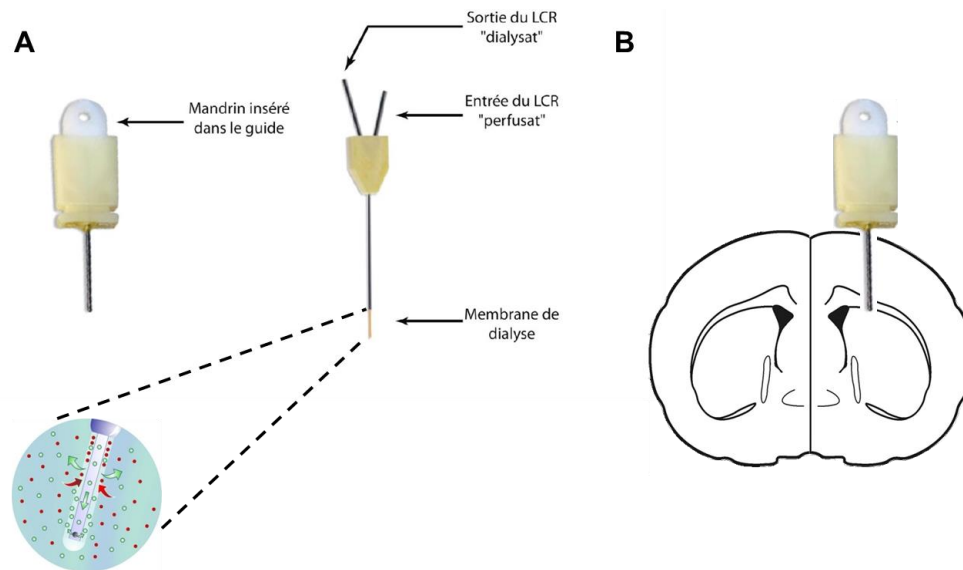


Figure 28 : Microdialyse *in vivo*.

(A) Photographies montrant un guide canule (avec mandrin) et une sonde de microdialyse utilisés lors des expériences. L'extrémité inférieure de la sonde est constituée d'une membrane semi-perméable représentée schématiquement.

(B) Représentation schématique du placement du guide canule après implantation : le guide canule est implanté de façon à ce que son extrémité inférieure affleure au niveau de la bordure dorsale du striatum juste en dessous du corps calleux. La sonde sera ensuite insérée dans le guide canule.

V.2. Collecte des échantillons

Préalablement à son insertion intracérébrale, la sonde de microdialyse est immergée pendant 40 minutes dans du LCR synthétique contenant une concentration connue des molécules d'intérêts (concentration initiale). Le rendement de la sonde est calculé *in vitro*, avant et après la microdialyse, en faisant le rapport entre la concentration initiale et la concentration finale de ces molécules recueillies à la sortie de la sonde. Ainsi, le cas échéant, un facteur de correction est appliqué aux résultats des mesures. La collecte de l'échantillon se fait sur l'animal éveillé : la sonde est connectée à un capillaire relié à un connecteur rotatif (Instech Laboratories) placé à l'extrémité d'un bras de levier (CMA/120), ce système permettant le recueil des échantillons sur un animal libre de ses mouvements. Le LCR synthétique est perfusé à l'aide de seringues calibrées (CMA/100, 1 ml), placées sur un pousse-seringue (CMA/102). Les deux premières heures qui suivent la mise en place de la sonde correspondent à la période d'équilibration pendant laquelle aucun échantillon n'est prélevé. Par la suite, un échantillon de 20 μ l est prélevé toutes les 20 minutes (Figure 29) dans un tube de dosage d'HPLC contenant 20 μ l d'un mélange d'acide ascorbique

(antioxydant, 10 μ M) et d'homosérine (contrôle interne de chaque échantillon, 1 μ M). Les niveaux de base sont mesurés sur cinq échantillons recueillis pendant 100 minutes en perfusant du LCR « classique » (Tableau II). Par la suite, un choc potassique est réalisé pendant 40 minutes pendant lesquelles du LCR synthétique enrichi en KCl (40 mM KCl, LCR « potassique », Tableau II) est perfusé. Enfin, cinq autres échantillons sont recueillis après le choc potassique, en utilisant à nouveau du LCR « classique » (Figure 29). Les échantillons sont enfin analysés par HPLC en comparaison avec une solution standard contenant les composés d'intérêt à des concentrations déterminées.

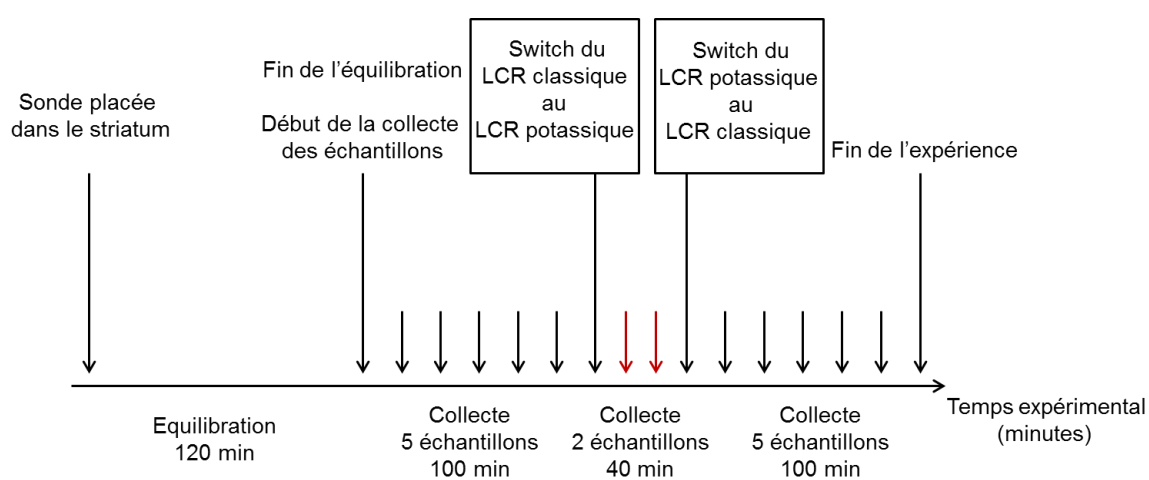


Figure 29 : Chronologie de la microdialyse *in vivo*.

Les petites flèches noires représentent les échantillons collectés sous perfusion de LCR « classique », alors que les rouges dénotent les échantillons collectés sous perfusion de LCR « potassique ».

VI. ANALYSES STATISTIQUES

Les données sont exprimées comme valeurs moyennes \pm erreur moyenne standard (SEM). Elles ont été analysées à l'aide du logiciel Prism (version 3 ou 5, GraphPad), utilisé aussi pour réaliser les graphiques, et avec les tests statistiques suivants :

- Le test du t de Student et le test de Mann-Whitney pour comparer 2 groupes d'échantillons.
- L'analyse de variance à un facteur contrôlé (*one-way ANOVA* ou le test de Kruskal-Wallis) et le test de Dunn post-hoc (test de comparaisons multiples) pour les comparaisons à 3 ou plus groupes d'échantillons.
- L'analyse de variance à deux facteurs contrôlés (*two-way ANOVA*).
- Le test de Kolmogorov-Smirnov pour 2 échantillons pour les données relatives à la distribution cumulative. Ce test a été réalisé *online* sur le site : http://www.physics.csbsju.edu/stats/KS-test.n.plot_form.html.

Les différences sont considérées comme significatives lorsque $p < 0.05$.

RÉSULTATS

Des données antérieures ont mis en évidence un lien entre microdélétion hétérozygote de *Tshz3* et TSA, eux-mêmes souvent associés à des perturbations de la circuiterie cortico-striée. Le but de ce travail de thèse est donc d'étudier l'impact de la délétion conditionnelle de *Tshz3* sur la circuiterie cortico-striée. De façon plus précise nous voulons savoir si la délétion de *Tshz3* perturbe la fonction et les propriétés des neurones qui expriment *Tshz3* mais également les connexions établies par ces neurones.

I. ÉTUDE DE LA CIRCUITERIE CORTICO-STRIÉE DANS LE MODÈLE *Tshz3-pnCxKO*

I.1. Morphologie des neurones pyramidaux de la couche V et de leurs projections, et validation du modèle *Tshz3-pnCxKO*

Dans un premier temps nous avons validé le modèle *Tshz3-pnCxKO* en évaluant la perte de l'expression de TSHZ3 dans les neurones cortico-striés à P28. Chez les souris *Tshz3-pnCxKO*, nous avons constaté que l'expression de TSHZ3 est drastiquement diminuée dans le cortex (Figure 30). Nous avons parallèlement vérifié que la quantité de cellules corticales n'est pas modifiée par la perte d'expression de *Tshz3*. Pour cela, des comptages ont été effectués après des immunomarquages de BCL11B (CTIP2), permettant de marquer les neurones de la couche V, ou de NeuN, permettant de marquer tous les neurones (Figure 31). Les souris *Tshz3-pnCxKO* ne présentent pas de variations du nombre de cellules BCL11B positives dans les couches profondes par rapport aux contrôles Cre-, et de manière plus large, du nombre de cellules NeuN positives dans le cortex. L'absence de *Tshz3* n'affecte donc pas la densité de neurones corticaux.

De façon inattendue, nous observons chez ces souris une réduction du nombre de cellules TSHZ3 positives dans le striatum, que nous avons identifiées comme étant des CINs (voir II.1).

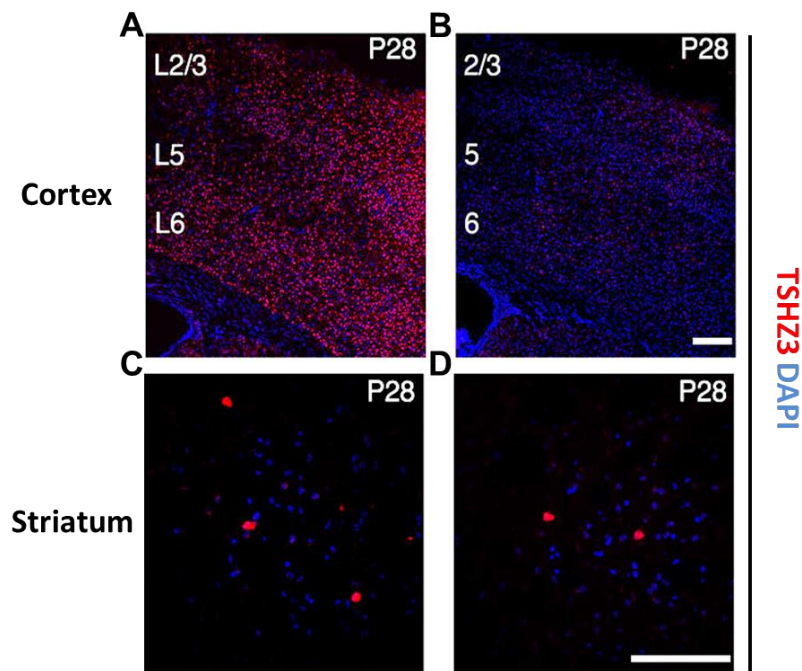


Figure 30 : Validation du modèle *Tshz3-pnCxKO* à P28.

Chez les souris *Tshz3-pnCxKO*, l'expression de TSHZ3 est diminuée de façon drastique dans le cortex (**B**) et réduite dans le striatum (**D**) par rapport aux souris Cre- (**A**, **C**). Anti-TSHZ3 (rouge) ; DAPI (bleu) ; L2-3, couches II-III ; L5, couche V ; L6, couche VI ; échelles : (**A**, **B**) 200 μm (**C**, **D**) 100 μm .

Nous nous sommes ensuite demandé si la délétion de *Tshz3* perturbe la connectivité des neurones cortico-striés. Pour vérifier cela nous avons réalisé des injections stéréotaxiques d'un traceur rétrograde dans le striatum (sous-unité B de la toxine cholérique), de façon à marquer les neurones pyramidaux de la couche V. Ce traceur a été détecté au niveau des corps cellulaires des neurones de la couche V et des sites d'injection, et nous avons vu que les neurones cortico-striés sont présents chez les souris *Tshz3-pnCxKO* comme chez les Cre- du côté ipsilatéral (Figure 32A) et dans une proportion moindre du côté controlatéral à l'injection aussi bien ipsi- que controlatéralement (non montré). Un autre moyen de vérifier cette donnée qualitative est d'utiliser des souris *Thy1-GFP* (*Thy1* : cell surface antigen, *GFP* : green fluorescent protein), dans laquelle les neurones de la couche corticale V et leurs prolongements sont marqués de manière stochastique (Figure 32B). L'ensemble de ces résultats montre que les neurones du cortex formant la voie cortico-striée ainsi que leurs projections striatales sont toujours présents suite à la perte de *Tshz3* chez les souris *Tshz3-pnCxKO* à P28.

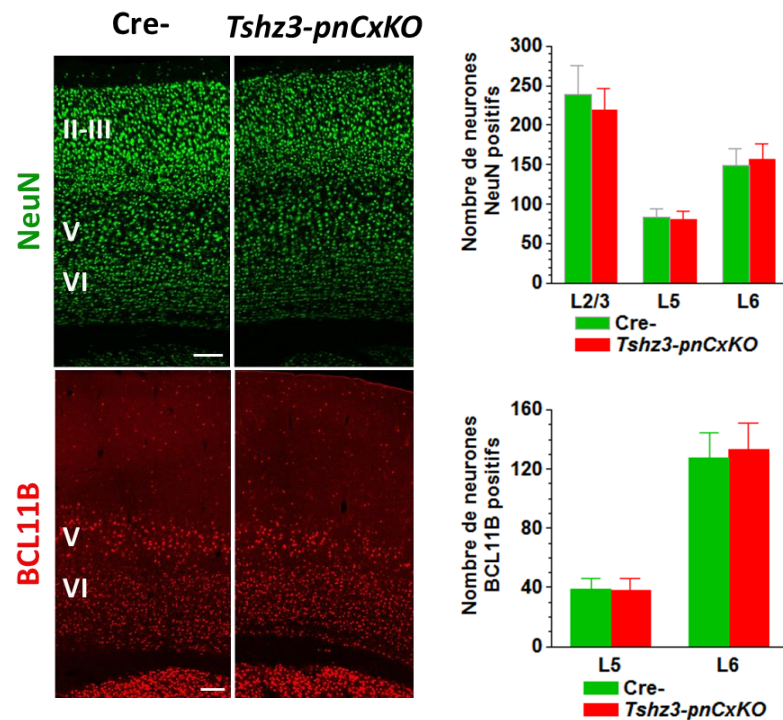


Figure 31 : Immunocytochimie de NeuN et BCL11B (CTIP2) sur des coupes coronales de cerveau de souris Cre- et *Tshz3-pnCxKO* à P28.

Les graphiques indiquent le nombre moyen ± SEM de cellules positives pour chaque couche.

Suite au comptage des cellules NeuN positives, aucune différences significative n’a été trouvée entre les Cre- et les *Tshz3-pnCxKO* (couche II-III : 238.8±37 vs. 219.4±26.8 cellules/250 μm², p=0.09 ; couche V : 83.0±10.5 vs. 80.2±11.0 cellules/250 μm², p=0.279 ; couche VI : 148.1±22.8 vs. 156.3±19.5 cellules/250 μm²; p=0.123; test t de Student non apparié).

Après quantification des cellules BCL11B positives, aucune différence significative n’a été trouvée entre les Cre- et les *Tshz3-pnCxKO* (couche V : 38.7±7.6 vs. 37.9±8.4 cellules/250 μm², p=0.665; couche VI : 127.2±17.2 vs. 132.8±17.9 cellules/250 μm², p=0.187; test t de Student non apparié). Echelle : 100 μm.

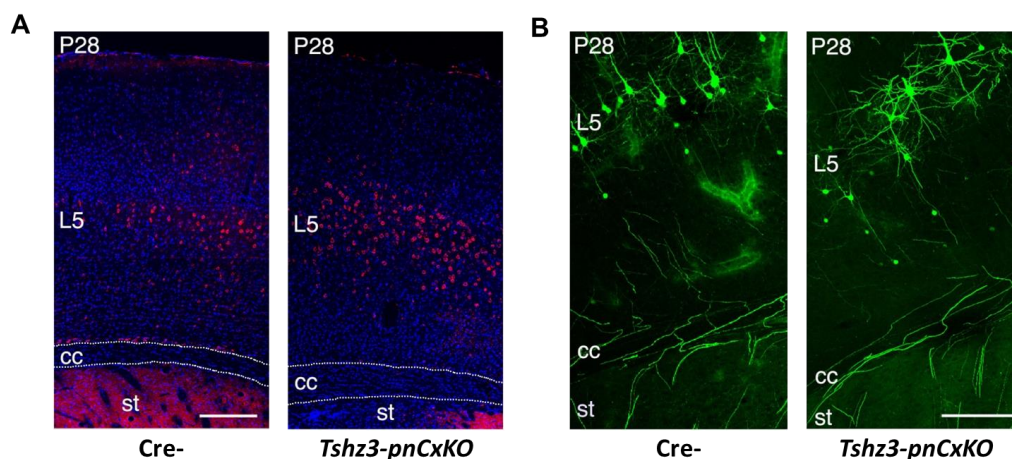


Figure 32 : Préservation de la voie cortico-striée chez les souris *Tshz3-pnCxKO*.

(A) La toxine marque aussi bien les neurones pyramidaux du cortex chez le contrôle (Cre-) et la souris *Tshz3-pnCxKO* à P28. Echelle = 200 μm. (B) A P28, les axones *Thy1-GFP* positifs qui proviennent majoritairement de la couche V, sont visibles dans le striatum des souris *Thy1-GFP;Tshz3-pnCxKO*, comme chez les *Thy1-GFP;Cre-*. Echelle = 250 μm. CC, corps calleux ; st, striatum ; L5, couche V.

I.2. Propriétés intrinsèques des neurones pyramidaux de la couche V

Comme mentionné dans l'introduction, les neurones pyramidaux de la couche V peuvent être classés en deux grands groupes, notamment sur la base de critères électrophysiologiques : les neurones PT répondent à une hyperpolarisation par un épaulement (*sag*) et un rebond (*reb*) dépolarisant prononcés, et à une dépolarisation par une posthyperpolarisation (AHP) soutenue, alors que chez les IT ces changements de voltage sont moindres. Ces trois caractéristiques (*sag*, *reb* et AHP) se manifestent avec une amplitude différente pour chaque neurone pyramidal. Si on fait la somme des amplitudes de ces caractéristiques (*sag* + *reb* + AHP) pour chaque neurone pyramidal, à des intensités de courant dépolarisants ou hyperpolarisants données, on est alors en mesure d'établir une valeur seuil permettant de faire la distinction entre les neurones PT et les neurones IT. Lorsque la somme *sag* + *reb* + AHP est supérieure au seuil établi (4.2 mV), le neurone est alors identifié comme PT et, à l'inverse, le neurone est identifié comme IT lorsqu'elle est inférieure (Lee et al., 2014). Après avoir enregistré des neurones pyramidaux de la couche V en *current-clamp*, via la technique du *whole-cell patch-clamp*, nous avons donc procédé à l'identification en neurones IT ou PT, en constatant que la répartition entre ces deux classes n'est pas affectée chez les souris *Tshz3-pnCxKO* par rapport aux Cre- (Figure 33). En respectant cette classification nous avons ensuite évalué les différentes propriétés électrophysiologiques intrinsèques des neurones IT et PT dans les deux génotypes.

Les propriétés intrinsèques d'un neurone incluent les propriétés passives (comme la résistance membranaire, R_i , et le potentiel de repos, RMP) et actives (comme les caractéristiques du PA, (Figure 27) dues aux canaux voltage-dépendants. Nos mesures montrent que toutes les propriétés intrinsèques des neurones, ainsi que toutes les caractéristiques du PA sont équivalentes que ce soit entre les neurones IT et PT au sein d'un même génotype ou en comparant les souris Cre- et *Tshz3-pnCxKO* (Tableau III). A la vue de ces résultats et pour toute la suite de cette thèse, les neurones IT et PT d'un même génotype seront donc groupés et considérés comme une unique population nommée « neurones pyramidaux de la couche V ».

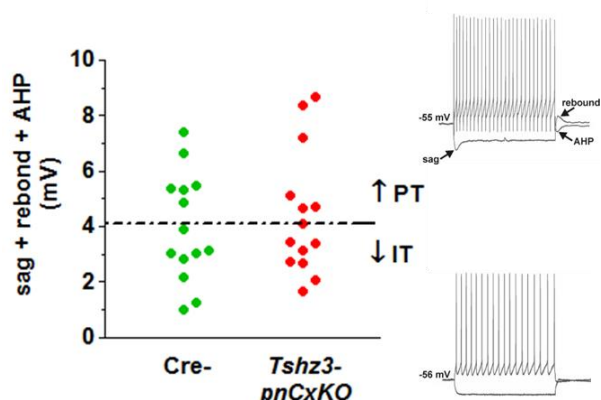


Figure 33 : Identification et répartition des neurones IT et PT selon leurs critères électrophysiologiques.

Les réponses des neurones à des courants hyper- et dépolarisants de 50 pA, comprennent un épaulement (sag), un rebond et une posthyperpolarisation (AHP) d'amplitudes différentes pour chaque neurone. Nous avons à 4.2 mV un seuil au-dessus duquel le neurone est identifié comme un PT et en dessous duquel il est identifié comme un IT. La répartition des neurones IT et PT n'est pas différente entre les souris Cre- et *Tshz3-pnCxKO*.

	Cre-		<i>Tshz3-pnCxKO</i>	
	PT	IT	PT	IT
Potentiel de repos (mV)	-56.45 ± 1.62	-59.16 ± 1.89	-57.30 ± 1.85	-62.94 ± 1.36
Seuil de déclenchement du PA (mV)	-38.5 ± 1.03	-36.82 ± 1.32	-35.67 ± 0.54	-36.74 ± 1.02
Amplitude du PA (mV)	106.9 ± 4.19	112.2 ± 4.33	107.2 ± 3.86	117.3 ± 2.33
Overshoot du PA (mV)	68.4 ± 4.43	75.37 ± 5.13	71.56 ± 4.3	69.01 ± 11.65
Largeur du PA (ms)	0.84 ± 0.06	0.94 ± 0.03	1.01 ± 0.05	0.93 ± 0.05
Pente du PA (mV/ms)	170.96 ± 11.54	164.91 ± 8.23	142.43 ± 10.83	160.76 ± 10.69
Délais entre le seuil et le pic du PA (ms)	0.61 ± 0.03	0.63 ± 0.03	0.66 ± 0.03	0.58 ± 0.02

Tableau III : Propriétés électrophysiologiques intrinsèques des neurones pyramidaux de la couche V.

Les propriétés des IT et des PT sont semblables, que ce soit chez les souris Cre- ou *Tshz3-pnCxKO* ; c'est pourquoi ces deux types de neurones seront désormais groupés en neurones pyramidaux de la couche V dans chaque génotype. Un test de Kruskal-Wallis suivi par un posttest de Dunn's n'ont montré aucune significativité ; n=14 pour chaque génotype.

Ensuite, nous avons évalué l'excitabilité des neurones pyramidaux de la couche V. Pour cela, nous avons d'abord mesuré la rhéobase, qui s'est révélée être similaire entre les souris Cre- et *Tshz3-pnCxKO* (respectivement, 107.1±10.5 vs. 130.8±19.1 pA), ainsi que la résistance membranaire, qui elle aussi ne semble pas affectée par la perte de *Tshz3* (Figure 34A). Ensuite nous avons mesuré l'intervalle de temps entre le début d'un *pulse* de courant dépolarisant et le premier PA (ensuite entre le *pulse* et le 2^{ème}, puis entre le *pulse* et le 3^{ème} et ainsi de suite, voir encart Figures 34B,C). Les intervalles de temps entre PAs mesurés à la suite d'une dépolarisation déclenchée par un courant de 300 pA ne sont pas différents entre

les souris *Tshz3-pnCxKO* et Cre- (Figure 34B). Par contre, lorsqu'on déclenche la décharge par un courant plus faible (150 pA) amenant le neurone légèrement au-dessus du seuil de déclenchement du PA, on remarque que les intervalles de temps entre PAs s'allongent chez les souris *Tshz3-pnCxKO* par rapport aux Cre- (Figure 34C). L'agrandissement de cet intervalle de temps suggère une diminution de la fréquence d'émission des PA, voire une accommodation augmentée.

Il semblerait donc que la délétion de *Tshz3* n'affecte pas les propriétés intrinsèques des neurones pyramidaux mais les rend cependant moins excitables.

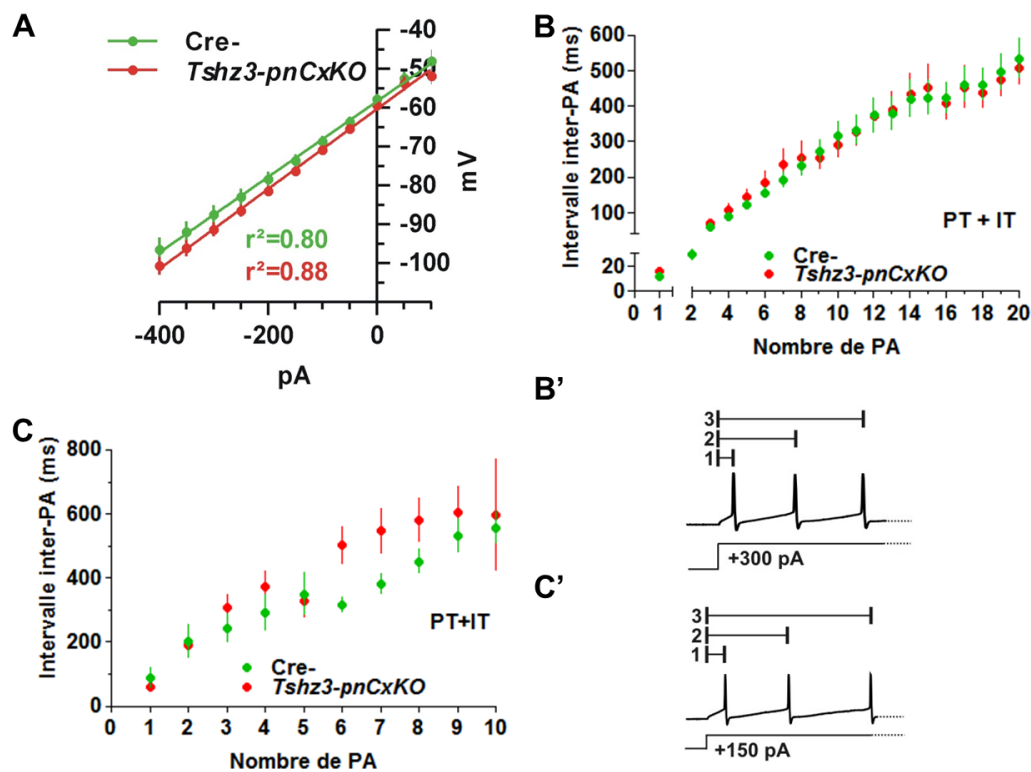


Figure 34 : Relation courant/voltage et excitabilité des neurones de la couche V.

(A) Valeurs moyennes des relations courant/voltage des neurones cortico-striés (PT et IT sont groupés, voir Tableau III) pour les souris Cre- et *Tshz3-pnCxKO* (n=14 neurones par génotype). La comparaison des pentes des ajustements linéaires (*linear fit*) ne révèle pas de différence significatives ($F(1,283)=1.182$, $p=0.2778$) de la résistance membranaire (R_i) entre les Cre- ($97.2 \pm 4.1 \text{ M}\Omega$) et les *Tshz3-pnCxKO* ($102.7 \pm 3.1 \text{ M}\Omega$).

(B, B') Illustration des délais entre le début d'un courant dépolarisant (+300 pA, 800 ms) et le déclenchement des 20 premiers PAs. Les valeurs moyennes sont similaires dans les deux groupes (n=14 neurones par génotype, $F(1,436)=0.102$, $p=0.75$, two-way ANOVA).

(C, C') Illustration des délais entre le début d'un courant dépolarisant légèrement au-dessus de la rhéobase (+150 pA, 800 ms) et le déclenchement des 10 premiers PAs. Les neurones des *Tshz3-pnCxKO* ont un intervalle inter-PAs plus long que celui des Cre- (n=14 neurones par génotype, $F(1,150)=7.135$, $p=0.008$, two-way ANOVA).

I.3. Les neurones pyramidaux de la couche V en tant qu'éléments postsynaptiques

Les neurones pyramidaux de la couche V, qui constituent le cœur de la circuiterie cortico-striée en tant que lien direct entre le cortex et le striatum, reçoivent une myriade d'afférences, dont un grand nombre proviennent des neurones pyramidaux des couches corticales II-III. Ces deniers expriment TSHZ3 de façon prononcée et par conséquent, la délétion de *Tshz3* pourrait altérer leur transmission synaptique avec les neurones cortico-striés de la couche V. Pour évaluer cette hypothèse nous avons réalisé des enregistrements électrophysiologiques au niveau des neurones pyramidaux de la couche V en mesurant : la transmission basale, le ratio NMDA/AMPA, la plasticité à court terme et à long terme.

I.3.a. Transmission basale : activité miniature et spontanée (des neurones pyramidaux de la couche V).

Dans un premier temps nous avons évalué la transmission basale des neurones cortico-striés en mesurant :

- L'activité indépendante des PAs, qui consiste en des événements postsynaptiques dits "miniatures" ou mEPSCs, enregistrés en présence de TTX.
- L'activité spontanée "globale", qui résulte de la libération présynaptique de glutamate dépendante et indépendante des PAs, observable par l'enregistrement d'évènements postsynaptiques dits "spontanés" ou sEPSCs.

Pour chacune de ces activités, nous nous sommes principalement intéressés à deux paramètres : la fréquence des courants (exprimée en Hertz et en tant que *inter-event interval*), qui nous informe sur la probabilité de libération des vésicules synaptiques au niveau des terminaisons présynaptiques, et l'amplitude des courants, qui rend compte de la sensibilité et de la quantité des récepteurs de type AMPA situés sur la membrane de l'élément postsynaptique.

Au niveau des neurones pyramidaux de la couche V, aucune différence significative n'a été trouvée entre les souris Cre- et les souris *Tshz3-pnCxKO* en terme de fréquence et d'amplitude aussi bien des mEPSCs (Figures 35A, B) que des sEPSCs (Figures 35C, D). Ceci suggère que la perte de *Tshz3* n'affecte pas la transmission synaptique basale des neurones

pyramidaux de la couche V, en particulier celle indépendante du PA (isolée grâce à l'enregistrement des mEPSCs).

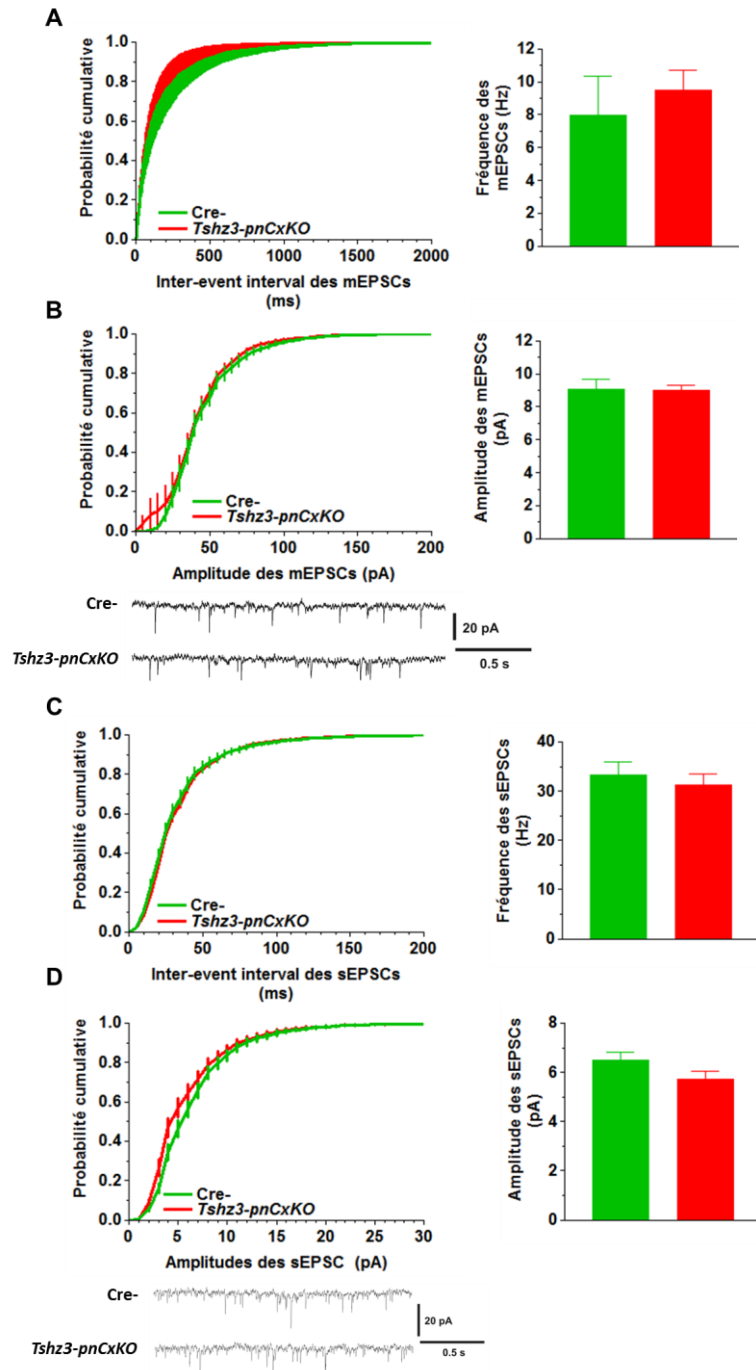


Figure 35 : Activité miniature et spontanée des neurones de la couche V.

(A, B) Les distributions cumulatives des *inter-event interval* et de l'amplitude des mEPSCs, ainsi que les valeurs moyennes de la fréquence et de l'amplitude, sont similaires entre les souris Cre- et Tshz3-pnCxKO. Fréquence : 7.939 ± 2.376 vs. 9.495 ± 1.244 Hz ; amplitude : 9.041 ± 0.627 vs. 8.982 ± 0.295 pA.

(C, D) Les mêmes observations sont faites pour les sEPSCs. Fréquence : 33.20 ± 2.609 vs. 31.28 ± 2.161 Hz ; amplitude : 6.487 ± 0.343 vs. 5.704 ± 0.349 pA.

Les tracés montrent des exemples de mEPSCs et sEPSCs. Les données de distribution cumulative ont été analysées avec un test de Kolmogorov-Smirnov à 2 échantillons. Les moyennes ont été analysées avec un test de Mann-Whitney ($n=18$ neurones par groupe pour les sEPSCs et $n=10$ pour mEPSCs, $p>0.05$ pour l'ensemble des tests).

I.3.b. Plasticité à court terme : mesure du PPR (des neurones pyramidaux de la couche V).

Notre objectif ici est de confronter la probabilité de libération du glutamate et du GABA PA-dépendante au niveau des neurones cortico-striés entre les souris Cre- et *Tshz3-pnCxKO*. Si nous faisons une analyse globale du PPR du glutamate, nous trouvons qu'il est augmenté de façon significative chez les souris *Tshz3-pnCxKO* par rapport aux Cre- (Figure 36A), suggérant une diminution de la probabilité de libération par les afférences glutamatergiques ciblant les neurones pyramidaux de la couche V. Par contre, aucune variation significative du PPR du GABA n'est enregistrée dans ces mêmes neurones (Figure 36B). Ces résultats indiquent que la délétion de *Tshz3* réduit la probabilité de libération du glutamate PA-dépendante par les afférences des neurones pyramidaux de la couche V, alors que la libération de GABA par les interneurons du cortex ne semble pas affectée.

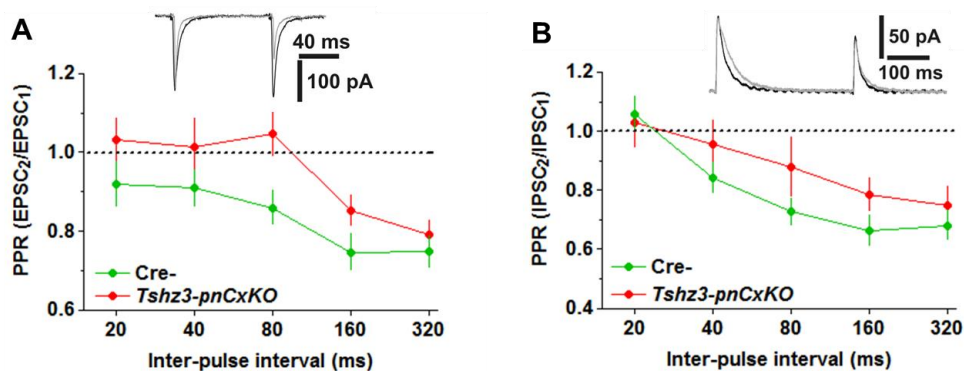


Figure 36 : Paired-pulse ratios corticaux.

(A) La valeur moyenne du PPR des EPSCs glutamatergiques est plus élevée chez les souris *Tshz3-pnCxKO* (n=29 neurones) que chez les Cre- (n=22 neurones), $F(1,241)=10.72$, $p=0.0012$, two-way ANOVA.

(B) La valeur moyenne du PPR des IPSCs GABAergiques est similaire entre les souris Cre- (n=10 neurones) et *Tshz3-pnCxKO* (n=19 neurones), $F(1,109)=3.38$, $p=0.069$, two-way ANOVA.

Les tracés montrent des exemples de deux EPSCs et IPSCs consécutifs (amplitude normalisée sur le 1^{er}) : Cre-, gris ; *Tshz3-pnCxKO*, noir.

I.3.c. Ratio NMDA/AMPA (des neurones pyramidaux de la couche V)

Le ratio NMDA/AMPA permet de rendre compte de l'activité des récepteurs de type NMDA par rapport aux récepteurs de type AMPA présents au niveau de la terminaison postsynaptique. Un changement dans le ratio NMDA/AMPA indique donc que la contribution de l'un ou de l'autre récepteur à la transmission synaptique est altérée.

La mesure du ratio NMDA/AMPA ne montre pas de différence significative entre les souris *Tshz3-pnCxKO* et *Cre-* (Figure 37), ce qui suggère que la contribution des récepteurs NMDA et AMPA dans la réponse postsynaptique est équivalente en présence ou en absence de *Tshz3*. Ces données sont en accord avec l'absence de modification d'amplitude des sEPSCs et des mEPSCs vues précédemment.

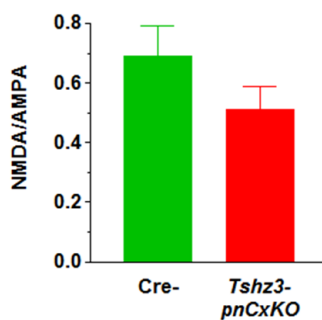


Figure 37 : Ratio NMDA/AMPA cortical.

Le ratio NMDA/AMPA est similaire entre les deux groupes de souris *Cre-* (n=22) et *Tshz3-pnCxKO* (n=20) (0.689 ± 0.104 vs. 0.512 ± 0.077 , $p=0.296$, test de Mann-Whitney).

I.3.d. Plasticité à long terme (des neurones pyramidaux de la couche V)

Nous avons scrupuleusement respecté les conditions expérimentales (milieu intracellulaire, fréquence et durée de stimulation, composition de la solution intracellulaire) précédemment parues (Guo et al., 2015) pour essayer d'induire une LTD dans les neurones pyramidaux de la couche V (voir aussi Matériels et Méthodes). Malgré nos efforts, ce protocole appliqué sur des souris *Cre-* était incapable produire une LTD (en moyenne on obtient une légère potentiation), alors que la plupart du temps il provoquait une LTP chez les souris *Tshz3-pnCxKO* (Figure 38). Pour cette raison nous avons décidé d'essayer un autre protocole, notamment celui permettant d'induire une LTD au niveau de la synapse cortico-striée, mais nos diverses tentatives se sont avérées vaines (Figure 38). Concernant l'application du

protocole d'induction de la LTP, issu de la même référence bibliographique, nous n'avons jamais pu enregistrer un neurone suffisamment longtemps ou suffisamment stable pour en déduire l'induction d'une quelconque forme de LTP. Par conséquent, nous ne pouvons pas conclure sur la plasticité à long terme des neurones pyramidaux de la couche V, que ce soit en la présence ou en l'absence de *Tshz3*.

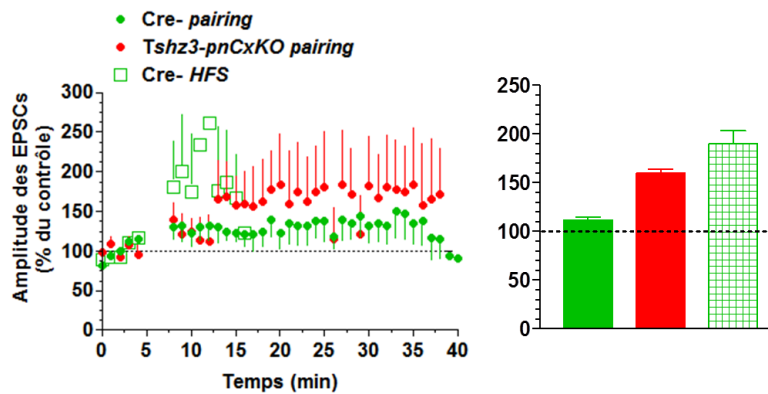


Figure 38 : LTD corticale.

Le graphique à gauche représente le déroulement temporel des valeurs moyennes de l'amplitude des EPSCs (±SEM) normalisées par rapport au niveau de base établi pendant les 5 premières minutes. L'histogramme à droite montre les valeurs moyennes de l'amplitude des EPSCs (±SEM) après le protocole d'induction de la LTD.

Les différentes tentatives pour induire une LTD au niveau des neurones de la couche V n'ont pas été concluantes. Le protocole censé induire une LTD (voir Guo et al., 2015) va plus dans le sens d'une LTP pour les souris Cre- (n=8, Cre- pairing) et *Tshz3-pnCxKO* (n=3, *Tshz3-pnCxKO* pairing). Le protocole d'induction de la LTD striatale ne s'est pas non plus avéré efficace (n=2, Cre- HFS).

I.4. La synapse cortico-striée

Les neurones cortico-striés expriment fortement *Tshz3* et des perturbations de cette voie ont souvent été associées aux TSA. Ces données nous ont naturellement conduites à l'hypothèse que la délétion de *Tshz3* dans ces mêmes neurones pourrait être à l'origine de dysfonctionnements de cette synapse. De façon à tester cette hypothèse, nous avons réalisé les mêmes enregistrements électrophysiologiques effectués dans le cortex mais cette fois au niveau des MSNs ; à savoir, la mesure de la transmission basale, du ratio NMDA/AMPA, et de la plasticité à court terme et à long terme. Les MSNs n'exprimant pas TSHZ3, les modifications éventuelles du fonctionnement de ces synapses seront attribuables à la déficience de *Tshz3* dans leurs afférences.

I.4.a. Transmission basale : activité miniature et spontanée (des MSNs du striatum)

Nous avons d'abord évalué la transmission synaptique de base en recueillant l'activité miniature et l'activité spontanée, comme décrit précédemment. Nous n'avons pas trouvé de modification de la fréquence et de l'amplitude de l'activité miniature (mEPSCs) des MSNs, entre les souris *Tshz3-pnCxKO* et Cre- (Figure 39). Par contre, l'étude de l'activité spontanée (sEPSCs) révèle une diminution de la fréquence et de l'amplitude des sEPSCs dans les MSNs des souris *Tshz3-pnCxKO* par rapport aux Cre- (Figure 40). Ces résultats montrent que l'absence de *Tshz3* entraîne une réduction de la transmission basale de la synapse cortico-striée dépendante des PAs, sans affecter l'activité indépendante des PAs.

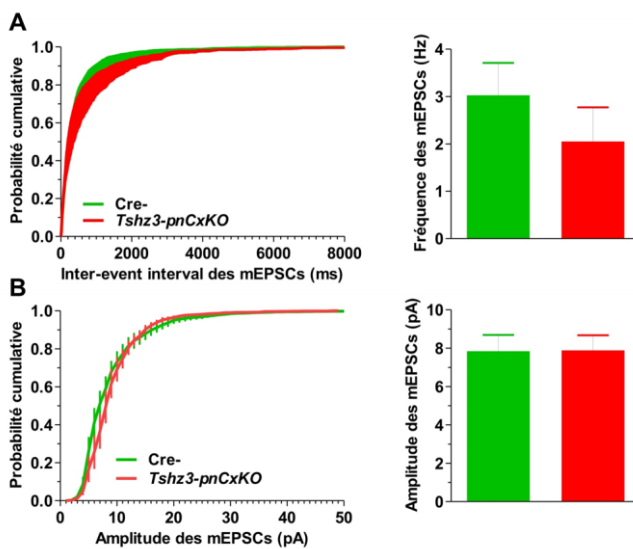


Figure 39 : Activité miniature des MSNs.

Les distributions cumulatives des *inter-event interval* (A) et de l'amplitude (B) des mEPSCs sont similaires entre les MSNs des souris Cre- et *Tshz3-pnCxKO*. De même, la fréquence (A) (3.03 ± 0.68 vs. 2.05 ± 0.72 Hz) et l'amplitude moyenne (B) des sEPSCs (7.84 ± 0.84 vs. 7.89 ± 0.79 pA) sont similaires.

Les données de distribution cumulative ont été analysées avec un test de Kolmogorov-Smirnov à 2 échantillons. Les moyennes ont été analysées avec un test de Mann-Whitney (n=8 neurones par groupe, $p > 0.05$ pour l'ensemble des données).

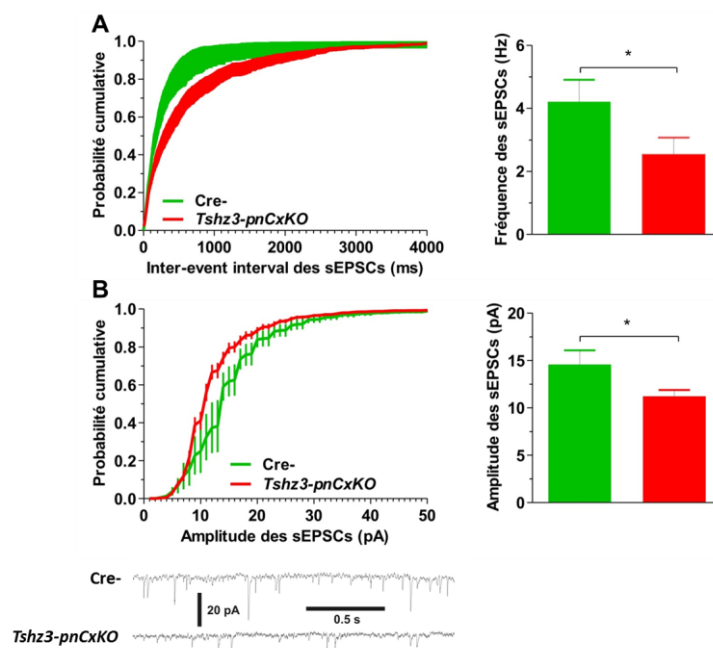


Figure 40 : Activité spontanée des MSNs.

Les distributions cumulatives montrent un déplacement vers des valeurs plus longues (A) des *inter-event interval* ($p < 0.001$) et vers des amplitudes plus petites (B) ($p = 0.09$, test de Kolmogorov-Smirnov à 2 échantillons) des sEPSCs enregistrés dans les MSNs des *Tshz3-pnCxKO* (n=17) par rapport aux Cre- (n=9). Dans le même sens, les valeurs moyennes de fréquence (A) et d'amplitude (B) des sEPSCs des *Tshz3-pnCxKO* sont réduites de façon significative (fréquence : 2.5 ± 0.5 vs. 4.2 ± 0.7 Hz ; amplitude : 11.2 ± 0.7 vs. 14.6 ± 1.5 pA ; $*p < 0.05$, test de Mann-Whitney).

I.4.b. Plasticité à court terme (des MSNs du striatum)

De la même manière que dans le cortex, nous avons comparé la probabilité de libération du glutamate dépendante du PA au niveau de la synapse cortico-striée chez les souris Cre- et *Tshz3-pnCxKO* en mesurant le PPR. L'analyse globale du PPR révèle que ce paramètre augmente drastiquement au niveau de la synapse cortico-striée des souris *Tshz3-pnCxKO*, par rapport aux Cre- (Figure 41), suggérant que la perte de *Tshz3* diminue la probabilité de libération PA-dépendante du glutamate au niveau de la synapse cortico-striée.

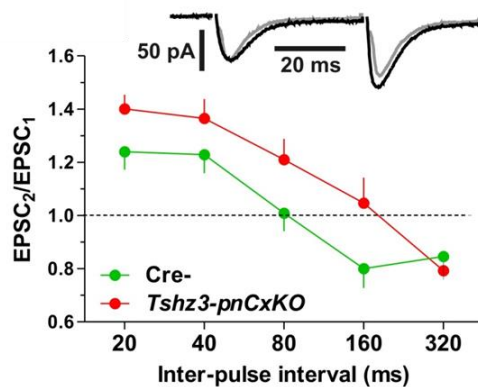


Figure 41 : Paired-pulse ratio striatal.

La valeur moyenne du PPR des EPSCs glutamatergiques est plus élevée chez les souris *Tshz3-pnCxKO* (n=15 neurones) que chez les Cre- (n=21 neurones), $F(1,87)=5.8$, $p=0.0182$, two-way ANOVA.

I.4.c. Ratio NMDA/AMPA (des MSNs du striatum)

Nous avons également évalué la part d'implication des récepteurs AMPA et NMDA dans la réponse au glutamate des MSNs, en mesurant le ratio NMDA/AMPA. Il s'est avéré que ce ratio est augmenté de façon significative chez les souris *Tshz3-pnCxKO* par rapport aux Cre- (Figure 42), suggérant une augmentation de l'implication des récepteurs NMDA et/ou une diminution de l'implication des récepteurs AMPA dans la réponse au glutamate au niveau des MSNs lorsque *Tshz3* est perdu. De façon intéressante, ces données corroborent la diminution de l'amplitude des sEPSCs, dus à l'activation du récepteur AMPA, observée chez les souris *Tshz3-pnCxKO*.

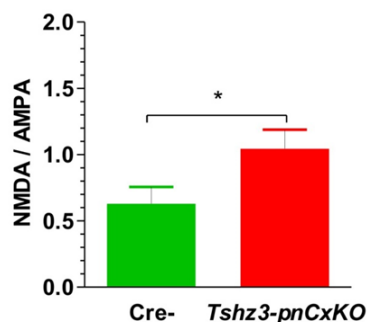


Figure 42 : Ratio NMDA/AMPA striatal.

Le ratio NMDA/AMPA enregistré dans les MSNs, est augmenté chez les souris *Tshz3-pnCxKO* par rapport aux animaux Cre- (1.04 ± 0.14 vs. 0.63 ± 0.13 pA, n=8 neurones pour chaque génotype ; * $p < 0.05$, test de Mann-Whitney).

I.4.d. Plasticité à long terme (des MSNs du striatum)

Nous avons étudié la plasticité à long terme de la synapse cortico-striée, qui est décrite comme un phénomène crucial pour l'acquisition, le maintien et le retrait de différentes formes d'apprentissage au sein des ganglions de la base. Bien que nos expériences ne révèlent pas de différences de la LTP dans les deux génotypes, nos enregistrements montrent une perte de la LTD cortico-striée chez les souris *Tshz3-pnCxKO* par rapport aux Cre- (Figure 43). Pendant les premières minutes suite au protocole d'induction d'une LTD, c'est même une potentialisation transitoire qui est mesurée chez les souris mutantes (Figure 43A). Cependant, en présence d'AP-5 (40 μ M), un antagoniste des récepteurs NMDA, la LTD est partiellement rétablie chez les souris *Tshz3-pnCxKO* (Figure 43A). L'ensemble de ces résultats suggère que l'absence de *Tshz3* entraîne la perte de la LTD cortico-striée et qu'une signalisation exacerbée via les récepteurs NMDA serait impliquée dans ce déficit, ce qui vient renforcer l'observation faite lors de l'étude du ratio NMDA/AMPA.

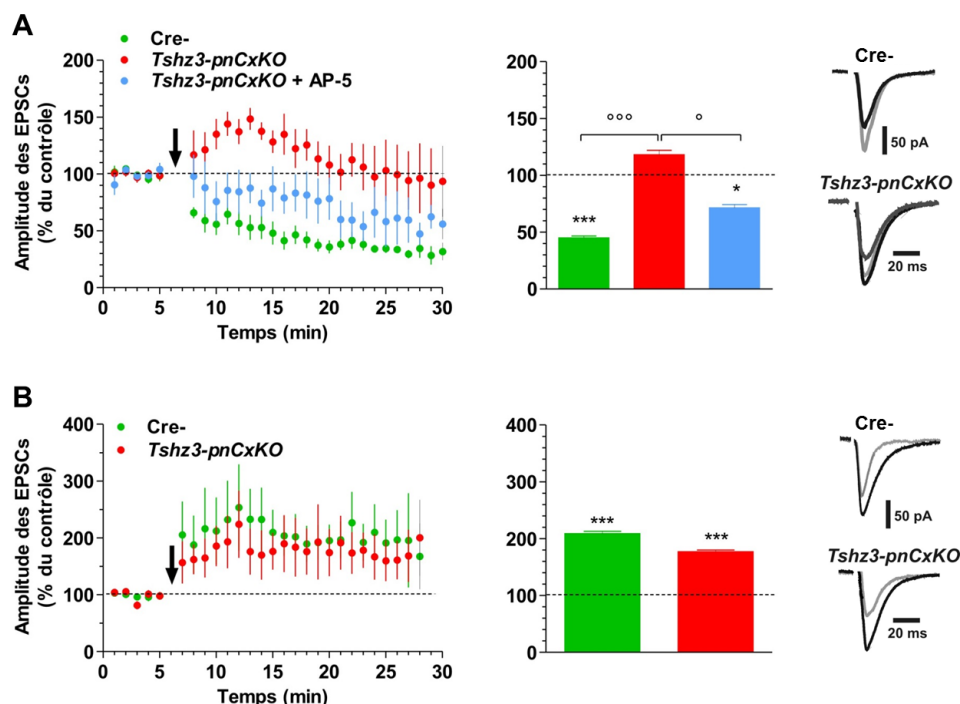


Figure 43 : Plasticité à long terme de la synapse cortico-striée.

(A, B) Le graphique à gauche représente le déroulement temporel des valeurs moyennes de l'amplitude des EPSCs (\pm SEM) normalisées par rapport au niveau de base établi (contrôle) pendant les 5 premières minutes d'enregistrement, au cours d'expériences de LTD et de LTP en présence ou absence de AP-5 (antagoniste NMDA). L'histogramme à droite montre les valeurs moyennes de l'amplitude des EPSCs (\pm SEM) après le protocole d'induction de la plasticité à long terme, représentée par la flèche noire sur le graphique de gauche. Les tracés sur la droite montrent des EPSCs enregistrés avant (noir) et après (gris) les protocoles d'induction de la LTD et de la LTP, et en présence de AP-5 (gris foncé en A).

(A) La LTD est présente dans les MSNs des souris Cre- ($n=10$) mais elle est absente chez les *Tshz3-pnCxKO* ($n=11$), où on peut même voir une potentialisation transitoire (respectivement, 44.9 ± 1.8 vs. 118.2 ± 3.9 %). L'application de $40 \mu\text{M}$ d'AP-5 ($n=7$) supprime la potentialisation transitoire et restaure partiellement la LTD (71.4 ± 2.9 %) chez les souris *Tshz3-pnCxKO* ($*p < 0.05$, $***p < 0.001$ par rapport au niveau de base, test de Mann-Whitney ; $^{\circ}p < 0.05$, $^{\circ\circ}p < 0.001$ entre les groupes, test de Kruskal-Wallis et posttest de Dunn).

(B) La LTP est similaire dans les MSNs des souris *Tshz3-pnCxKO* ($n=10$) et Cre- ($n=7$), et dans les deux cas il y a bien une augmentation de l'amplitude des EPSCs par rapport au niveau de base (respectivement, 177.1 ± 2.9 vs. 209.0 ± 4.0 % ; $***p < 0.001$, test de Mann-Whitney).

I.4.e. Glutamate et GABA extracellulaire dans le striatum

Afin d'évaluer les taux extracellulaires de glutamate et de GABA dans le striatum, nous avons réalisé des expériences de microdialyse *in vivo* et de mesure par HPLC.

Les concentrations extracellulaires de glutamate et de GABA ne sont pas significativement différentes dans le striatum des souris *Tshz3-pnCxKO* comparés aux Cre- (Figure 44). Il ne semble donc pas que la perte de *Tshz3* entraîne une variation des niveaux

de glutamate et de GABA extracellulaires, et/ou que ces variations ne sont pas appréciables par cette technique.

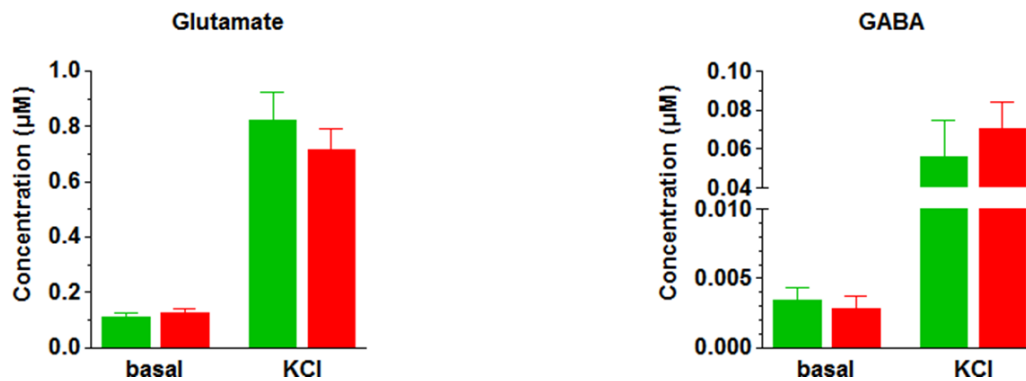


Figure 44 : Dosage extracellulaire de glutamate et de GABA dans le striatum.

Les concentrations extracellulaires de glutamate et de GABA mesurées par HPLC, après recueil par microdialyse *in vivo*, ne montrent pas de différences entre les animaux Cre- (vert) et *Tshz3-pnCxKO* (rouge), que ce soit pour des niveaux basals ou après un choc potassique (KCl, 40 mM). Glutamate : n= 9 souris Cre- et 10 *Tshz3-pnCxKO* ; GABA n=7 souris Cre- et 5 *Tshz3-pnCxKO*).

A ce stade de l'étude il semblerait donc que la perte de *Tshz3* à P2-3 ait un impact léger sur les propriétés des neurones corticaux qui l'expriment, alors que leurs connexions au sein de la circuiterie corticale et cortico-striée sont significativement affectées. En effet, l'absence de *Tshz3* entraîne une diminution de l'excitabilité des neurones pyramidaux de la couche V, une diminution de la probabilité de libération du glutamate par leurs afférences, et une perturbation de la transmission et de la plasticité de la synapse cortico-striée constituée par les efférences de ces mêmes neurones sur les MSNs du striatum. Les défauts de la synapse cortico-striée seraient aussi dus à une modification de l'activité des récepteurs NMDA et/ou AMPA situés sur les MSNs.

II. ÉTUDE DES CINs DANS LE MODÈLE *Tshz3-ChATCre*

Comme décrit dans l'introduction, les CINs du striatum de par leurs propriétés morphologiques, électrophysiologiques et leurs interactions avec les différents protagonistes de la circuiterie cortico-striée, occupent une position clé en tant qu'élément régulateur/modulateur de ce circuit. Un nombre croissant d'évidences suggère que les CINs seraient impliqués dans les troubles comportementaux associés aux TSA et, de façon intéressante, ils expriment TSHZ3. A travers l'étude du modèle *Tshz3-ChATCre*, nous avons voulu savoir si la délétion de *Tshz3* affecte les propriétés électrophysiologiques des CINs.

II.1. Expression de TSHZ3 dans les neurones cholinergiques et validation du modèle

Nous avons d'abord étudié l'expression de TSHZ3 dans les principaux territoires et noyaux de l'encéphale contenant des neurones cholinergiques, à savoir (Figure 45) : le striatum, le septum médian englobant dans sa partie antéroventrale les bandes diagonales de Broca (l'ensemble est nommé MS), le noyau basal de Meynert qui englobe dans sa partie ventrale la substance innominée (l'ensemble est nommé nBM), et le noyau pédonculopontin qui au niveau postérodorsal est lié au complexe tegmental latérodorsal (l'ensemble est nommé PPT).

L'analyse de la co-détection de TSHZ3 et de la ChAT révèle, que la grande majorité des CINs du striatum exprime TSHZ3 et, à l'inverse, que la ChAT est co-exprimée par une très large majorité des cellules TSHZ3 positives du striatum (Figure 46). Dans le nBM, environ un quart des cellules ChAT positives expriment TSHZ3 et vice versa (Figure 46). En revanche, l'expression de TSHZ3 n'est jamais retrouvée dans les populations cholinergiques du MS et du PPT (Figure 46). Ces résultats indiquent que la quasi-totalité des CINs et un quart des cellules cholinergiques du nBas perdront l'expression de *Tshz3* dans les souris *Tshz3-ChATCre*, alors que le MS et le PPT ne seront pas affectés.

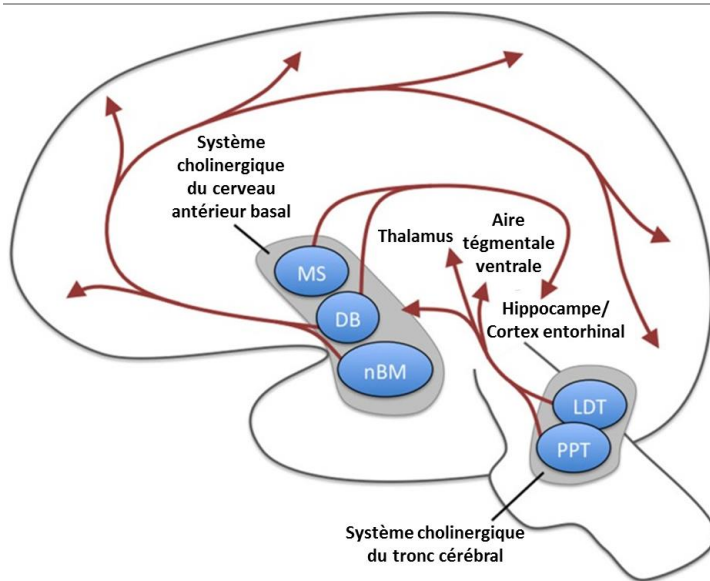


Figure 45 : Représentation schématique des principaux noyaux cholinergiques de l'encéphale et de leurs projections chez les mammifères.

Le septum médian (MS) englobe dans sa partie postéroventrale les bandes diagonales de Broca (DB). Le noyau basal de Meynert (nBM) englobe dans sa partie ventrale la substance innominée. Le noyau pédonculopontin (PPT) est lié au niveau postérodorsal au complexe tégmental latérodorsal (LDT).

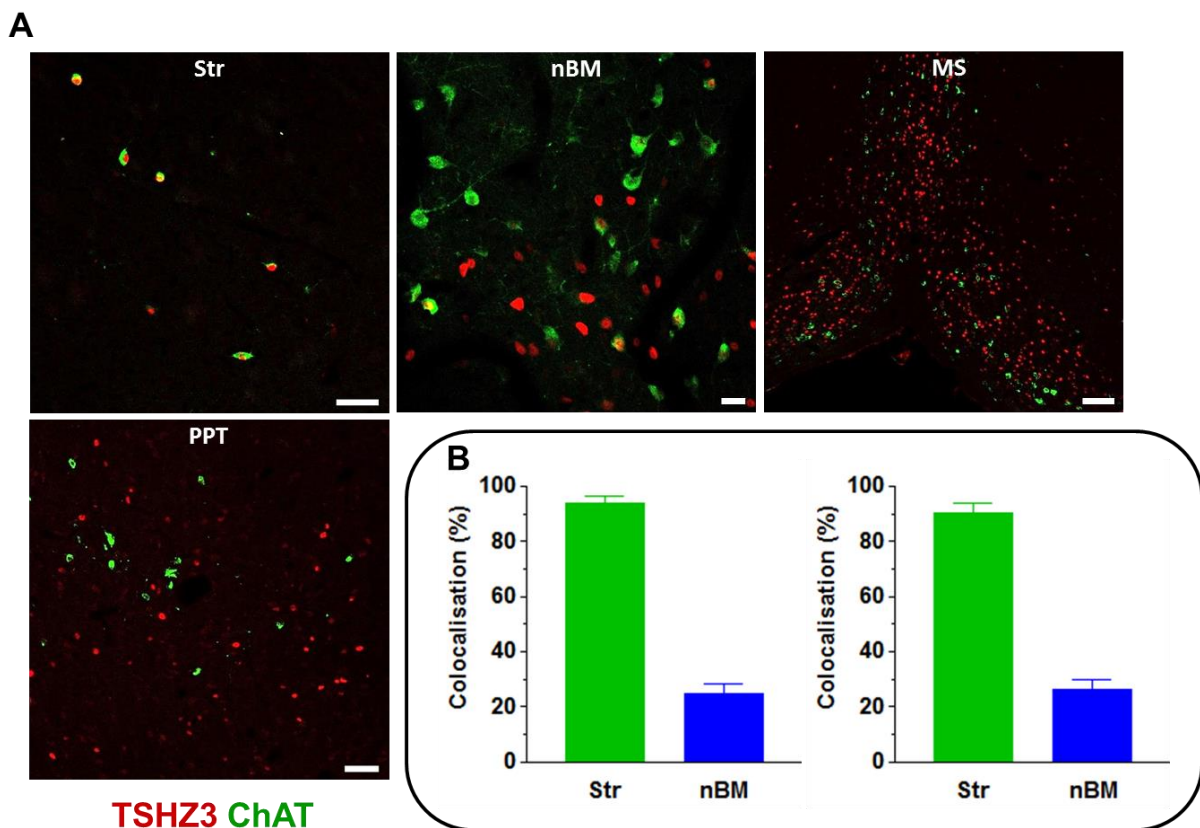


Figure 46 : Colocalisation de TSHZ3 et de la ChAT dans les différents noyaux cholinergiques de l'encéphale.

(A) Clichés montrant la détection de TSHZ3 en rouge (immunomarquage de la β -galactosidase) et immunomarquage de la ChAT en vert dans le striatum (Str, échelle : 50 μ m), le septum médian (MS, échelle : 100 μ m), le noyau basal de Meynert (nBM, échelle : 20 μ m) et le noyau pédonculopontin (PPT, échelle : 50 μ m), chez les souris *Tshz3^{+lacZ}*.

(B) Evaluation du nombre de cellules TSHZ3 positives parmi le total des cellules ChAT positives dans le Str et le nBM. Le graphique de gauche montre que le taux de colocalisation entre TSHZ3 et ChAT est très élevé dans le Str alors qu'il est plutôt faible dans le nBM (93.75 ± 2.679 vs. 24.89 ± 3.166 , $p < 0.0001$, test de Mann-Whitney). Celui de droite montre le nombre de cellules ChAT positives parmi le total des cellules TSHZ3 positives. Dans le Str, le taux de colocalisation entre la ChAT et TSHZ3 est très élevé alors qu'il est plutôt faible dans le nBM (90.23 ± 3.617 vs. 26.20 ± 3.844 , $p < 0.0001$, test de Mann-Whitney). Quantifications effectuées à partir de clichés de coupes optiques, 17 clichés pour le Str et 20 pour le nBM.

Nous avons ensuite procédé à la validation du modèle *Tshz3-ChATCre* en montrant la perte de l'expression de TSHZ3 dans les CINs striataux (Figure 47). L'expression striatale de TSHZ3 est très fortement réduite alors qu'elle est maintenue dans des neurones n'exprimant pas la ChAT, comme les neurones du cortex par exemple (Figure 47A). De plus, un rapporteur fluorescent d'activité de la Cre recombinase (la YFP) exprimé chez la souris *Tshz3-ChATCre* permet la visualisation des CINs dans lesquelles l'expression de *Tshz3* est probablement perdue (Figure 47B).

Nous avons achevé cette caractérisation en montrant que la densité de cellules ChAT positives du striatum n'est pas modifiée suite à la délétion de *Tshz3* dans les souris *Tshz3-ChATCre*, comparé aux souris Cre- (Figure 48).

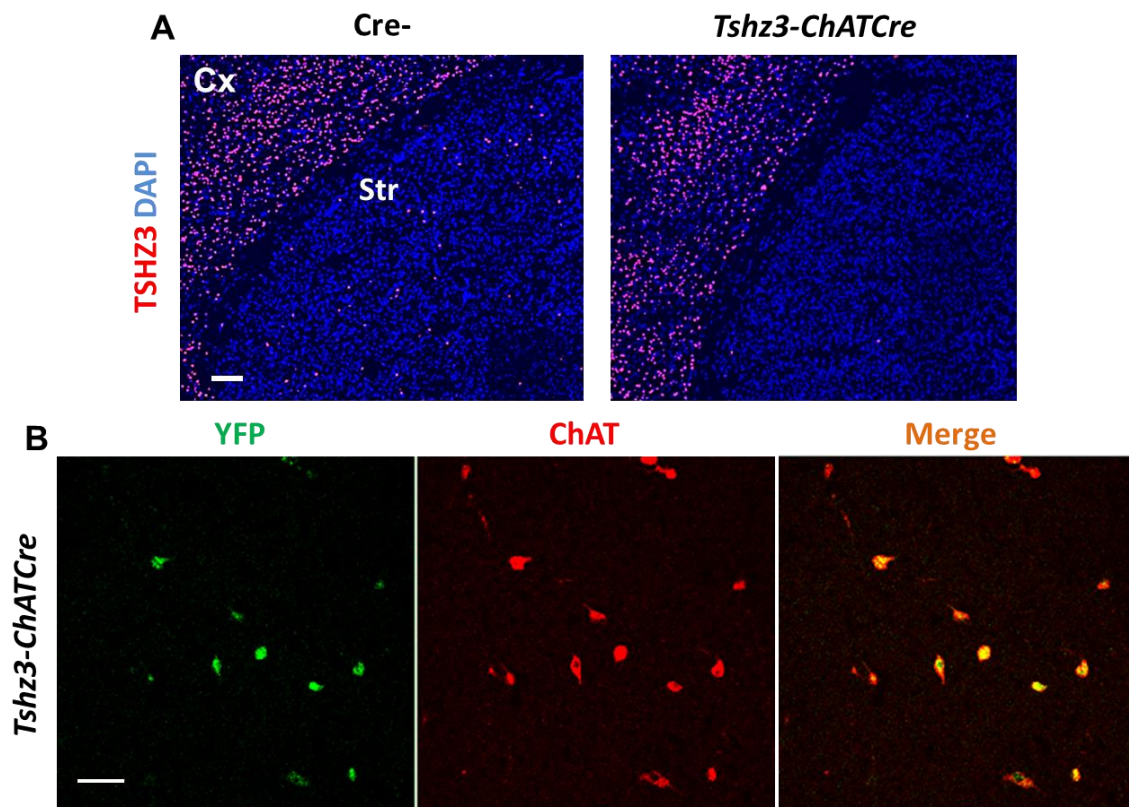


Figure 47 : Validation du modèle *Tshz3-ChATCre*.

(A) Chez les souris *Tshz3-ChATCre*, l'expression de TSHZ3 est diminuée de façon drastique dans le striatum alors qu'elle est maintenue dans le cortex. Anti-TSHZ3 (rouge) ; DAPI (bleu) ; Str, striatum ; Cx, cortex ; échelle : 100 μ m.

(B) Les CINs Cre⁺ des souris *Tshz3-ChATCre* sont YFP positifs (vert). YFP, yellow fluorescent protein ; ChAT, choline acétyl transférase ; échelle : 50 μ m.

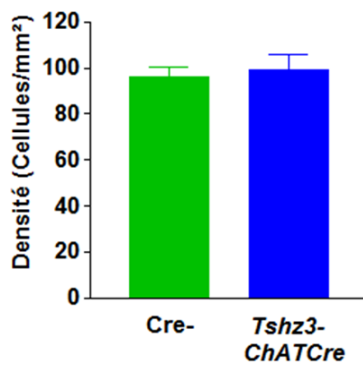


Figure 48 : Quantification de la densité de cellules positives pour la ChAT dans le striatum des souris Cre- et Tshz3-ChATCre.

Le nombre de cellules positives pour la ChAT ne diffère pas entre le striatum des souris Cre- et Tshz3-ChATCre (95.57±3.928 vs. 98.96±6.928 cellules/mm², p=0.69, test de Mann-Whitney, 5 héli-coupes/souris sur 5 souris ont été quantifiées).

II.2. Étude électrophysiologique des CINs dans le modèle Tshz3-ChATCre

Lors des enregistrements en configuration cellule entière (Figure 49), nous avons pu identifier deux sous-populations de CINs, présents aussi bien chez les souris Cre- que chez les souris Tshz3-ChATCre. La première population, que nous avons nommée « CINs typiques », émet de nombreux PAs à intervalles réguliers et réponds à une hyperpolarisation par l'expression d'un épaulement prononcé (Figure 50A). Les « CINs atypiques » constituant la deuxième population, émettent moins de PAs comparé aux typiques et ce de manière irrégulière (Figure 50B). Les CINs typiques et atypiques pourraient correspondre aux "*regular firing*" et "*irregular firing*" précédemment décrits (Bennett and Wilson, 1999). Ces enregistrements nous ont aussi permis d'établir la relation courant/voltage de ces neurones, et il en ressort que les CINs atypiques ont une résistance membranaire plus élevée que les CINs typiques (Figure 50C). Pour ces deux sous-populations, la régularité de la décharge spontanée a été étudiée en mesurant la distribution de l'intervalle inter-PA et son coefficient de variation (CV). Il apparaît clairement que les CINs atypiques présentent une décharge plus irrégulière que les CINs typiques et la distribution des intervalles inter-PA de ces neurones est plus étalée par rapport aux typiques (Figures 51A, B). De plus, la fréquence d'émission des PAs tend à être diminuée pour les CINs atypiques (Figure 51C), expliquant probablement le pic de la distribution des intervalles inter-PA plus bas.

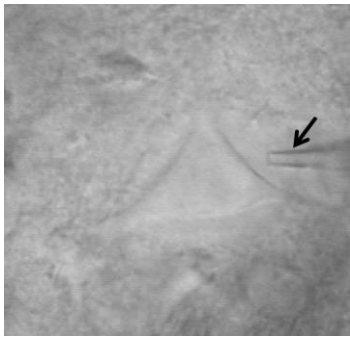


Figure 49 : Photographie d'un CIN sur coupe coronale d'un animal *Tshz3-ChATCre*.

Ce CIN est sur le point d'être enregistré : on peut distinguer la pipette de patch (flèche). Les CINs étaient repérés et sélectionnés en lumière infrarouge et filtres polarisateurs avec un objectif 40X.

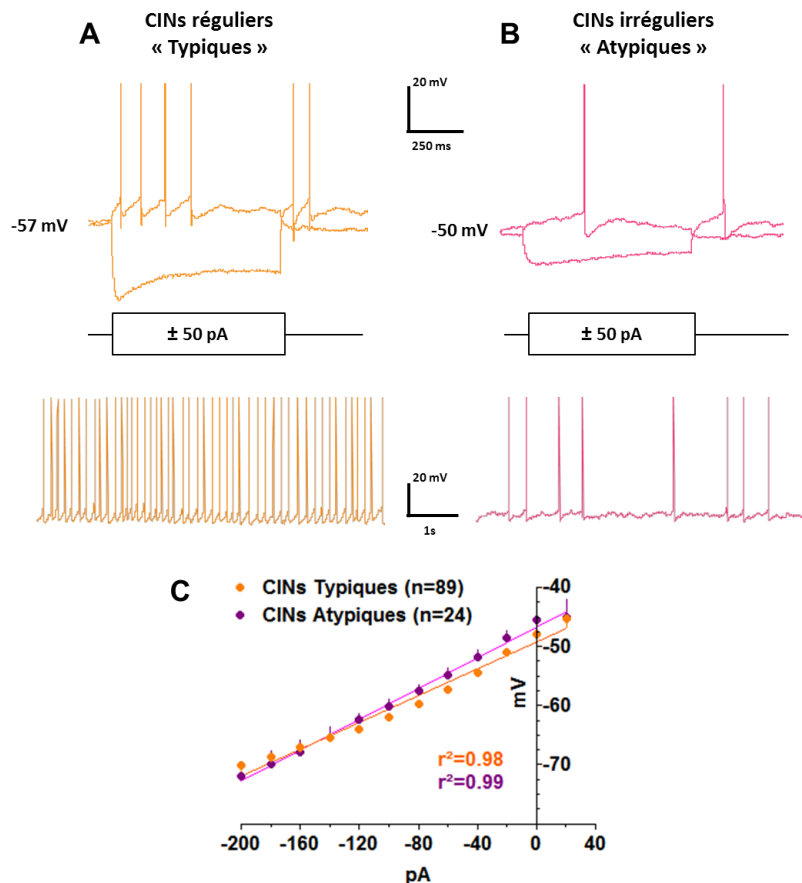


Figure 50 : Propriétés électrophysiologiques de base des CINs « Typiques » et « Atypiques » enregistrés en configuration cellule entière.

(A) Les CINs typiques (tracés oranges) répondent à une hyperpolarisation par un épaulement prononcé (en haut) et leur décharge spontanée est dense et régulière (en bas).

(B) Les CINs atypiques (tracés violets) répondent à une hyperpolarisation par un épaulement de faible amplitude (en haut) et leur décharge spontanée est éparse (en bas).

(C) Relation courant/voltage des CINs typiques et atypiques, permettant d'avoir accès à la résistance membranaire (R_i). La R_i des CINs atypiques est supérieure à celle des CINs typiques (129.6 ± 2.8 vs. 113.4 ± 5.3 M Ω , $F(1,20)=7.274$, $p=0.014$ two-way ANOVA réalisée sur les moyennes des points des ajustements linéaires à partir de 89 CINs typiques et 24 atypiques).

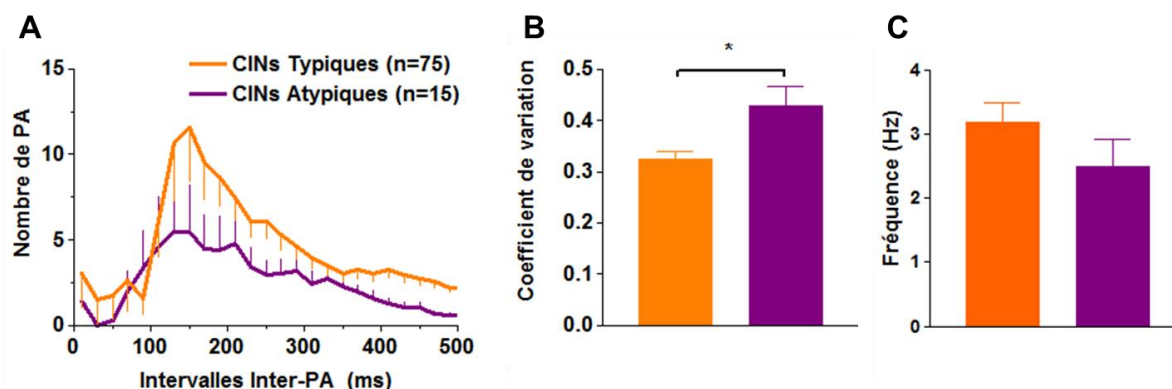


Figure 51 : Caractéristiques de la décharge spontanée des CINs typiques et atypiques enregistrés en configuration cellule entière.

(A) La distribution des intervalles inter-PA des CINs typiques se regroupe autour d'une valeur modale, alors que celle des CINs atypiques est plus étalée, soulignant l'irrégularité de leur décharge.

(B) Le coefficient de variation (CV) des CINs atypiques est supérieur ($n=15$, 0.428 ± 0.039) à celui des CINs typiques ($n=72$, 0.324 ± 0.015 , $*p=0.023$, test t de Student non apparié avec correction de Welch).

(C) La fréquence de décharge des CINs atypiques tend à être inférieure ($n=15$, 2.486 ± 0.427 Hz) à celle des CINs typiques ($n=75$, 3.180 ± 0.300 Hz, $p=0.194$, test t de Student non apparié avec correction de Welch).

II.2.a. Activité de décharge spontanée des CINs en configuration *cell-attached*

Les CINs sont des cellules qui dialysent rapidement lors des enregistrements électrophysiologiques en *patch-clamp* après le passage en configuration cellule entière. Nous nous sommes donc demandé si nos résultats n'étaient pas faussés par cette contrainte technique. Nous avons donc effectué les mêmes enregistrements de l'activité spontanée des CINs en configuration cellule attachée (*cell-attached*), pour éviter que les résultats ne soient biaisés par la dialyse. Dans cette configuration, nous confirmons les résultats obtenus lors de la première série de manipulations, à savoir : une irrégularité et une diminution de la fréquence de la décharge des CINs atypiques comparé aux CINs typiques (Figure 52). De plus, la différence de distribution des intervalles inter-PA est frappante, avec un pic modal très prononcé chez les CINs typiques, et au contraire une distribution plus hétérogène chez les CINs atypiques (Figure 52A).

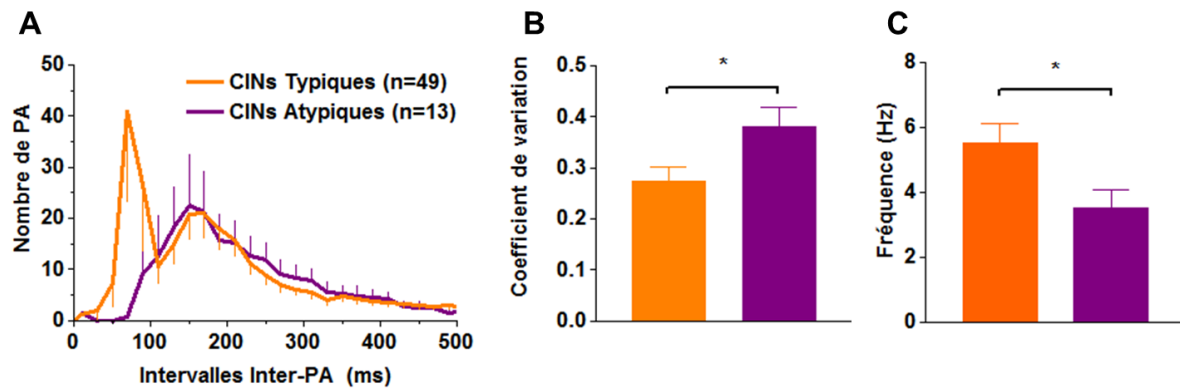


Figure 52 : Caractéristiques de la décharge des CINs typiques et atypiques enregistrés en configuration cellule attachée.

(A) La distribution des intervalles inter-PA des CINs typiques a une valeur modale nettement identifiable. En revanche, chez les CINs atypiques on observe une distribution étalée, soulignant l’irrégularité de leur décharge aussi dans cette configuration d’enregistrement.

(B) Le coefficient de variation (CV) des CINs atypiques est supérieur (n=13, 0.379 ± 0.039) à celui des CINs typiques (n=46, 0.273 ± 0.029 , *p=0.039, test t de Student non apparié avec correction de Welch).

(C) La fréquence de décharge des CINs atypiques est inférieure (n=13, 3.512 ± 0.551 Hz) à celle des CINs typiques (n=49, 5.487 ± 0.612 Hz, *p=0.0209, test t de Student non apparié avec correction de Welch).

II.2.b. Proportion de CINs typiques vs. atypiques chez les souris *Tshz3-ChATCre* et *Cre-*

Nous avons constaté que les CINs typiques et atypiques sont présents dans les deux génotypes. Cependant, la proportion de CINs atypiques est augmentée de façon très significative chez les souris les souris *Tshz3-ChATCre* par rapport aux *Cre-* (Figure 53). Ceci suggère que la délétion de *Tshz3* dans ce modèle produit un changement dans la population des CINs du striatum, en favorisant l'expression du phénotype électrophysiologique atypique à décharge irrégulière et plus lente.

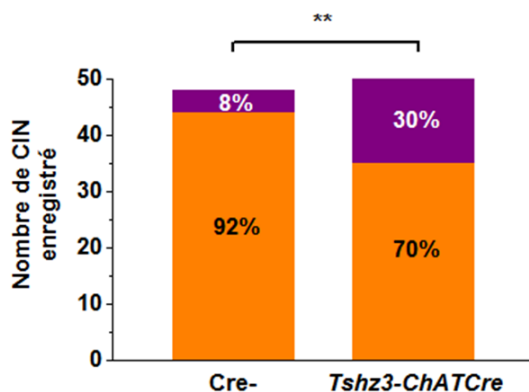


Figure 53 : Proportion des CINs typiques (orange) et atypiques (violet) dans les deux génotypes.

La proportion des CINs atypiques est augmentée chez les souris *Tshz3-ChATCre* (30%, n=15/50) par rapport aux souris *Cre-* (8%, n=4/48, **p=0.0067, test du χ^2).

DISCUSSION

I. NOTIONS PRÉLIMINAIRES À LA DISCUSSION

Dans ce travail, nous avons évalué l'impact morpho-fonctionnel de la délétion de *Tshz3* dans deux modèles murins :

- *Tshz3-pnCxKO*, où la délétion de *Tshz3* est effective dans les neurones de projections à partir de P2-3.
- *Tshz3-ChATCre*, où la délétion de *Tshz3* est effective dans les neurones cholinergiques, dès l'émergence de l'expression la ChAT.

Cette étude s'intègre dans un projet plus large, impliquant d'autres collaborateurs internes et externes à l'IBDM, qui renforcent nos données électrophysiologiques avec des résultats morphologiques, d'expression de gènes et comportementaux, obtenus sur ces mêmes modèles. Avant d'engager cette discussion je me dois d'apporter des précisions sur cet ensemble de données, obtenues chez les souris *Tshz3-pnCxKO* et *Tshz3-ChATCre*, sur lequel je m'appuierai à plusieurs reprises. Ces données seront accompagnées de la mention "non publié(es)" chaque fois qu'elles seront présentées dans cette discussion.

Je dois rappeler également que mes résultats de thèse se placent en aval d'une étude collaborative de l'équipe, parue récemment (Caubit et al., 2016), dans laquelle les auteurs font le lien entre la délétion hétérozygote de *Tshz3*, des perturbations de la circuiterie cortico-striée et les TSA. Dans cet article, les souris *Tshz3^{+/-lacZ}* présentent des anomalies comportementales de type autistique ainsi que des altérations de la transmission et de la plasticité au niveau des synapses cortico-striées : leur sociabilité est appauvrie et elles présentent une diminution d'intérêt pour la nouveauté sociale ainsi que des comportements répétitifs et une restriction de leurs champs d'intérêts.

→ **Modèle *Tshz3-pnCxKO***

Concernant ce modèle, l'équipe de L. Fasano a étudiée l'impact de la délétion de *Tshz3* sur l'arborisation dendritique des PN de la couche V et sur les MSNs en détaillant le nombre d'épines matures (*stubby*, *mushroom*) et immatures (*thin*). Ainsi, le logiciel *Neuronstudio* a permis de mettre en évidence une diminution du nombre globale d'épines dendritiques des neurones cortico-striées chez les animaux *Tshz3-pnCxKO*, notamment due à une diminution

des épines de type *stubby*, mais aucune différence n'a été détectée sur les MSNs. Il a également été montré que l'organisation du cortex en couches n'est pas perturbée dans ce modèle.

L'analyse des variations des niveaux d'expression des gènes dans le cortex cérébral par « *RNA sequencing* » (RNA-seq) montre une profonde modification de plusieurs centaines de gènes, dont des « *synaptic genes* » qui codent des protéines synaptiques du *synaptome*. En particulier une diminution des éléments du compartiment présynaptique, comme les protéines indispensables à la fusion des vésicules (synaptobrevines, synapsine, etc.) et à l'inverse une augmentation des éléments du compartiment postsynaptique, comme des sous-unités des récepteurs NMDA.

Enfin, dans le but d'évaluer le lien entre la délétion postnatale de *Tshz3* et les TSA, des études comportementales ont été effectuées afin de déceler les éventuels symptômes caractéristiques. Cette analyse a révélé que les souris *Tshz3-pnCxKO* présentent une augmentation des comportements stéréotypés dans le test d'enfouissement de billes (*marble burying*) et de la "planche à trous" (*holeboard*), ainsi qu'une restriction des champs d'intérêt et un comportement anxieux (*open field*). De plus, ces souris ont une sociabilité diminuée ainsi qu'un faible intérêt pour la nouveauté sociale (*two-chamber test*). Ces souris présentent donc, comme les souris hétérozygotes (Caubit et al., 2016), des symptômes caractéristiques des TSA.

→ **Modèle *Tshz3-ChATCre***

Les données comportementales révèlent que ces souris présentent des comportements stéréotypés mais pas de déficits de l'interaction sociale, ni de restriction des champs d'intérêts.

II. VALIDATION DES MODÈLES ET ASPECTS MORPHOLOGIQUES

Dans un premier temps, nous avons à chaque fois validé l'efficacité du modèle en montrant que i) l'expression de TSHZ3 est bien perdue dans les populations neuronales ciblées, et ii) la délétion conditionnelle de *Tshz3* n'altère ni la morphologie, ni la densité de ces neurones.

Dans le modèle *Tshz3-pnCxKO*, nous avons montré que le nombre de PNs de la couche V n'est pas affecté et que les projections cortico-striées sont présentes. Cependant, il est important de noter que dans cette lignée, l'expression de la Cre recombinase est sous le contrôle du promoteur du gène *Camk2a*, dont l'expression débute à P2-3 dans tous les neurones de projections, comme par exemple les MSNs. Les défauts fonctionnels et comportementaux observés chez les souris *Tshz3-pnCxKO* résulteront très probablement de la perte de fonction de *Tshz3* dans les structures qui co-expriment *Tshz3* et *Camk2a* (cortex cérébrale, amygdale, thalamus et hippocampe). A noter que *Tshz3* n'est pas exprimé par les MSNs.

Concernant l'étude du modèle *Tshz3-ChATCre*, nous avons pour la première fois mis en évidence l'expression de TSHZ3 dans les principaux noyaux cholinergiques de l'encéphale. Nous avons montré que la colocalisation de TSHZ3 et de la ChAT est élevée dans le striatum, partielle dans le nBM et inexistante dans le MS et le PPT. Au cours de cette analyse, j'ai toutefois noté la présence de nombreux neurones non cholinergiques exprimant TSHZ3 dans le nBM, le MS et le PPT. Chez les souris *Tshz3-ChATCre*, le nombre de CINs du striatum n'est pas affecté par la délétion de *Tshz3*. Comme mentionné dans l'introduction, les souris *Tshz3^{lacZ/lacZ}* (délétion totale de *Tshz3*) ne peuvent pas initier la respiration, qui est notamment dépendante de l'activité des motoneurones du noyau ambigu co-exprimant TSHZ3 et la ChAT. Il est intéressant de rappeler que dans ce modèle le noyau ambigu est perdu (Caubit et al 2010) et que c'est en partie pour cette raison que les souris meurent à la naissance. Or, dans le modèle *Tshz3-ChATCre*, *Tshz3* est également perdu dans les motoneurones du noyau ambigu qui par contre est bien présent et d'apparence normale (non montré), ce qui veut dire que les souris *Tshz3-ChATCre* ne sont pas affectées de la même manière que les souris *Tshz3^{lacZ/lacZ}* par la perte de ce gène. Deux hypothèses permettent d'expliquer ces observations : i) soit TSHZ3 est requis dans les cellules cholinergiques du noyau ambigu avant la période embryonnaire à laquelle *Tshz3* est perdu

dans le modèle *Tshz3-ChATCre* (donc avant E11-12), ii) soit TSHZ3 est nécessaire dans une autre population neuronale qui fournit des facteurs trophiques et/ou favorise la survie des neurones cholinergiques du noyau ambigu. Enfin, il serait intéressant d'étudier l'expression de TSHZ3 dans la moelle épinière, qui contient de nombreux noyaux cholinergiques, et éventuellement les conséquences de la perte de son expression.

Cet ensemble de données et d'hypothèses pointe du doigt la complexité de la dynamique spatio-temporelle de l'expression de TSHZ3 et de sa fonction, déjà mise en évidence par des publications précédentes de l'équipe Fasano (Caubit et al., 2005, 2008, 2010).

III. NEURONES PYRAMIDAUX DE LA COUCHE V ET TRANSMISSION SYNAPTIQUE CORTICALE

Nous avons montré que les propriétés électrophysiologiques passives et actives des PNs de la couche V ne sont pas affectées de manière importante par la délétion de *Tshz3*. En effet, on observe seulement une diminution légère mais significative de leur excitabilité. Par contre, nous avons mis en évidence une diminution de la probabilité de libération de glutamate PA-dépendante (augmentation du PPR) par les afférences des PNs de la couche V qui pourrait perturber leur fonction et leur activité. Il est important de noter que la majorité des afférences locales des PNs de la couche V est représentée par les PNs des couches II-III (Thomson and Bannister, 2003), et que ces derniers expriment également TSHZ3 (Caubit et al., 2005, 2016). Une piste quant à un défaut propre à la terminaison présynaptique serait l'altération du complexe protéique permettant la fusion vésiculaire, notamment au niveau de protéines comme la synapsine et la synaptobrevine, comme le suggère les résultats de séquençage du cortex (non publié). Par contre, ni l'activité spontanée (sEPSCs) ni miniature (mEPSCs) ne sont affectées en termes de fréquence et d'*inter-event interval*, suggérant que la libération de glutamate PA-indépendante ne serait pas ou peu modifiée. La libération de glutamate PA-dépendante est un phénomène différent de la libération PA-indépendante (Kavalali et al., 2011; Ramirez and Kavalali, 2011). Cette dernière s'appuie essentiellement sur la fusion spontanée des vésicules avec la membrane présynaptique, alors que la première met en jeu les processus calcium-dépendants nécessaires à la fusion vésiculaire. Dans ce contexte, on peut considérer que les mEPSCs (enregistrés en présence de TTX qui inhibe les PAs) représentent exclusivement la composante PA-indépendante de la libération de neurotransmetteur, alors que les sEPSCs peuvent être aussi dus à des PAs des neurones présynaptiques provoquant la libération de neurotransmetteur.

Nous n'avons pas pu étudier la libération spontanée de GABA (sIPSCs et mEPSCs) par manque de temps (nécessité d'expériences supplémentaires en présence de CNQX et AP-5) et difficultés techniques (activité très puissante et en forme de bouffées, difficile à analyser). En effet, la diminution de la transmission glutamatergique corticale que nous avons observée pourrait entraîner une stimulation moindre des interneurons GABAergiques et donc une réduction de la libération de GABA. Par contre, nous n'avons pas trouvé des changements au niveau de leur probabilité de libération de GABA PA-dépendante (mesure

du PPR), ce qui semble être normal car ces neurones, bien qu'exprimant TSHZ3 (non publié), ne devraient pas exprimer la CaMKII et donc ne pas perdre *Tshz3* dans ce modèle.

Concernant la plasticité à long terme dans le cortex, la littérature est très pauvre voire absente en dehors de systèmes largement décrits comme le cortex visuel ou sensoriel (*barrels*) chez les rongeurs. Dans nos mains, des protocoles déjà expérimentés sur le cortex moteur (Guo et al., 2015) n'ont pas abouti à l'une ou l'autre des formes de plasticité, ni chez les souris contrôles ni chez les *Tshz3-pnCxKO*. En effet, nous avons utilisé des protocoles censés induire une LTD, mais nous avons obtenu soit une potentialisation, soit pas d'effet. Une de nos hypothèses est que la haute densité d'afférences au niveau des PNs de la couche V empêcherait le recueil d'un signal stable sur une longue durée, et cette variabilité pourrait masquer les phénomènes de plasticité synaptique à long terme. D'un point de vue expérimental, il est vrai que pendant les enregistrements effectués nous rencontrions souvent un "bruit de fond" synaptique marqué, sans doute dû aux nombreuses afférences issues des réseaux corticaux adjacents. Par manque de temps nous n'avons pas pu tester d'autres protocoles, comme par exemple ceux induisant la « *spike-timing dependent plasticity* » déjà démontrés comme efficaces dans diverses structures (Debanne and Poo, 2010; Fino and Venance, 2010). A l'avenir, trouver un protocole permettant d'induire une plasticité à long terme dans le cortex de ces souris sera évidemment une priorité.

IV. LA SYNAPSE CORTICO-STRIÉE

Chez les souris *Tshz3-pnCxKO*, les projections cortico-striées sont présentes et le nombre d'épines dendritiques des MSNs n'est pas modifié (non publié). Malgré cette absence de perturbations morphologiques majeures, pourtant retrouvées dans des modèles d'études des TSA comme *Shank3* et *Nlgn1* (Blundell et al., 2010; Peça et al., 2011), nous montrons une profonde altération fonctionnelle de la synapse cortico-striée au niveau des MSNs. Notamment, une forte diminution de la libération de glutamate dépendante du PA, montrée par une augmentation du PPR ainsi qu'une réduction de la fréquence et une augmentation de l'*inter-event interval* des sEPSCs, alors que les mEPSCs sont inchangés. Ces résultats sont accompagnés par une augmentation du ratio NMDA/AMPA et une diminution de l'amplitude des sEPSCs, suggérant que des modifications postsynaptiques sont également présentes au niveau des MSNs, notamment une mise en jeu accrue des récepteurs NMDA et/ou une diminution de l'activité des récepteurs AMPA.

Différents mécanismes et/ou molécules pourraient induire des modifications de la probabilité de libération du glutamate PA-dépendante dans notre modèle souris *Tshz3-pnCxKO*, comme par exemple la capacité des PNs de la couche V du cortex à générer des PAs, et/ou un défaut propre à la machinerie intrinsèque de la terminaison présynaptique responsable de l'exocytose des vésicules. De façon intéressante, l'analyse du RNA-seq réalisée sur le cortex cérébral nous indique que des éléments du compartiment présynaptique sont moins exprimés chez les souris *Tshz3-pnCxKO* (non publiée), ce qui va dans le sens d'une diminution de la libération du glutamate. Dans le cas des PNs de la couche V, qui forment la voie cortico-striée, les protéines issues de ces ARNm peuvent en effet se retrouver exprimées dans leurs terminaisons, c'est à dire au niveau présynaptique de la synapse cortico-striée. Par exemple, il a été démontré que l'altération du gène codant pour la synaptotagmine I, chez la souris, induit une réduction de l'activité spontanée dans l'hippocampe (Geppert et al., 1994). De plus, il a été montré que la perte de synaptobrevine résulte en un blocage total de la transmission synaptique PA-dépendante (Deitcher et al., 1998). Il semble donc que la perte d'expression du facteur de transcription TSHZ3 dans les neurones pyramidaux, en produisant des altérations au niveau de l'expression des protéines impliquées dans la fusion vésiculaire présynaptique, résulterait en une réduction de la

libération de glutamate via, par exemple, la modulation de la concentration calcique et/ou une moindre efficacité de la machinerie de libération vésiculaire. L'ensemble de ces données accentue la notion de déséquilibre pré- vs. postsynaptique aperçue au niveau du cortex avec, dans le striatum, un défaut subséquent au niveau des récepteurs NMDA et AMPA.

Chez la souris *Tshz3-pnCxKO*, nous avons observé une absence de la LTD cortico-striée, qui est remplacée par une potentialisation transitoire et partiellement restaurée par le blocage des récepteurs NMDA. Pour expliquer l'absence de LTD chez le mutant nous avons plusieurs hypothèses : d'après nos résultats, la transmission basale (sEPSCs) de cette synapse est déjà très faible, il serait alors difficile de diminuer ou d'affaiblir d'avantage un système qui est déjà "déprimé" ; il y aurait donc une occlusion de la LTD. Un autre phénomène, pouvant également s'ajouter au premier, est le fait que la signalisation NMDA est anormalement élevée dans cette synapse. Cela favoriserait la hausse de la concentration calcique postsynaptique lors du protocole d'induction de la LTD, et ce malgré le maintien à -80 mV du MSN enregistré au cours des stimulations à haute fréquence. En effet, les dendrites distales et proximales peuvent facilement échapper au *voltage-clamp*, et donc se dépolariser suffisamment pour permettre l'activation massive des récepteurs NMDA qui sont d'ailleurs déjà plus actifs. Or la LTP, contrairement à la LTD, est NMDA-dépendante (Calabresi et al., 2000a), et cette activation excessive de ces récepteurs pourrait donc empêcher l'induction de la LTD et même conduire à sa "substitution" par cette LTP transitoire que nous avons observée. Afin d'évaluer cette hypothèse nous avons effectué des enregistrements des MSNs chez les *Tshz3-pnCxKO* en présence d'un antagoniste des récepteurs NMDA, et en effet nous avons réussi à restaurer partiellement la LTD. Etant donné que l'induction de la LTD repose en grande partie sur des phénomènes présynaptiques (Lovinger, 2010), d'autres mécanismes pourraient être impliqués en parallèle à ceux mentionnés ci-dessus. Par exemple, l'induction de la LTD requiert aussi la synthèse et la libération d'endocannabinoïdes par les MSNs qui agissent sur les récepteurs CB1 présynaptiques, synthèse qui dépend, entre autre, de l'activation des récepteurs mGlu1 (Gubellini et al., 2001). Une modification de la sensibilité de ces récepteurs pourrait donc intervenir dans la perte de la LTD. Enfin, un autre acteur pourrait être à l'origine de la perte de la LTD chez ces souris : en effet le NO est également impliqué dans la LTD striatale via l'activation de la GMPc (Calabresi et al., 1999c), et est synthétisé par les interneurons SOM

striataux : on peut donc imaginer qu'une diminution de l'*input* des neurones pyramidaux sur ces interneurons puisse réduire la synthèse et la libération de NO, et ainsi contribuer à la perte de la LTD.

Dans le modèle *Tshz3-pnCxKO*, nos données électrophysiologiques montrent que la circuiterie cortico-striée est affectée au niveau des afférences des PNs de la couche V et de ces neurones eux-mêmes, ainsi qu'au niveau de la synapse cortico-striée. Cela suggère que les altérations comportementales observées seraient liées à ces défauts et/ou, possiblement, à d'autres neurones de projection qui co-expriment TSHZ3 et la CaMKII. Nous ne pouvons toutefois pas exclure une contribution des CINs, étant donné l'observation d'une baisse d'expression de TSHZ3 dans le striatum. Des expériences sont en cours afin de déterminer si cette réduction s'explique par une expression de CaMKII dans les CINs, qui n'a jamais été décrite, ou résulte indirectement des défauts des neurones cortico-striés. Dans l'ensemble, ces résultats sont intéressants puisqu'ils permettent d'associer des perturbations neuronales et synaptiques du circuit cortico-strié dus à la perte de *Tshz3* dans des populations neuronales spécifiques, à des défauts comportementaux de type TSA.

V. LES INTERNEURONES CHOLINERGIQUES

Nos enregistrements des CINs confirment l'existence de deux sous-populations identifiables par leurs patrons de décharge (Bennett and Wilson, 1999) : des interneurons émettant des PAs de façon régulière, que nous appelons CINs typiques, et d'autres émettant des PAs de façon irrégulière, que nous appelons CINs atypiques. Nous avons vu que la délétion de *Tshz3* ne change pas le nombre total de CINs dans le striatum. Cependant, nous observons que la proportion de CINs atypiques est significativement augmentée chez les souris *Tshz3-ChATCre*, où elle passe de 8 à 30%. Cela suggère un changement des propriétés électrophysiologiques d'une partie des CINs typiques qui "deviendraient" des atypiques en absence de *Tshz3* (voir ci-dessous pour plus de détails). En termes fonctionnels, puisque la fréquence de décharge des CINs atypiques est plus faible, on peut s'attendre à une diminution du taux de libération basale d'acétylcholine dans le striatum. Etant donné que ce neurotransmetteur joue un rôle clé dans la régulation de l'excitabilité des MSNs dans cette structure, ainsi que dans la modulation de la transmission cortico-striée au niveau pré- et postsynaptique (Calabresi et al., 2000b; Goldberg and Wilson, 2010), il est essentiel d'évaluer par électrophysiologie les conséquences de la perte de *Tshz3* dans les CINs sur ces paramètres. Notamment, nous nous attendons à observer des changements au niveau pré- et/ou postsynaptique dans la transmission synaptique striatale, des altérations de la plasticité (LTD, LTP), ainsi qu'une possible diminution de l'excitabilité des neurones striataux. Par exemple, une moindre stimulation des récepteurs M1 des MSNs pourrait se traduire par une moindre excitabilité de ces neurones. Dans ce contexte, il serait également intéressant de mesurer les taux extracellulaires d'ACh, par exemple par voltamétrie sur tranche ou microdialyse *in vivo*.

Au sein du système nerveux central, l'ACh est essentielle pour évaluer la valeur d'un stimulus environnemental et savoir s'il représente une récompense ou une menace (Pepeu and Giovannini, 2004). Le striatum est l'une des structures cérébrales présentant les taux d'ACh les plus élevés et les CINs représentent la principale source de l'innervation cholinergique du striatum. Les CINs, de par leur champ neuritique étendus et leur activité autonome, forment un réseau intrastriatal hautement organisé, à l'interface des afférences striatales et des MSNs. Ils jouent un rôle important dans la flexibilité cognitive, qui consiste

en la capacité d'adapter son comportement à une nouvelle donnée de l'environnement qui peut être inattendue (Prado et al., 2017). Un exemple de cette flexibilité est le phénomène de « switch attentionnel », mettant également en jeu le thalamus (Minamimoto and Kimura, 2002). En effet, les CINs correspondraient aux TANs (*tonically active neurons*) enregistrés *in vivo* chez les primates au niveau du putamen ; cette corrélation a été faite sur la base de caractéristiques immunohistochimiques (réactivité à la ChAT), morphologiques et électrophysiologiques (Inokawa et al., 2010). De par leurs propriétés *pacemaker*, les CINs/TANs émettent constamment des PAs, mais c'est bien un arrêt synchrone de cette activité tonique qui a été souligné comme crucial pour avoir une répercussion comportementale. En particulier, des changements de l'activité des TANs ont été mis en lien avec l'apprentissage, le renforcement moteur et la prédiction de la récompense. Par exemple, lors d'une tâche classique de conditionnement sensorimoteur Pavlovien, quelques secondes après la présentation du stimulus on observe une pause de la décharge des CINs/TANs, qui peut être précédée et/ou suivie par une augmentation transitoire de l'activité (*burst*) avant de revenir à la fréquence de base. Cette séquence stéréotypée a été décrite comme « *conditioned pause response* » (Aosaki et al., 1994), et la pause de l'activité a en effet été impliquée dans le codage de la valeur pertinente d'un stimulus extérieur. Ainsi, les changements d'activité des CINs/TANs pourraient contribuer à l'apprentissage associatif et plus précisément assureraient la continuité entre le contexte environnemental et la sortie comportementale. Les circuits neuronaux responsables de ce type de réponse sont encore mal connus et débattus ; ils incluraient les afférences thalamiques, source majeure de l'innervation glutamatergique des CINs, ainsi que celles issues de la SNc (Matsumoto et al., 2001; Reynolds et al., 2004; Straub et al., 2014). Or, on pourrait imaginer que les CINs atypiques participent à ces phénomènes complexes de manière différente par rapport aux CINs typiques, majoritaires en situation normale. Le fait que chez la souris *Tshz3-ChATCre* nous observons une présence accrue des CINs atypiques pourrait donc se traduire par une modification des réponses neuronales et comportementales décrites ci-dessus et contribuer aux comportements répétitifs mis en évidence.

Il serait intéressant de pouvoir expliquer du point de vue moléculaire la différence entre les patrons de décharge des CINs typiques et atypiques, qui sont sous le contrôle de nombreux canaux/courants ioniques (voir partie IV.1 du cadre théorique). Par exemple le

courant I_h , qui provoque un retour rapide vers des potentiels linaires permettant ainsi au neurone d'émettre de nouveau un PA, est diminué chez les CINs atypiques. Afin de répondre à cette question, nous pourrions effectuer des expériences de rétro transcription sur cellule unique (*single-cell RT-PCR*) après avoir aspiré dans la pipette le CIN précédemment enregistré, pour ensuite évaluer les différences d'expressions des canaux ioniques entre des CINs typiques et atypiques (par exemple, les canaux HCN 1 à 4 responsables du courant I_h). Enfin, nous pourrions étudier aussi les propriétés intrinsèques des CINs dans le modèle hétérozygote ($Tshz3^{+/lacZ}$). En effet, dans ce modèle, qui mime au mieux la pathologie humaine, la perte hétérozygote de *Tshz3* concerne l'ensemble des cellules exprimant ce facteur de transcription, y compris les CINs. Cette approche pourrait donc nous fournir d'importants renseignements quant à leur rôle dans la régulation de l'activité et de la plasticité cortico-striée, ainsi que des circuits intrastriataux, qui dépendent de façon importante de l'ACh, et confirmer l'implication des CINs dans les symptômes des TSA.

Les CINs sont distribués de manière homogène à travers les différents territoires fonctionnels du striatum. Comme nous l'avons vu dans le IV.2.a du cadre théorique, ces neurones reçoivent des afférences glutamatergiques, dopaminergiques, GABAergiques et cholinergiques. Il existe cependant des différences régionales au sein du striatum. Par exemple, les afférences dopaminergiques du striatum dorsal sont principalement issues de la SNc, alors que celles du striatum ventral proviennent aussi de l'aire tegmentale ventrale. L'innervation de la partie ventrale du striatum serait aussi plus diversifiée que celle de la partie dorsale, avec notamment des afférences issues de l'hippocampe, de l'amygdale et de l'hypothalamus latéral. De plus, des études immunohistochimiques effectuées chez de nombreuses espèces (rongeurs, primates, oiseaux etc.) ont permis de décrire un autre type d'organisation fonctionnelle du striatum : les striosomes (ou *patch*), qui couvrent environ 30% du volume striatal, et la matrice (Malach and Graybiel, 1986; Gerfen, 1992; Kincaid and Wilson, 1996). Ces deux compartiments sont identifiables du point de vue i) histologique (les striosomes forment des « îlots » positifs, entre autre, à l'immunomarquage des récepteurs μ -opioïdes) et ii) fonctionnel (que nous ne détaillerons pas ici). Cette organisation est conservée au cours de l'évolution et doit probablement jouer un rôle fonctionnel crucial au sein du striatum. La répartition des CINs dans ces compartiments suit un schéma particulier : en effet, ces interneurons sont retrouvés dans les deux compartiments mais, lorsqu'ils sont

dans la matrice, ils s'agencent surtout sur le pourtour des striosomes (van Vulpen and van der Kooy, 1998; Brimblecombe and Cragg, 2017). Dans ce contexte, une hypothèse développementale pourrait expliquer l'augmentation de proportion des CINs atypiques chez les souris *Tshz3-ChATCre*. En effet, chez la souris à E11, l'expression de la ChAT émerge dans l'encéphale (Semba and Fibiger, 1988) et la différenciation des précurseurs neuronaux en neurones cholinergiques se fait entre E12 et E17. Les neurones cholinergiques qui deviennent postmitotiques (ou différenciés) autour de E13 vont se retrouver en majorité dans les striosomes, alors que ceux qui le deviennent plus tard, autour de E17, ont plus de chances de coloniser la matrice. De plus, la différenciation terminale, avec l'acquisition de l'expression de la ChAT, intervient au stade embryonnaire pour les interneurons des striosomes mais en postnatal pour ceux de la matrice (Van Vulpen and Van Der Kooy, 1996; van Vulpen and van der Kooy, 1998). Il semble donc exister deux programmes développementaux différents pour les CINs des striosomes et de la matrice. Sachant que la délétion de *Tshz3* chez les souris *Tshz3-ChATCre* débute dès que la ChAT est exprimée, il est tentant de penser que *Tshz3* serait requis pour le bon déroulement de ces programmes développementaux. On pourrait imaginer que la proportion de neurones cholinergiques qui se développe anormalement en CINs atypiques chez la souris mutante correspondrait majoritairement aux CINs des striosomes. Pour vérifier cette hypothèse, nous pourrions effectuer des enregistrements des CINs dans les parties antérieures du striatum, où le volume striatal occupé par les striosomes est plus important, et donc où la proportion de CINs atypiques devrait augmenter (Desban et al., 1993). Nous pourrions également étudier si la cinétique de différenciation terminale des CINs dans ces deux compartiments est modifiée chez les souris *Tshz3-ChATCre*.

Un nombre croissant de données de la littérature montre l'implication spécifique des CINs du striatum dans les TSA, et particulièrement dans les comportements stéréotypés (associés ou pas aux TSA). Par exemple, l'ablation de ces neurones chez la souris provoque une augmentation dramatique des comportements persévérants (Martos et al., 2017), alors que la restauration de la transmission cholinergique striatale peut améliorer les stéréotypies chez le rat traité par la cocaïne (qui réduit les niveaux d'ACh) (Aliane et al., 2011). Enfin, les populations d'interneurones PV et CINs sont réduites dans le striatum de modèles murins de TSA (Rapanelli et al., 2017). D'après nos résultats morphologiques dans l'encéphale, la

délétion de *Tshz3* chez les souris *Tshz3-ChATCre* concerne la quasi-totalité des CINs du striatum (et environ 1/4 des cellules cholinergiques du nBM). Bien que le nombre de CINs ne soit pas affecté, nous avons vu qu'une proportion significative de ces neurones adopte un patron de décharge réduit (CINs atypiques), et les études comportementales des souris *Tshz3-ChATCre* révèlent des stéréotypies évaluées par le test d'enfouissement des billes et par la mesure du *leaning* dans l'*open field* (exploration active de l'environnement par redressement sur les pattes postérieures, non publié). Par contre, ces souris ne montrent pas les autres symptômes des TSA, notamment les déficits des interactions sociales. Ces résultats suggèrent que les changements observés dans l'activité des CINs (et/ou une modification physiologique des cellules cholinergiques du nBM) dus à la perte de *Tshz3* seraient sélectivement associés à ces comportements répétitifs.

VI. CONCLUSIONS

D'après l'étude précédente de l'équipe (Caubit et al., 2016), il est clair que la délétion hétérozygote de *Tshz3* est liée aux TSA. Ici, nous confirmons ce lien et enrichissons les connaissances sur les conséquences anatomo-fonctionnelles de la délétion de ce gène au niveau de la circuiterie cortico-striée. L'originalité de cette étude est qu'elle permet d'apporter des informations sur le moment et les populations neuronales liés à l'altération de ce circuit, subséquente à cette mutation, et de proposer des relations plus précises avec les troubles comportementaux engendrés.

Il est intéressant de noter que, dans chaque maillon testé de ce circuit, nous trouvons une diminution de l'activité neuronale intrinsèque et/ou synaptique. Ainsi dans le circuit cortical, où les neurones pré- et postsynaptiques perdent l'expression de *Tshz3*, nous trouvons une excitabilité moindre des PN de la couche V et une diminution de leur activité synaptique. Au niveau du circuit cortico-strié, nous assistons à des profondes perturbations pré- et postsynaptiques, ces dernières probablement dues à des phénomènes de compensation, étant donné que les MSNs n'expriment pas TSHZ3. Toujours dans le striatum, nous assistons à l'augmentation d'une proportion de CINs dans lesquels la perte de *Tshz3* résulte en une activité de décharge réduite et irrégulière.

Par ailleurs, ces altérations fonctionnelles sont accompagnées par des modifications d'expression de gènes du *synaptome* et des défauts comportementaux de type TSA (non publié). De façon intéressante, ces derniers semblent être sous-tendus par différentes parties du circuit cortico-strié : ainsi, les stéréotypies seraient liées spécifiquement au dysfonctionnement des CINs, alors que le dysfonctionnement du circuit cortico-strié produirait la totalité des déficits comportementaux de type TSA.

L'ensemble des données présenté dans ce manuscrit met une nouvelle fois en exergue l'implication de la circuiterie cortico-striée dans les TSA, comme c'est le cas dans d'autres modèles expérimentaux et chez les patients atteints de cette pathologie neurodéveloppementale.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abercrombie, E.D., DeBoer, P., 1997. Substantia nigra D1 receptors and stimulation of striatal cholinergic interneurons by dopamine: a proposed circuit mechanism. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 8498–8505.
- Agmon, A., Connors, B.W., 1992. Correlation between intrinsic firing patterns and thalamocortical synaptic responses of neurons in mouse barrel cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 12, 319–329.
- Albin, R.L., Young, A.B., Penney, J.B., 1989. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci.* 12, 366–375.
- Albuquerque, E.X., Pereira, E.F.R., Alkondon, M., Rogers, S.W., 2009. Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function. *Physiol. Rev.* 89, 73–120. doi:10.1152/physrev.00015.2008
- Alcamo, E.A., Chirivella, L., Dautzenberg, M., Dobрева, G., Fariñas, I., Grosschedl, R., McConnell, S.K., 2008. *Satb2* regulates callosal projection neuron identity in the developing cerebral cortex. *Neuron* 57, 364–377. doi:10.1016/j.neuron.2007.12.012
- Alderson, R.F., Alterman, A.L., Barde, Y.A., Lindsay, R.M., 1990. Brain-derived neurotrophic factor increases survival and differentiated functions of rat septal cholinergic neurons in culture. *Neuron* 5, 297–306.
- Alexander, G.E., DeLong, M.R., Strick, P.L., 1986. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu. Rev. Neurosci.* 9, 357–381. doi:10.1146/annurev.ne.09.030186.002041
- Alexandre, E., Graba, Y., Fasano, L., Gallet, A., Perrin, L., De Zulueta, P., Pradel, J., Kerridge, S., Jacq, B., 1996. The *Drosophila* teashirt homeotic protein is a DNA-binding protein and modulo, a HOM-C regulated modifier of variegation, is a likely candidate for being a direct target gene. *Mech. Dev.* 59, 191–204.
- Aliane, V., Pérez, S., Bohren, Y., Deniau, J.-M., Kemel, M.-L., 2011. Key role of striatal cholinergic interneurons in processes leading to arrest of motor stereotypies. *Brain J. Neurol.* 134, 110–118. doi:10.1093/brain/awq285
- Alkon, D.L., Nelson, T.J., 1990. Specificity of molecular changes in neurons involved in memory storage. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 4, 1567–1576.
- American Psychiatric Association, 2013. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5®)*. American Psychiatric Pub.
- Anderson, C.T., Sheets, P.L., Kiritani, T., Shepherd, G.M.G., 2010. Sublayer-specific microcircuits of corticospinal and corticostriatal neurons in motor cortex. *Nat. Neurosci.* 13, 739–744. doi:10.1038/nn.2538
- Aosaki, T., Kawaguchi, Y., 1996. Actions of substance P on rat neostriatal neurons in vitro. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 16, 5141–5153.
- Aosaki, T., Tsubokawa, H., Ishida, A., Watanabe, K., Graybiel, A.M., Kimura, M., 1994. Responses of tonically active neurons in the primate's striatum undergo systematic changes during behavioral sensorimotor conditioning. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 14, 3969–3984.
- Apicella, P., Legallet, E., Trouche, E., 1997. Responses of tonically discharging neurons in the monkey striatum to primary rewards delivered during different behavioral states. *Exp. Brain Res.* 116, 456–466.

- Araneda, R., Andrade, R., 1991. 5-Hydroxytryptamine₂ and 5-hydroxytryptamine 1A receptors mediate opposing responses on membrane excitability in rat association cortex. *Neuroscience* 40, 399–412.
- Arlotta, P., Molyneaux, B.J., Chen, J., Inoue, J., Kominami, R., Macklis, J.D., 2005. Neuronal subtype-specific genes that control corticospinal motor neuron development in vivo. *Neuron* 45, 207–221. doi:10.1016/j.neuron.2004.12.036
- Aronoff, R., Matyas, F., Mateo, C., Ciron, C., Schneider, B., Petersen, C.C.H., 2010. Long-range connectivity of mouse primary somatosensory barrel cortex. *Eur. J. Neurosci.* 31, 2221–2233. doi:10.1111/j.1460-9568.2010.07264.x
- Ascher, P., Nowak, L., 1988. The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of mouse central neurones in culture. *J. Physiol.* 399, 247–266.
- Augood, S.J., Emson, P.C., 1994. Adenosine A_{2a} receptor mRNA is expressed by enkephalin cells but not by somatostatin cells in rat striatum: a co-expression study. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 22, 204–210.
- Avesar, D., Gullledge, A.T., 2012. Selective serotonergic excitation of callosal projection neurons. *Front. Neural Circuits* 6, 12. doi:10.3389/fncir.2012.00012
- Azam, L., Winzer-Serhan, U., Leslie, F.M., 2003. Co-expression of alpha7 and beta2 nicotinic acetylcholine receptor subunit mRNAs within rat brain cholinergic neurons. *Neuroscience* 119, 965–977.

B

- Bargas, J., Ayala, G.X., Vilchis, C., Pineda, J.C., Galarraga, E., 1999. Ca²⁺-activated outward currents in neostriatal neurons. *Neuroscience* 88, 479–488.
- Barone, P., Kennedy, H., 2000. Non-uniformity of neocortex: areal heterogeneity of NADPH-diaphorase reactive neurons in adult macaque monkeys. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 10, 160–174.
- Barrett, G.L., 2000. The p75 neurotrophin receptor and neuronal apoptosis. *Prog. Neurobiol.* 61, 205–229.
- Barria, A., Muller, D., Derkach, V., Griffith, L.C., Soderling, T.R., 1997. Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation. *Science* 276, 2042–2045.
- Baumann, S.W., Baur, R., Sigel, E., 2003. Individual properties of the two functional agonist sites in GABA(A) receptors. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 23, 11158–11166.
- Bear, M.F., Abraham, W.C., 1996. Long-term depression in hippocampus. *Annu. Rev. Neurosci.* 19, 437–462. doi:10.1146/annurev.ne.19.030196.002253
- Bear, M.F., Malenka, R.C., 1994. Synaptic plasticity: LTP and LTD. *Curr. Opin. Neurobiol.* 4, 389–399.
- Beaulieu, J.-M., Gainetdinov, R.R., 2011. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol. Rev.* 63, 182–217. doi:10.1124/pr.110.002642
- Bedogni, F., Hodge, R.D., Elsen, G.E., Nelson, B.R., Daza, R.A.M., Beyer, R.P., Bammler, T.K., Rubenstein, J.L.R., Hevner, R.F., 2010. *Tbr1* regulates regional and laminar identity of postmitotic neurons in developing neocortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 13129–13134. doi:10.1073/pnas.1002285107

- Bell, M.I., Richardson, P.J., Lee, K., 2002. Functional and molecular characterization of metabotropic glutamate receptors expressed in rat striatal cholinergic interneurons. *J. Neurochem.* 81, 142–149.
- Beloozerova, I.N., Sirota, M.G., Swadlow, H.A., Orlovsky, G.N., Popova, L.B., Deliagina, T.G., 2003. Activity of different classes of neurons of the motor cortex during postural corrections. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 23, 7844–7853.
- Bencsits, E., Ebert, V., Tretter, V., Sieghart, W., 1999. A significant part of native gamma-aminobutyric AcidA receptors containing alpha4 subunits do not contain gamma or delta subunits. *J. Biol. Chem.* 274, 19613–19616.
- Benke, D., Fakitsas, P., Roggenmoser, C., Michel, C., Rudolph, U., Mohler, H., 2004. Analysis of the presence and abundance of GABAA receptors containing two different types of alpha subunits in murine brain using point-mutated alpha subunits. *J. Biol. Chem.* 279, 43654–43660. doi:10.1074/jbc.M407154200
- Bennett, B.D., Bolam, J.P., 1994. Localisation of parvalbumin-immunoreactive structures in primate caudate-putamen. *J. Comp. Neurol.* 347, 340–356. doi:10.1002/cne.903470303
- Bennett, B.D., Bolam, J.P., 1993. Characterization of calretinin-immunoreactive structures in the striatum of the rat. *Brain Res.* 609, 137–148.
- Bennett, B.D., Callaway, J.C., Wilson, C.J., 2000. Intrinsic membrane properties underlying spontaneous tonic firing in neostriatal cholinergic interneurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 20, 8493–8503.
- Bennett, B.D., Wilson, C.J., 1999. Spontaneous activity of neostriatal cholinergic interneurons in vitro. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 19, 5586–5596.
- Berger, T.K., Perin, R., Silberberg, G., Markram, H., 2009. Frequency-dependent disinaptic inhibition in the pyramidal network: a ubiquitous pathway in the developing rat neocortex. *J. Physiol.* 587, 5411–5425. doi:10.1113/jphysiol.2009.176552
- Berger, T.K., Silberberg, G., Perin, R., Markram, H., 2010. Brief bursts self-inhibit and correlate the pyramidal network. *PLoS Biol.* 8. doi:10.1371/journal.pbio.1000473
- Bergson, C., Mrzljak, L., Smiley, J.F., Pappy, M., Levenson, R., Goldman-Rakic, P.S., 1995. Regional, cellular, and subcellular variations in the distribution of D1 and D5 dopamine receptors in primate brain. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 15, 7821–7836.
- Bernard, V., Normand, E., Bloch, B., 1992. Phenotypical characterization of the rat striatal neurons expressing muscarinic receptor genes. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 12, 3591–3600.
- Berretta, S., Parthasarathy, H.B., Graybiel, A.M., 1997. Local release of GABAergic inhibition in the motor cortex induces immediate-early gene expression in indirect pathway neurons of the striatum. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 4752–4763.
- Bevan, M.D., Booth, P.A., Eaton, S.A., Bolam, J.P., 1998. Selective innervation of neostriatal interneurons by a subclass of neuron in the globus pallidus of the rat. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 18, 9438–9452.
- Bhojwani, J., Shashidhara, L.S., Sinha, P., 1997. Requirement of teashirt (tsh) function during cell fate specification in developing head structures in *Drosophila*. *Dev. Genes Evol.* 207, 137–146. doi:10.1007/s004270050101
- Bindman, L.J., Murphy, K.P., Pockett, S., 1988. Postsynaptic control of the induction of long-term changes in efficacy of transmission at neocortical synapses in slices of rat brain. *J. Neurophysiol.* 60, 1053–1065.

- Blackwell, K.T., Czubyko, U., Plenz, D., 2003. Quantitative estimate of synaptic inputs to striatal neurons during up and down states in vitro. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 23, 9123–9132.
- Blandina, P., Munari, L., Provensi, G., Passani, M.B., 2012. Histamine neurons in the tuberomammillary nucleus: a whole center or distinct subpopulations? *Front. Syst. Neurosci.* 6, 33. doi:10.3389/fnsys.2012.00033
- Bliss, T.V., Collingridge, G.L., 1993. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361, 31–39. doi:10.1038/361031a0
- Bliss, T.V., Gardner-Medwin, A.R., 1973. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.* 232, 357–374.
- 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. *J. Physiol.* 232, 331–356.
- Blomeley, C., Bracci, E., 2005. Excitatory effects of serotonin on rat striatal cholinergic interneurons. *J. Physiol.* 569, 715–721. doi:10.1113/jphysiol.2005.098269
- Blundell, J., Blaiss, C.A., Etherton, M.R., Espinosa, F., Tabuchi, K., Walz, C., Bolliger, M.F., Südhof, T.C., Powell, C.M., 2010. Neuroligin-1 deletion results in impaired spatial memory and increased repetitive behavior. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 2115–2129. doi:10.1523/JNEUROSCI.4517-09.2010
- Bolam, J.P., Wainer, B.H., Smith, A.D., 1984. Characterization of cholinergic neurons in the rat neostriatum. A combination of choline acetyltransferase immunocytochemistry, Golgi-impregnation and electron microscopy. *Neuroscience* 12, 711–718.
- Bonsi, P., Cuomo, D., Ding, J., Sciamanna, G., Ulrich, S., Tschertter, A., Bernardi, G., Surmeier, D.J., Pisani, A., 2007. Endogenous serotonin excites striatal cholinergic interneurons via the activation of 5-HT_{2C}, 5-HT₆, and 5-HT₇ serotonin receptors: implications for extrapyramidal side effects of serotonin reuptake inhibitors. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* 32, 1840–1854. doi:10.1038/sj.npp.1301294
- Bouyer, J.J., Park, D.H., Joh, T.H., Pickel, V.M., 1984. Chemical and structural analysis of the relation between cortical inputs and tyrosine hydroxylase-containing terminals in rat neostriatum. *Brain Res.* 302, 267–275.
- Bowie, D., 2012. Redefining the classification of AMPA-selective ionotropic glutamate receptors. *J. Physiol.* 590, 49–61. doi:10.1113/jphysiol.2011.221689
- Braitenberg, Schuz, 1998. *Cortex: statistics and geometry of neuronal connectivity*, Springer. ed. Berlin.
- Braz, B.Y., Belforte, J., Murer, M.G., Galiñanes, G.L., 2017. Properties of the corticostriatal long term depression induced by medial prefrontal cortex high frequency stimulation in vivo. *Neuropharmacology*. doi:10.1016/j.neuropharm.2017.05.001
- Brecht, M., Roth, A., Sakmann, B., 2003. Dynamic receptive fields of reconstructed pyramidal cells in layers 3 and 2 of rat somatosensory barrel cortex. *J. Physiol.* 553, 243–265. doi:10.1113/jphysiol.2003.044222
- Brickley, S.G., Revilla, V., Cull-Candy, S.G., Wisden, W., Farrant, M., 2001. Adaptive regulation of neuronal excitability by a voltage-independent potassium conductance. *Nature* 409, 88–92. doi:10.1038/35051086

- Brimblecombe, K.R., Cragg, S.J., 2017. The Striosome and Matrix Compartments of the Striatum: A Path through the Labyrinth from Neurochemistry toward Function. *ACS Chem. Neurosci.* 8, 235–242. doi:10.1021/acscchemneuro.6b00333
- Britanova, O., de Juan Romero, C., Cheung, A., Kwan, K.Y., Schwark, M., Gyorgy, A., Vogel, T., Akopov, S., Mitkovski, M., Agoston, D., Sestan, N., Molnár, Z., Tarabykin, V., 2008. *Satb2* is a postmitotic determinant for upper-layer neuron specification in the neocortex. *Neuron* 57, 378–392. doi:10.1016/j.neuron.2007.12.028
- Brodman K, 1909. *Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde.*
- Brown, S.P., Hestrin, S., 2009. Intracortical circuits of pyramidal neurons reflect their long-range axonal targets. *Nature* 457, 1133–1136. doi:10.1038/nature07658
- Bruno, R.M., 2011. Synchrony in sensation. *Curr. Opin. Neurobiol.* 21, 701–708. doi:10.1016/j.conb.2011.06.003
- Buxhoeveden, D.P., Casanova, M.F., 2002. The minicolumn and evolution of the brain. *Brain. Behav. Evol.* 60, 125–151. doi:65935

C

- Cachope, R., Mateo, Y., Mathur, B.N., Irving, J., Wang, H.-L., Morales, M., Lovinger, D.M., Cheer, J.F., 2012. Selective activation of cholinergic interneurons enhances accumbal phasic dopamine release: setting the tone for reward processing. *Cell Rep.* 2, 33–41. doi:10.1016/j.celrep.2012.05.011
- Cajal RS, 1909. *Histologie du système nerveux de l'Homme et des vertébrés.* A. Maloine.
- Calabresi, P., Centonze, D., Gubellini, P., Bernardi, G., 1999a. Activation of M1-like muscarinic receptors is required for the induction of corticostriatal LTP. *Neuropharmacology* 38, 323–326.
- Calabresi, P., Centonze, D., Gubellini, P., Marfia, G.A., Pisani, A., Sancesario, G., Bernardi, G., 2000a. Synaptic transmission in the striatum: from plasticity to neurodegeneration. *Prog. Neurobiol.* 61, 231–265.
- Calabresi, P., Centonze, D., Gubellini, P., Pisani, A., Bernardi, G., 2000b. Acetylcholine-mediated modulation of striatal function. *Trends Neurosci.* 23, 120–126.
- Calabresi, P., Centonze, D., Gubellini, P., Pisani, A., Bernardi, G., 1998. Blockade of M2-like muscarinic receptors enhances long-term potentiation at corticostriatal synapses. *Eur. J. Neurosci.* 10, 3020–3023.
- Calabresi, P., Centonze, D., Pisani, A., Bernardi, G., 1999b. Metabotropic glutamate receptors and cell-type-specific vulnerability in the striatum: implication for ischemia and Huntington's disease. *Exp. Neurol.* 158, 97–108. doi:10.1006/exnr.1999.7092
- Calabresi, P., Gubellini, P., Centonze, D., Sancesario, G., Morello, M., Giorgi, M., Pisani, A., Bernardi, G., 1999c. A critical role of the nitric oxide/cGMP pathway in corticostriatal long-term depression. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 19, 2489–2499.
- Calabresi, P., Maj, R., Pisani, A., Mercuri, N.B., Bernardi, G., 1992a. Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 12, 4224–4233.
- Calabresi, P., Picconi, B., Tozzi, A., Di Filippo, M., 2007. Dopamine-mediated regulation of corticostriatal synaptic plasticity. *Trends Neurosci.* 30, 211–219. doi:10.1016/j.tins.2007.03.001

- Calabresi, P., Picconi, B., Tozzi, A., Ghiglieri, V., Di Filippo, M., 2014. Direct and indirect pathways of basal ganglia: a critical reappraisal. *Nat. Neurosci.* 17, 1022–1030. doi:10.1038/nn.3743
- Calabresi, P., Pisani, A., Mercuri, N.B., Bernardi, G., 1992b. Long-term Potentiation in the Striatum is Unmasked by Removing the Voltage-dependent Magnesium Block of NMDA Receptor Channels. *Eur. J. Neurosci.* 4, 929–935.
- Campbell, D.B., Sutcliffe, J.S., Ebert, P.J., Militerni, R., Bravaccio, C., Trillo, S., Elia, M., Schneider, C., Melmed, R., Sacco, R., Persico, A.M., Levitt, P., 2006. A genetic variant that disrupts MET transcription is associated with autism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 16834–16839. doi:10.1073/pnas.0605296103
- Campbell, V., Berrow, N., Dolphin, A.C., 1993. GABAB receptor modulation of Ca²⁺ currents in rat sensory neurones by the G protein G(0): antisense oligonucleotide studies. *J. Physiol.* 470, 1–11.
- Campos, F., Alfonso, M., Durán, R., 2010. In vivo modulation of alpha7 nicotinic receptors on striatal glutamate release induced by anatoxin-A. *Neurochem. Int.* 56, 850–855. doi:10.1016/j.neuint.2010.03.010
- Carpenedo, R., Pittaluga, A., Cozzi, A., Attucci, S., Galli, A., Raiteri, M., Moroni, F., 2001. Presynaptic kynurenate-sensitive receptors inhibit glutamate release. *Eur. J. Neurosci.* 13, 2141–2147.
- Carter, A.G., Sabatini, B.L., 2004. State-dependent calcium signaling in dendritic spines of striatal medium spiny neurons. *Neuron* 44, 483–493. doi:10.1016/j.neuron.2004.10.013
- Caruana, D.A., Warburton, E.C., Bashir, Z.I., 2011. Induction of activity-dependent LTD requires muscarinic receptor activation in medial prefrontal cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 31, 18464–18478. doi:10.1523/JNEUROSCI.4719-11.2011
- Casanova, E., Fehsenfeld, S., Mantamadiotis, T., Lemberger, T., Greiner, E., Stewart, A.F., Schütz, G., 2001. A CamKIIalpha iCre BAC allows brain-specific gene inactivation. *Genes. N. Y. N* 2000 31, 37–42.
- Caubit, X., Coré, N., Boned, A., Kerridge, S., Djabali, M., Fasano, L., 2000. Vertebrate orthologues of the *Drosophila* region-specific patterning gene *teashirt*. *Mech. Dev.* 91, 445–448.
- Caubit, X., Gubellini, P., Andrieux, J., Roubertoux, P.L., Metwaly, M., Jacq, B., Fatmi, A., Had-Aissouni, L., Kwan, K.Y., Salin, P., Carlier, M., Liedén, A., Rudd, E., Shinawi, M., Vincent-Delorme, C., Cuisset, J.-M., Lemaitre, M.-P., Abderrehamane, F., Duban, B., Lemaitre, J.-F., Woolf, A.S., Bockenbauer, D., Severac, D., Dubois, E., Zhu, Y., Sestan, N., Garratt, A.N., Kerkerian-Le Goff, L., Fasano, L., 2016. TSHZ3 deletion causes an autism syndrome and defects in cortical projection neurons. *Nat. Genet.* 48, 1359–1369. doi:10.1038/ng.3681
- Caubit, X., Lye, C.M., Martin, E., Coré, N., Long, D.A., Vola, C., Jenkins, D., Garratt, A.N., Skaer, H., Woolf, A.S., Fasano, L., 2008. *Teashirt 3* is necessary for ureteral smooth muscle differentiation downstream of SHH and BMP4. *Dev. Camb. Engl.* 135, 3301–3310. doi:10.1242/dev.022442
- Caubit, X., Thoby-Brisson, M., Voituron, N., Filippi, P., Bévençut, M., Faralli, H., Zanella, S., Fortin, G., Hilaire, G., Fasano, L., 2010. *Teashirt 3* regulates development of neurons involved in both respiratory rhythm and airflow control. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 9465–9476. doi:10.1523/JNEUROSCI.1765-10.2010

- Caubit, X., Tiveron, M.-C., Cremer, H., Fasano, L., 2005. Expression patterns of the three Teashirt-related genes define specific boundaries in the developing and postnatal mouse forebrain. *J. Comp. Neurol.* 486, 76–88. doi:10.1002/cne.20500
- Caulfield, M.P., Birdsall, N.J., 1998. International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol. Rev.* 50, 279–290.
- Centonze, D., Grande, C., Usiello, A., Gubellini, P., Erbs, E., Martin, A.B., Pisani, A., Tognazzi, N., Bernardi, G., Moratalla, R., Borrelli, E., Calabresi, P., 2003. Receptor subtypes involved in the presynaptic and postsynaptic actions of dopamine on striatal interneurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 23, 6245–6254.
- Chang, H.T., Kita, H., 1992. Interneurons in the rat striatum: relationships between parvalbumin neurons and cholinergic neurons. *Brain Res.* 574, 307–311.
- Charpier, S., Deniau, J.M., 1997. In vivo activity-dependent plasticity at cortico-striatal connections: evidence for physiological long-term potentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 7036–7040.
- Chassain, C., Melon, C., Salin, P., Vitale, F., Couraud, S., Durif, F., Kerkerian-Le Goff, L., Gubellini, P., 2016. Metabolic, synaptic and behavioral impact of 5-week chronic deep brain stimulation in hemiparkinsonian rats. *J. Neurochem.* 136, 1004–1016. doi:10.1111/jnc.13438
- Chen, B., Schaevitz, L.R., McConnell, S.K., 2005. Fez1 regulates the differentiation and axon targeting of layer 5 subcortical projection neurons in cerebral cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 17184–17189. doi:10.1073/pnas.0508732102
- Chen, B., Wang, S.S., Hattox, A.M., Rayburn, H., Nelson, S.B., McConnell, S.K., 2008. The Fezf2-Ctip2 genetic pathway regulates the fate choice of subcortical projection neurons in the developing cerebral cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 11382–11387. doi:10.1073/pnas.0804918105
- Chen, L., Chatterjee, M., Li, J.Y.H., 2010. The mouse homeobox gene Gbx2 is required for the development of cholinergic interneurons in the striatum. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 14824–14834. doi:10.1523/JNEUROSCI.3742-10.2010
- Chen, Q., Veenman, C.L., Reiner, A., 1996. Cellular expression of ionotropic glutamate receptor subunits on specific striatal neuron types and its implication for striatal vulnerability in glutamate receptor-mediated excitotoxicity. *Neuroscience* 73, 715–731.
- Cho, H.-H., Cargnin, F., Kim, Y., Lee, B., Kwon, R.-J., Nam, H., Shen, R., Barnes, A.P., Lee, J.W., Lee, S., Lee, S.-K., 2014. Isl1 directly controls a cholinergic neuronal identity in the developing forebrain and spinal cord by forming cell type-specific complexes. *PLoS Genet.* 10, e1004280. doi:10.1371/journal.pgen.1004280
- Choi, S., Klingauf, J., Tsien, R.W., 2000. Postfusional regulation of cleft glutamate concentration during LTP at “silent synapses.” *Nat. Neurosci.* 3, 330–336. doi:10.1038/73895
- Choi, S., Lovinger, D.M., 1997. Decreased frequency but not amplitude of quantal synaptic responses associated with expression of corticostriatal long-term depression. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 8613–8620.
- Cholfin, J.A., Rubenstein, J.L.R., 2007. Patterning of frontal cortex subdivisions by Fgf17. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 7652–7657. doi:10.1073/pnas.0702225104
- Chowdhury, S., Bandholz, A.M., Parkash, S., Dyack, S., Rideout, A.L., Leppig, K.A., Thiese, H., Wheeler, P.G., Tsang, M., Ballif, B.C., Shaffer, L.G., Torchia, B.S., Ellison, J.W., Rosenfeld, J.A., 2014. Phenotypic and molecular characterization of 19q12q13.1

- deletions: a report of five patients. *Am. J. Med. Genet. A.* 164A, 62–69.
doi:10.1002/ajmg.a.36201
- Christie, B.R., Magee, J.C., Johnston, D., 1996. The role of dendritic action potentials and Ca²⁺ influx in the induction of homosynaptic long-term depression in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Learn. Mem. Cold Spring Harb. N* 3, 160–169.
- Chuhma, N., Mingote, S., Moore, H., Rayport, S., 2014. Dopamine neurons control striatal cholinergic neurons via regionally heterogeneous dopamine and glutamate signaling. *Neuron* 81, 901–912. doi:10.1016/j.neuron.2013.12.027
- Chuhma, N., Tanaka, K.F., Hen, R., Rayport, S., 2011. Functional connectome of the striatal medium spiny neuron. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 31, 1183–1192.
doi:10.1523/JNEUROSCI.3833-10.2011
- Chukoskie, L., Townsend, J., Westerfield, M., 2013. Motor skill in autism spectrum disorders: a subcortical view. *Int. Rev. Neurobiol.* 113, 207–249. doi:10.1016/B978-0-12-418700-9.00007-1
- Clarke, P.B., Schwartz, R.D., Paul, S.M., Pert, C.B., Pert, A., 1985. Nicotinic binding in rat brain: autoradiographic comparison of [3H]acetylcholine, [3H]nicotine, and [125I]-alpha-bungarotoxin. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 5, 1307–1315.
- Clascá, F., Rubio-Garrido, P., Jabaudon, D., 2012. Unveiling the diversity of thalamocortical neuron subtypes. *Eur. J. Neurosci.* 35, 1524–1532. doi:10.1111/j.1460-9568.2012.08033.x
- Claye, L.H., Unterwald, E.M., Ho, A., Kreek, M.J., 1996. Both dynorphin A(1-17) and [Des-Tyr1]dynorphin A(2-17) inhibit adenylyl cyclase activity in rat caudate putamen. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 277, 359–365.
- Cohen, B.N., Mackey, E.D.W., Grady, S.R., McKinney, S., Patzlaff, N.E., Wageman, C.R., McIntosh, J.M., Marks, M.J., Lester, H.A., Drenan, R.M., 2012. Nicotinic cholinergic mechanisms causing elevated dopamine release and abnormal locomotor behavior. *Neuroscience* 200, 31–41. doi:10.1016/j.neuroscience.2011.10.047
- Collingridge, G.L., Kehl, S.J., McLennan, H., 1983. Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *J. Physiol.* 334, 33–46.
- Conn, P.J., Battaglia, G., Marino, M.J., Nicoletti, F., 2005. Metabotropic glutamate receptors in the basal ganglia motor circuit. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 787–798.
doi:10.1038/nrn1763
- Constantinople, C.M., Bruno, R.M., 2013. Deep cortical layers are activated directly by thalamus. *Science* 340, 1591–1594. doi:10.1126/science.1236425
- Cope, D.W., Hughes, S.W., Crunelli, V., 2005. GABAA receptor-mediated tonic inhibition in thalamic neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 25, 11553–11563.
doi:10.1523/JNEUROSCI.3362-05.2005
- Crain, S.M., Shen, K.F., 1996. Modulatory effects of Gs-coupled excitatory opioid receptor functions on opioid analgesia, tolerance, and dependence. *Neurochem. Res.* 21, 1347–1351.
- Crossley, P.H., Martin, G.R., 1995. The mouse *Fgf8* gene encodes a family of polypeptides and is expressed in regions that direct outgrowth and patterning in the developing embryo. *Dev. Camb. Engl.* 121, 439–451.
- Cruikshank, S.J., Lewis, T.J., Connors, B.W., 2007. Synaptic basis for intense thalamocortical activation of feedforward inhibitory cells in neocortex. *Nat. Neurosci.* 10, 462–468.
doi:10.1038/nn1861

- Cui, G., Jun, S.B., Jin, X., Pham, M.D., Vogel, S.S., Lovinger, D.M., Costa, R.M., 2013. Concurrent activation of striatal direct and indirect pathways during action initiation. *Nature* 494, 238–242. doi:10.1038/nature11846
- Cui, Y., Paillé, V., Xu, H., Genet, S., Delord, B., Fino, E., Berry, H., Venance, L., 2015. Endocannabinoids mediate bidirectional striatal spike-timing-dependent plasticity. *J. Physiol.* 593, 2833–2849. doi:10.1113/JP270324
- Cummings, J.A., Mulkey, R.M., Nicoll, R.A., Malenka, R.C., 1996. Ca²⁺ signaling requirements for long-term depression in the hippocampus. *Neuron* 16, 825–833.



- Dani, J.A., Bertrand, D., 2007. Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 47, 699–729. doi:10.1146/annurev.pharmtox.47.120505.105214
- Dautan, D., Huerta-Ocampo, I., Witten, I.B., Deisseroth, K., Bolam, J.P., Gerdjikov, T., Mena-Segovia, J., 2014. A major external source of cholinergic innervation of the striatum and nucleus accumbens originates in the brainstem. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 34, 4509–4518. doi:10.1523/JNEUROSCI.5071-13.2014
- Davies, M.F., Deisz, R.A., Prince, D.A., Peroutka, S.J., 1987. Two distinct effects of 5-hydroxytryptamine on single cortical neurons. *Brain Res.* 423, 347–352.
- de Kock, C.P.J., Bruno, R.M., Spors, H., Sakmann, B., 2007. Layer- and cell-type-specific suprathreshold stimulus representation in rat primary somatosensory cortex. *J. Physiol.* 581, 139–154. doi:10.1113/jphysiol.2006.124321
- de Rover, M., Lodder, J.C., Kits, K.S., Schoffelmeer, A.N.M., Brussaard, A.B., 2002. Cholinergic modulation of nucleus accumbens medium spiny neurons. *Eur. J. Neurosci.* 16, 2279–2290.
- Debanne, D., Poo, M.-M., 2010. Spike-timing dependent plasticity beyond synapse - pre- and post-synaptic plasticity of intrinsic neuronal excitability. *Front. Synaptic Neurosci.* 2, 21. doi:10.3389/fnsyn.2010.00021
- DeBoer, P., Westerink, B.H., 1994. GABAergic modulation of striatal cholinergic interneurons: an in vivo microdialysis study. *J. Neurochem.* 62, 70–75.
- Deck, M., Lokmane, L., Chauvet, S., Mailhes, C., Keita, M., Niquille, M., Yoshida, M., Yoshida, Y., Lebrand, C., Mann, F., Grove, E.A., Garel, S., 2013. Pathfinding of corticothalamic axons relies on a rendezvous with thalamic projections. *Neuron* 77, 472–484. doi:10.1016/j.neuron.2012.11.031
- Deitcher, D.L., Ueda, A., Stewart, B.A., Burgess, R.W., Kidokoro, Y., Schwarz, T.L., 1998. Distinct requirements for evoked and spontaneous release of neurotransmitter are revealed by mutations in the *Drosophila* gene neuronal-synaptobrevin. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 18, 2028–2039.
- DeNardo, L.A., Berns, D.S., DeLoach, K., Luo, L., 2015. Connectivity of mouse somatosensory and prefrontal cortex examined with trans-synaptic tracing. *Nat. Neurosci.* 18, 1687–1697. doi:10.1038/nn.4131
- Deng, P., Zhang, Y., Xu, Z.C., 2007. Involvement of I(h) in dopamine modulation of tonic firing in striatal cholinergic interneurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 3148–3156. doi:10.1523/JNEUROSCI.5535-06.2007

- Deng, Y.P., Xie, J.P., Wang, H.B., Lei, W.L., Chen, Q., Reiner, A., 2007. Differential localization of the GluR1 and GluR2 subunits of the AMPA-type glutamate receptor among striatal neuron types in rats. *J. Chem. Neuroanat.* 33, 167–192. doi:10.1016/j.jchemneu.2007.02.008
- Desban, M., Kemel, M.L., Glowinski, J., Gauchy, C., 1993. Spatial organization of patch and matrix compartments in the rat striatum. *Neuroscience* 57, 661–671.
- Devi, L.A., 2001. Heterodimerization of G-protein-coupled receptors: pharmacology, signaling and trafficking. *Trends Pharmacol. Sci.* 22, 532–537.
- Di Filippo, M., Picconi, B., Tantucci, M., Ghiglieri, V., Bagetta, V., Sgobio, C., Tozzi, A., Parnetti, L., Calabresi, P., 2009. Short-term and long-term plasticity at corticostriatal synapses: implications for learning and memory. *Behav. Brain Res.* 199, 108–118. doi:10.1016/j.bbr.2008.09.025
- Di Martino, A., Kelly, C., Grzadzinski, R., Zuo, X.-N., Mennes, M., Mairena, M.A., Lord, C., Castellanos, F.X., Milham, M.P., 2011. Aberrant striatal functional connectivity in children with autism. *Biol. Psychiatry* 69, 847–856. doi:10.1016/j.biopsych.2010.10.029
- DiFiglia, M., Aronin, N., 1982. Ultrastructural features of immunoreactive somatostatin neurons in the rat caudate nucleus. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 2, 1267–1274.
- Dineley, K.T., Pandya, A.A., Yakel, J.L., 2015. Nicotinic ACh receptors as therapeutic targets in CNS disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* 36, 96–108. doi:10.1016/j.tips.2014.12.002
- Ding, J., Guzman, J.N., Tkatch, T., Chen, S., Goldberg, J.A., Ebert, P.J., Levitt, P., Wilson, C.J., Hamm, H.E., Surmeier, D.J., 2006. RGS4-dependent attenuation of M4 autoreceptor function in striatal cholinergic interneurons following dopamine depletion. *Nat. Neurosci.* 9, 832–842. doi:10.1038/nn1700
- Ding, J.B., Guzman, J.N., Peterson, J.D., Goldberg, J.A., Surmeier, D.J., 2010. Thalamic gating of corticostriatal signaling by cholinergic interneurons. *Neuron* 67, 294–307. doi:10.1016/j.neuron.2010.06.017
- Ding, S., Wei, W., Zhou, F.-M., 2011. Molecular and functional differences in voltage-activated sodium currents between GABA projection neurons and dopamine neurons in the substantia nigra. *J. Neurophysiol.* 106, 3019–3034. doi:10.1152/jn.00305.2011
- Dinstein, I., Pierce, K., Eyster, L., Solso, S., Malach, R., Behrmann, M., Courchesne, E., 2011. Disrupted neural synchronization in toddlers with autism. *Neuron* 70, 1218–1225. doi:10.1016/j.neuron.2011.04.018
- DiRaddo, J.O., Miller, E.J., Hathaway, H.A., Grajkowska, E., Wroblewska, B., Wolfe, B.B., Liotta, D.C., Wroblewski, J.T., 2014. A real-time method for measuring cAMP production modulated by Gai/o-coupled metabotropic glutamate receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 349, 373–382. doi:10.1124/jpet.113.211532
- Douglas, R.J., Martin, K.A.C., 2004. Neuronal circuits of the neocortex. *Annu. Rev. Neurosci.* 27, 419–451. doi:10.1146/annurev.neuro.27.070203.144152
- Dubach, M., Schmidt, R., Kunkel, D., Bowden, D.M., Martin, R., German, D.C., 1987. Primate neostriatal neurons containing tyrosine hydroxylase: immunohistochemical evidence. *Neurosci. Lett.* 75, 205–210.
- Dudek, S.M., Bear, M.F., 1993. Bidirectional long-term modification of synaptic effectiveness in the adult and immature hippocampus. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 13, 2910–2918.

Dupuis, J.P., Bioulac, B.H., Baufreton, J., 2014. Long-term depression at distinct glutamatergic synapses in the basal ganglia. *Rev. Neurosci.* 25, 741–754. doi:10.1515/revneuro-2014-0024

E-F

- Ehlers, M.D., 2000. Reinsertion or degradation of AMPA receptors determined by activity-dependent endocytic sorting. *Neuron* 28, 511–525.
- Elghaba, R., Vautrelle, N., Bracci, E., 2016. Mutual Control of Cholinergic and Low-Threshold Spike Interneurons in the Striatum. *Front. Cell. Neurosci.* 10, 111. doi:10.3389/fncel.2016.00111
- Elshatory, Y., Gan, L., 2008. The LIM-homeobox gene *Islet-1* is required for the development of restricted forebrain cholinergic neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 28, 3291–3297. doi:10.1523/JNEUROSCI.5730-07.2008
- English, D.F., Ibanez-Sandoval, O., Stark, E., Tecuapetla, F., Buzsáki, G., Deisseroth, K., Tepper, J.M., Koos, T., 2011. GABAergic circuits mediate the reinforcement-related signals of striatal cholinergic interneurons. *Nat. Neurosci.* 15, 123–130. doi:10.1038/nn.2984
- Erkner, A., Gallet, A., Angelats, C., Fasano, L., Kerridge, S., 1999. The role of *Teashirt* in proximal leg development in *Drosophila*: ectopic *Teashirt* expression reveals different cell behaviours in ventral and dorsal domains. *Dev. Biol.* 215, 221–232. doi:10.1006/dbio.1999.9452
- Faralli, H., Martin, E., Coré, N., Liu, Q.-C., Filippi, P., Dilworth, F.J., Caubit, X., Fasano, L., 2011. *Teashirt-3*, a novel regulator of muscle differentiation, associates with BRG1-associated factor 57 (BAF57) to inhibit myogenin gene expression. *J. Biol. Chem.* 286, 23498–23510. doi:10.1074/jbc.M110.206003
- Farrant, M., Nusser, Z., 2005. Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABA(A) receptors. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 215–229. doi:10.1038/nrn1625
- Fasano, L., Röder, L., Coré, N., Alexandre, E., Vola, C., Jacq, B., Kerridge, S., 1991. The gene *teashirt* is required for the development of *Drosophila* embryonic trunk segments and encodes a protein with widely spaced zinc finger motifs. *Cell* 64, 63–79.
- Feldmeyer, D., 2012. Excitatory neuronal connectivity in the barrel cortex. *Front. Neuroanat.* 6, 24. doi:10.3389/fnana.2012.00024
- Feng, Z.-J., Zhang, X., Chergui, K., 2014. Allosteric modulation of NMDA receptors alters neurotransmission in the striatum of a mouse model of Parkinson's disease. *Exp. Neurol.* 255, 154–160. doi:10.1016/j.expneurol.2014.03.001
- Fino, E., Glowinski, J., Venance, L., 2005. Bidirectional activity-dependent plasticity at corticostriatal synapses. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 25, 11279–11287. doi:10.1523/JNEUROSCI.4476-05.2005
- Fino, E., Venance, L., 2010. Spike-timing dependent plasticity in the striatum. *Front. Synaptic Neurosci.* 2, 6. doi:10.3389/fnsyn.2010.00006
- Fino, E., Yuste, R., 2011. Dense inhibitory connectivity in neocortex. *Neuron* 69, 1188–1203. doi:10.1016/j.neuron.2011.02.025
- Flames, N., Pla, R., Gelman, D.M., Rubenstein, J.L.R., Puellas, L., Marín, O., 2007. Delineation of multiple subpallial progenitor domains by the combinatorial expression of

- transcriptional codes. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 9682–9695.
doi:10.1523/JNEUROSCI.2750-07.2007
- Fragkouli, A., Hearn, C., Errington, M., Cooke, S., Grigoriou, M., Bliss, T., Stylianopoulou, F., Pachnis, V., 2005. Loss of forebrain cholinergic neurons and impairment in spatial learning and memory in LHX7-deficient mice. *Eur. J. Neurosci.* 21, 2923–2938.
doi:10.1111/j.1460-9568.2005.04141.x
- Fragkouli, A., van Wijk, N.V., Lopes, R., Kessarlis, N., Pachnis, V., 2009. LIM homeodomain transcription factor-dependent specification of bipotential MGE progenitors into cholinergic and GABAergic striatal interneurons. *Dev. Camb. Engl.* 136, 3841–3851.
doi:10.1242/dev.038083
- Frick, A., Feldmeyer, D., Helmstaedter, M., Sakmann, B., 2008. Monosynaptic connections between pairs of L5A pyramidal neurons in columns of juvenile rat somatosensory cortex. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991* 18, 397–406. doi:10.1093/cercor/bhm074
- Friedman, E., Jin, L.Q., Cai, G.P., Hollon, T.R., Drago, J., Sibley, D.R., Wang, H.Y., 1997. D1-like dopaminergic activation of phosphoinositide hydrolysis is independent of D1A dopamine receptors: evidence from D1A knockout mice. *Mol. Pharmacol.* 51, 6–11.
- Frith, C., 2004. Is autism a disconnection disorder? *Lancet Neurol.* 3, 577.
doi:10.1016/S1474-4422(04)00875-0
- Fukuchi-Shimogori, T., Grove, E.A., 2001. Neocortex patterning by the secreted signaling molecule FGF8. *Science* 294, 1071–1074. doi:10.1126/science.1064252

G

- Gabernet, L., Jadhav, S.P., Feldman, D.E., Carandini, M., Scanziani, M., 2005. Somatosensory integration controlled by dynamic thalamocortical feed-forward inhibition. *Neuron* 48, 315–327. doi:10.1016/j.neuron.2005.09.022
- Galarraga, E., Hernández-López, S., Reyes, A., Miranda, I., Bermudez-Rattoni, F., Vilchis, C., Bargas, J., 1999. Cholinergic modulation of neostriatal output: a functional antagonism between different types of muscarinic receptors. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 19, 3629–3638.
- Galarreta, M., Hestrin, S., 1998. Frequency-dependent synaptic depression and the balance of excitation and inhibition in the neocortex. *Nat. Neurosci.* 1, 587–594.
doi:10.1038/2882
- Garel, S., Huffman, K.J., Rubenstein, J.L.R., 2003. Molecular regionalization of the neocortex is disrupted in *Fgf8* hypomorphic mutants. *Dev. Camb. Engl.* 130, 1903–1914.
- Gelman, D., Griveau, A., Dehorter, N., Teissier, A., Varela, C., Pla, R., Pierani, A., Marín, O., 2011. A wide diversity of cortical GABAergic interneurons derives from the embryonic preoptic area. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 31, 16570–16580.
doi:10.1523/JNEUROSCI.4068-11.2011
- Geppert, M., Goda, Y., Hammer, R.E., Li, C., Rosahl, T.W., Stevens, C.F., Südhof, T.C., 1994. Synaptotagmin I: a major Ca²⁺ sensor for transmitter release at a central synapse. *Cell* 79, 717–727.
- Gerdeman, G.L., Ronesi, J., Lovinger, D.M., 2002. Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. *Nat. Neurosci.* 5, 446–451.
doi:10.1038/nn832

- Gerfen, C.R., 2000. Molecular effects of dopamine on striatal-projection pathways. *Trends Neurosci.* 23, S64-70.
- Gerfen, C.R., 1992. The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *Trends Neurosci.* 15, 133–139.
- Gerfen, C.R., Engber, T.M., Mahan, L.C., Susel, Z., Chase, T.N., Monsma, F.J., Sibley, D.R., 1990. D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* 250, 1429–1432.
- Gilbert, C.D., Kelly, J.P., 1975. The projections of cells in different layers of the cat's visual cortex. *J. Comp. Neurol.* 163, 81–105. doi:10.1002/cne.901630106
- Gilbert, C.D., Wiesel, T.N., 1989. Columnar specificity of intrinsic horizontal and corticocortical connections in cat visual cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 9, 2432–2442.
- Gingrich, J.A., Caron, M.G., 1993. Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. *Annu. Rev. Neurosci.* 16, 299–321. doi:10.1146/annurev.ne.16.030193.001503
- Gittis, A.H., Kreitzer, A.C., 2012. Striatal microcircuitry and movement disorders. *Trends Neurosci.* 35, 557–564. doi:10.1016/j.tins.2012.06.008
- Goldberg, Wilson, 2010. The Cholinergic Interneurons of the Striatum: Intrinsic Properties Underlie Multiple Discharge Patterns.
- Gonchar, Y., Wang, Q., Burkhalter, A., 2007. Multiple distinct subtypes of GABAergic neurons in mouse visual cortex identified by triple immunostaining. *Front. Neuroanat.* 1, 3. doi:10.3389/neuro.05.003.2007
- Gonzales, K.K., Pare, J.-F., Wichmann, T., Smith, Y., 2013. GABAergic inputs from direct and indirect striatal projection neurons onto cholinergic interneurons in the primate putamen. *J. Comp. Neurol.* 521, 2502–2522. doi:10.1002/cne.23295
- Gowen, E., Hamilton, A., 2013. Motor abilities in autism: a review using a computational context. *J. Autism Dev. Disord.* 43, 323–344. doi:10.1007/s10803-012-1574-0
- Grady, S.R., Salminen, O., Laverty, D.C., Whiteaker, P., McIntosh, J.M., Collins, A.C., Marks, M.J., 2007. The subtypes of nicotinic acetylcholine receptors on dopaminergic terminals of mouse striatum. *Biochem. Pharmacol.* 74, 1235–1246. doi:10.1016/j.bcp.2007.07.032
- Granger, A.J., Mulder, N., Saunders, A., Sabatini, B.L., 2016. Cotransmission of acetylcholine and GABA. *Neuropharmacology* 100, 40–46. doi:10.1016/j.neuropharm.2015.07.031
- Gras, C., Amilhon, B., Lepicard, E.M., Poirel, O., Vinatier, J., Herbin, M., Dumas, S., Tzavara, E.T., Wade, M.R., Nomikos, G.G., Hanoun, N., Saurini, F., Kemel, M.-L., Gasnier, B., Giros, B., El Mestikawy, S., 2008. The vesicular glutamate transporter VGLUT3 synergizes striatal acetylcholine tone. *Nat. Neurosci.* 11, 292–300. doi:10.1038/nn2052
- Gray, R., Rajan, A.S., Radcliffe, K.A., Yakehiro, M., Dani, J.A., 1996. Hippocampal synaptic transmission enhanced by low concentrations of nicotine. *Nature* 383, 713–716. doi:10.1038/383713a0
- Greengard, P., Allen, P.B., Nairn, A.C., 1999. Beyond the dopamine receptor: the DARPP-32/protein phosphatase-1 cascade. *Neuron* 23, 435–447.
- Greif, G.J., Sodickson, D.L., Bean, B.P., Neer, E.J., Mende, U., 2000. Altered regulation of potassium and calcium channels by GABA(B) and adenosine receptors in hippocampal neurons from mice lacking Galpha(o). *J. Neurophysiol.* 83, 1010–1018.

- Greig, L.C., Woodworth, M.B., Galazo, M.J., Padmanabhan, H., Macklis, J.D., 2013. Molecular logic of neocortical projection neuron specification, development and diversity. *Nat. Rev. Neurosci.* 14, 755–769. doi:10.1038/nrn3586
- Groh, A., Meyer, H.S., Schmidt, E.F., Heintz, N., Sakmann, B., Krieger, P., 2010. Cell-type specific properties of pyramidal neurons in neocortex underlying a layout that is modifiable depending on the cortical area. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991* 20, 826–836. doi:10.1093/cercor/bhp152
- Grove, E.A., Tole, S., Limon, J., Yip, L., Ragsdale, C.W., 1998. The hem of the embryonic cerebral cortex is defined by the expression of multiple Wnt genes and is compromised in Gli3-deficient mice. *Dev. Camb. Engl.* 125, 2315–2325.
- Gubellini, P., Pisani, A., Centonze, D., Bernardi, G., Calabresi, P., 2004. Metabotropic glutamate receptors and striatal synaptic plasticity: implications for neurological diseases. *Prog. Neurobiol.* 74, 271–300. doi:10.1016/j.pneurobio.2004.09.005
- Gubellini, P., Saulle, E., Centonze, D., Bonsi, P., Pisani, A., Bernardi, G., Conquet, F., Calabresi, P., 2001. Selective involvement of mGlu1 receptors in corticostriatal LTD. *Neuropharmacology* 40, 839–846.
- Gubellini, P., Saulle, E., Centonze, D., Costa, C., Tropepi, D., Bernardi, G., Conquet, F., Calabresi, P., 2003. Corticostriatal LTP requires combined mGluR1 and mGluR5 activation. *Neuropharmacology* 44, 8–16.
- Gulisano, M., Broccoli, V., Pardini, C., Boncinelli, E., 1996. Emx1 and Emx2 show different patterns of expression during proliferation and differentiation of the developing cerebral cortex in the mouse. *Eur. J. Neurosci.* 8, 1037–1050.
- Guo, L., Xiong, H., Kim, J.-I., Wu, Y.-W., Lalchandani, R.R., Cui, Y., Shu, Y., Xu, T., Ding, J.B., 2015. Dynamic rewiring of neural circuits in the motor cortex in mouse models of Parkinson's disease. *Nat. Neurosci.* 18, 1299–1309. doi:10.1038/nn.4082

H-I-J

- Haas, H.L., Sergeeva, O.A., Selbach, O., 2008. Histamine in the nervous system. *Physiol. Rev.* 88, 1183–1241. doi:10.1152/physrev.00043.2007
- Hallanger, A.E., Wainer, B.H., 1988. Ascending projections from the pedunculopontine tegmental nucleus and the adjacent mesopontine tegmentum in the rat. *J. Comp. Neurol.* 274, 483–515. doi:10.1002/cne.902740403
- Han, W., Kwan, K.Y., Shim, S., Lam, M.M.S., Shin, Y., Xu, X., Zhu, Y., Li, M., Sestan, N., 2011. TBR1 directly represses Fezf2 to control the laminar origin and development of the corticospinal tract. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 3041–3046. doi:10.1073/pnas.1016723108
- Harris, K.D., Mrsic-Flogel, T.D., 2013. Cortical connectivity and sensory coding. *Nature* 503, 51–58. doi:10.1038/nature12654
- Harris, K.D., Shepherd, G.M.G., 2015. The neocortical circuit: themes and variations. *Nat. Neurosci.* 18, 170–181. doi:10.1038/nn.3917
- Hattori, T., Singh, V.K., McGeer, E.G., McGeer, P.L., 1976. Immunohistochemical localization of choline acetyltransferase containing neostriatal neurons and their relationship with dopaminergic synapses. *Brain Res.* 102, 164–173.

- Hattox, A.M., Nelson, S.B., 2007. Layer V neurons in mouse cortex projecting to different targets have distinct physiological properties. *J. Neurophysiol.* 98, 3330–3340. doi:10.1152/jn.00397.2007
- Hersch, S.M., Gutekunst, C.A., Rees, H.D., Heilman, C.J., Levey, A.I., 1994. Distribution of m1-m4 muscarinic receptor proteins in the rat striatum: light and electron microscopic immunocytochemistry using subtype-specific antibodies. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 14, 3351–3363.
- Hervé, D., Pickel, V.M., Joh, T.H., Beaudet, A., 1987. Serotonin axon terminals in the ventral tegmental area of the rat: fine structure and synaptic input to dopaminergic neurons. *Brain Res.* 435, 71–83.
- Higgins, G.A., Koh, S., Chen, K.S., Gage, F.H., 1989. NGF induction of NGF receptor gene expression and cholinergic neuronal hypertrophy within the basal forebrain of the adult rat. *Neuron* 3, 247–256.
- Higley, M.J., Gittis, A.H., Oldenburg, I.A., Balthasar, N., Seal, R.P., Edwards, R.H., Lowell, B.B., Kreitzer, A.C., Sabatini, B.L., 2011. Cholinergic interneurons mediate fast VGLUT3-dependent glutamatergic transmission in the striatum. *PLoS One* 6, e19155. doi:10.1371/journal.pone.0019155
- Hires, S.A., Gutnisky, D.A., Yu, J., O'Connor, D.H., Svoboda, K., 2015. Low-noise encoding of active touch by layer 4 in the somatosensory cortex. *eLife* 4. doi:10.7554/eLife.06619
- Hope, B.T., Michael, G.J., Knigge, K.M., Vincent, S.R., 1991. Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 2811–2814.
- Howe, A.R., Surmeier, D.J., 1995. Muscarinic receptors modulate N-, P-, and L-type Ca²⁺ currents in rat striatal neurons through parallel pathways. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 15, 458–469.
- Hsu, K.S., Yang, C.H., Huang, C.C., Gean, P.W., 1996. Carbachol induces inward current in neostriatal neurons through M1-like muscarinic receptors. *Neuroscience* 73, 751–760.
- Hussman, J.P., Chung, R.-H., Griswold, A.J., Jaworski, J.M., Salyakina, D., Ma, D., Konidari, I., Whitehead, P.L., Vance, J.M., Martin, E.R., Cuccaro, M.L., Gilbert, J.R., Haines, J.L., Pericak-Vance, M.A., 2011. A noise-reduction GWAS analysis implicates altered regulation of neurite outgrowth and guidance in autism. *Mol. Autism* 2, 1. doi:10.1186/2040-2392-2-1
- Hutsler, J., Galuske, R.A.W., 2003. Hemispheric asymmetries in cerebral cortical networks. *Trends Neurosci.* 26, 429–435. doi:10.1016/S0166-2236(03)00198-X
- Ibáñez-Sandoval, O., Tecuapetla, F., Unal, B., Shah, F., Koós, T., Tepper, J.M., 2010. Electrophysiological and morphological characteristics and synaptic connectivity of tyrosine hydroxylase-expressing neurons in adult mouse striatum. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 6999–7016. doi:10.1523/JNEUROSCI.5996-09.2010
- Ince, E., Ciliax, B.J., Levey, A.I., 1997. Differential expression of D1 and D2 dopamine and m4 muscarinic acetylcholine receptor proteins in identified striatonigral neurons. *Synapse* N. Y. N 27, 357–366. doi:10.1002/(SICI)1098-2396(199712)27:4<357::AID-SYN9>3.0.CO;2-B
- Inokawa, H., Yamada, H., Matsumoto, N., Muranishi, M., Kimura, M., 2010. Juxtacellular labeling of tonically active neurons and phasically active neurons in the rat striatum. *Neuroscience* 168, 395–404. doi:10.1016/j.neuroscience.2010.03.062

- Izzo, P.N., Graybiel, A.M., Bolam, J.P., 1987. Characterization of substance P- and [Met]enkephalin-immunoreactive neurons in the caudate nucleus of cat and ferret by a single section Golgi procedure. *Neuroscience* 20, 577–587.
- Jabaudon, D., Shnyder, S.J., Tischfield, D.J., Galazo, M.J., Macklis, J.D., 2012. ROR β induces barrel-like neuronal clusters in the developing neocortex. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 22, 996–1006. doi:10.1093/cercor/bhr182
- Jabourian, M., Venance, L., Bourgoïn, S., Ozon, S., Pérez, S., Godeheu, G., Glowinski, J., Kemel, M.-L., 2005. Functional mu opioid receptors are expressed in cholinergic interneurons of the rat dorsal striatum: territorial specificity and diurnal variation. *Eur. J. Neurosci.* 21, 3301–3309. doi:10.1111/j.1460-9568.2005.04154.x
- Jensen, M.L., Timmermann, D.B., Johansen, T.H., Schousboe, A., Varming, T., Ahring, P.K., 2002. The beta subunit determines the ion selectivity of the GABAA receptor. *J. Biol. Chem.* 277, 41438–41447. doi:10.1074/jbc.M205645200
- Jiang, X., Shen, S., Cadwell, C.R., Berens, P., Sinz, F., Ecker, A.S., Patel, S., Tolias, A.S., 2015. Principles of connectivity among morphologically defined cell types in adult neocortex. *Science* 350, aac9462. doi:10.1126/science.aac9462
- Jiang, X., Wang, G., Lee, A.J., Stornetta, R.L., Zhu, J.J., 2013. The organization of two new cortical interneuronal circuits. *Nat. Neurosci.* 16, 210–218. doi:10.1038/nn.3305
- Jollivet, C., Montero-Menei, C.N., Venier-Julienne, M.-C., Sapin, A., Benoit, J.-P., Menei, P., 2004. Striatal tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons are induced by L-dihydroxyphenylalanine and nerve growth factor treatment in 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Neurosci. Lett.* 362, 79–82. doi:10.1016/j.neulet.2004.02.068
- Jones, E.G., 1998. Viewpoint: the core and matrix of thalamic organization. *Neuroscience* 85, 331–345.
- Jones, E.G., Wise, S.P., 1977. Size, laminar and columnar distribution of efferent cells in the sensory-motor cortex of monkeys. *J. Comp. Neurol.* 175, 391–438. doi:10.1002/cne.901750403
- Jones, K.A., Borowsky, B., Tamm, J.A., Craig, D.A., Durkin, M.M., Dai, M., Yao, W.J., Johnson, M., Gunwaldsen, C., Huang, L.Y., Tang, C., Shen, Q., Salon, J.A., Morse, K., Laz, T., Smith, K.E., Nagarathnam, D., Noble, S.A., Branchek, T.A., Gerald, C., 1998. GABA(B) receptors function as a heteromeric assembly of the subunits GABA(B)R1 and GABA(B)R2. *Nature* 396, 674–679. doi:10.1038/25348
- Judson, M.C., Bergman, M.Y., Campbell, D.B., Eagleson, K.L., Levitt, P., 2009. Dynamic gene and protein expression patterns of the autism-associated met receptor tyrosine kinase in the developing mouse forebrain. *J. Comp. Neurol.* 513, 511–531. doi:10.1002/cne.21969
- Judson, M.C., Eagleson, K.L., Levitt, P., 2011. A new synaptic player leading to autism risk: Met receptor tyrosine kinase. *J. Neurodev. Disord.* 3, 282–292. doi:10.1007/s11689-011-9081-8
- Judson, M.C., Eagleson, K.L., Wang, L., Levitt, P., 2010. Evidence of cell-nonautonomous changes in dendrite and dendritic spine morphology in the met-signaling-deficient mouse forebrain. *J. Comp. Neurol.* 518, 4463–4478. doi:10.1002/cne.22467
- Just, M.A., Cherkassky, V.L., Keller, T.A., Kana, R.K., Minshew, N.J., 2007. Functional and anatomical cortical underconnectivity in autism: evidence from an FMRI study of an executive function task and corpus callosum morphometry. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 17, 951–961. doi:10.1093/cercor/bhl006

K

- Kachidian, P., Vuillet, J., Nieoullon, A., Lafaille, G., Kerkerian-Le Goff, L., 1996. Striatal neuropeptide Y neurons are not a target for thalamic afferent fibres. *Neuroreport* 7, 1665–1669.
- Kajiwara, Y., Akram, A., Katsel, P., Haroutunian, V., Schmeidler, J., Beecham, G., Haines, J.L., Pericak-Vance, M.A., Buxbaum, J.D., 2009. FE65 binds Teashirt, inhibiting expression of the primate-specific caspase-4. *PloS One* 4, e5071. doi:10.1371/journal.pone.0005071
- Kandel, E.R., 1997. Genes, synapses, and long-term memory. *J. Cell. Physiol.* 173, 124–125. doi:10.1002/(SICI)1097-4652(199711)173:2<124::AID-JCP6>3.0.CO;2-P
- Kang, H.J., Kawasawa, Y.I., Cheng, F., Zhu, Y., Xu, X., Li, M., Sousa, A.M.M., Pletikos, M., Meyer, K.A., Sedmak, G., Guennel, T., Shin, Y., Johnson, M.B., Krsnik, Z., Mayer, S., Fertuzinhos, S., Umlauf, S., Lisgo, S.N., Vortmeyer, A., Weinberger, D.R., Mane, S., Hyde, T.M., Huttner, A., Reimers, M., Kleinman, J.E., Sestan, N., 2011. Spatio-temporal transcriptome of the human brain. *Nature* 478, 483–489. doi:10.1038/nature10523
- Kanner, L., 1995. [Follow-up study of eleven autistic children originally reported in 1943. 1971]. *Psychiatr. Infant* 38, 421–461.
- Karlin, A., Cox, R.N., Dipaola, M., Holtzman, E., Kao, P.N., Lobel, P., Wang, L., Yodh, N., 1986. Functional domains of the nicotinic acetylcholine receptor. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 463, 53–69.
- Kätzel, D., Zemelman, B.V., Buetfering, C., Wölfel, M., Miesenböck, G., 2011. The columnar and laminar organization of inhibitory connections to neocortical excitatory cells. *Nat. Neurosci.* 14, 100–107. doi:10.1038/nn.2687
- Kaupmann, K., Malitschek, B., Schuler, V., Heid, J., Froestl, W., Beck, P., Mosbacher, J., Bischoff, S., Kulik, A., Shigemoto, R., Karschin, A., Bettler, B., 1998. GABA(B)-receptor subtypes assemble into functional heteromeric complexes. *Nature* 396, 683–687. doi:10.1038/25360
- Kaupp, U.B., Seifert, R., 2001. Molecular diversity of pacemaker ion channels. *Annu. Rev. Physiol.* 63, 235–257. doi:10.1146/annurev.physiol.63.1.235
- Kavalali, E.T., Chung, C., Khvotchev, M., Leitz, J., Nosyreva, E., Raingo, J., Ramirez, D.M.O., 2011. Spontaneous neurotransmission: an independent pathway for neuronal signaling? *Physiol. Bethesda Md* 26, 45–53. doi:10.1152/physiol.00040.2010
- Kawaguchi, Y., 1993. Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 13, 4908–4923.
- Kawaguchi, Y., 1992. Large aspiny cells in the matrix of the rat neostriatum in vitro: physiological identification, relation to the compartments and excitatory postsynaptic currents. *J. Neurophysiol.* 67, 1669–1682.
- Kawaguchi, Y., Kubota, Y., 1997. GABAergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 7, 476–486.
- Kawaguchi, Y., Wilson, C.J., Augood, S.J., Emson, P.C., 1995. Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci.* 18, 527–535.

- Keath, J.R., Iacoviello, M.P., Barrett, L.E., Mansvelder, H.D., McGehee, D.S., 2007. Differential modulation by nicotine of substantia nigra versus ventral tegmental area dopamine neurons. *J. Neurophysiol.* 98, 3388–3396. doi:10.1152/jn.00760.2007
- Kemp, J.M., Powell, T.P., 1971. The termination of fibres from the cerebral cortex and thalamus upon dendritic spines in the caudate nucleus: a study with the Golgi method. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 262, 429–439.
- Kendall, D.A., Yudowski, G.A., 2016. Cannabinoid Receptors in the Central Nervous System: Their Signaling and Roles in Disease. *Front. Cell. Neurosci.* 10, 294. doi:10.3389/fncel.2016.00294
- Kerr, J.N., Wickens, J.R., 2001. Dopamine D-1/D-5 receptor activation is required for long-term potentiation in the rat neostriatum in vitro. *J. Neurophysiol.* 85, 117–124.
- Kincaid, A.E., Wilson, C.J., 1996. Corticostriatal innervation of the patch and matrix in the rat neostriatum. *J. Comp. Neurol.* 374, 578–592. doi:10.1002/(SICI)1096-9861(19961028)374:4<578::AID-CNE7>3.0.CO;2-Z
- Kincaid, A.E., Zheng, T., Wilson, C.J., 1998. Connectivity and convergence of single corticostriatal axons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 18, 4722–4731.
- Kiritani, T., Wickersham, I.R., Seung, H.S., Shepherd, G.M.G., 2012. Hierarchical connectivity and connection-specific dynamics in the corticospinal-corticostriatal microcircuit in mouse motor cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 32, 4992–5001. doi:10.1523/JNEUROSCI.4759-11.2012
- Kita, H., Kosaka, T., Heizmann, C.W., 1990. Parvalbumin-immunoreactive neurons in the rat neostriatum: a light and electron microscopic study. *Brain Res.* 536, 1–15.
- Kita, T., Kita, H., Kitai, S.T., 1984. Passive electrical membrane properties of rat neostriatal neurons in an in vitro slice preparation. *Brain Res.* 300, 129–139.
- Ko, H., Hofer, S.B., Pichler, B., Buchanan, K.A., Sjöström, P.J., Mrcic-Flogel, T.D., 2011. Functional specificity of local synaptic connections in neocortical networks. *Nature* 473, 87–91. doi:10.1038/nature09880
- Koós, T., Tepper, J.M., 1999. Inhibitory control of neostriatal projection neurons by GABAergic interneurons. *Nat. Neurosci.* 2, 467–472. doi:10.1038/8138
- Korpi, E.R., Gründer, G., Lüddens, H., 2002. Drug interactions at GABA(A) receptors. *Prog. Neurobiol.* 67, 113–159.
- Kosillo, P., Zhang, Y.-F., Threlfell, S., Cragg, S.J., 2016. Cortical Control of Striatal Dopamine Transmission via Striatal Cholinergic Interneurons. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991.* doi:10.1093/cercor/bhw252
- Kreitzer, A.C., 2009. Physiology and pharmacology of striatal neurons. *Annu. Rev. Neurosci.* 32, 127–147. doi:10.1146/annurev.neuro.051508.135422
- Kreitzer, A.C., Malenka, R.C., 2007. Endocannabinoid-mediated rescue of striatal LTD and motor deficits in Parkinson's disease models. *Nature* 445, 643–647. doi:10.1038/nature05506
- Kreitzer, A.C., Malenka, R.C., 2005. Dopamine modulation of state-dependent endocannabinoid release and long-term depression in the striatum. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 25, 10537–10545. doi:10.1523/JNEUROSCI.2959-05.2005
- Krieger, P., Kuner, T., Sakmann, B., 2007. Synaptic connections between layer 5B pyramidal neurons in mouse somatosensory cortex are independent of apical dendrite bundling. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 11473–11482. doi:10.1523/JNEUROSCI.1182-07.2007

- Kriegstein, A., Noctor, S., Martínez-Cerdeño, V., 2006. Patterns of neural stem and progenitor cell division may underlie evolutionary cortical expansion. *Nat. Rev. Neurosci.* 7, 883–890. doi:10.1038/nrn2008
- Kruse, A.C., Hu, J., Kobilka, B.K., Wess, J., 2014. Muscarinic acetylcholine receptor X-ray structures: potential implications for drug development. *Curr. Opin. Pharmacol.* 16, 24–30. doi:10.1016/j.coph.2014.02.006
- Kubota, Y., Inagaki, S., Kito, S., Shimada, S., Okayama, T., Hatanaka, H., Pelletier, G., Takagi, H., Tohyama, M., 1988. Neuropeptide Y-immunoreactive neurons receive synaptic inputs from dopaminergic axon terminals in the rat neostriatum. *Brain Res.* 458, 389–393.
- Kubota, Y., Inagaki, S., Shimada, S., Kito, S., Eckenstein, F., Tohyama, M., 1987. Neostriatal cholinergic neurons receive direct synaptic inputs from dopaminergic axons. *Brain Res.* 413, 179–184.
- Kubota, Y., Kawaguchi, Y., 2000. Dependence of GABAergic synaptic areas on the interneuron type and target size. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 20, 375–386.
- Kulharya, A.S., Michaelis, R.C., Norris, K.S., Taylor, H.A., Garcia-Heras, J., 1998. Constitutional del(19)(q12q13.1) in a three-year-old girl with severe phenotypic abnormalities affecting multiple organ systems. *Am. J. Med. Genet.* 77, 391–394.
- Kuner, R., Köhr, G., Grünewald, S., Eisenhardt, G., Bach, A., Kornau, H.C., 1999. Role of heteromer formation in GABAB receptor function. *Science* 283, 74–77.
- Kwan, A.C., Dan, Y., 2012. Dissection of cortical microcircuits by single-neuron stimulation in vivo. *Curr. Biol. CB* 22, 1459–1467. doi:10.1016/j.cub.2012.06.007
- Kwan, K.Y., Lam, M.M.S., Krsnik, Z., Kawasaki, Y.I., Lefebvre, V., Sestan, N., 2008. SOX5 postmitotically regulates migration, postmigratory differentiation, and projections of subplate and deep-layer neocortical neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 16021–16026. doi:10.1073/pnas.0806791105

L

- Lai, T., Jabaudon, D., Molyneaux, B.J., Azim, E., Arlotta, P., Menezes, J.R.L., Macklis, J.D., 2008. SOX5 controls the sequential generation of distinct corticofugal neuron subtypes. *Neuron* 57, 232–247. doi:10.1016/j.neuron.2007.12.023
- Lanzafame, A.A., Christopoulos, A., Mitchelson, F., 2003. Cellular signaling mechanisms for muscarinic acetylcholine receptors. *Receptors Channels* 9, 241–260.
- Larkum, M.E., Zhu, J.J., Sakmann, B., 2001. Dendritic mechanisms underlying the coupling of the dendritic with the axonal action potential initiation zone of adult rat layer 5 pyramidal neurons. *J. Physiol.* 533, 447–466.
- Laurence JG, 2006. Brodmann's, localisation in the cerebral cortex, Springer. ed.
- Lavzin, M., Rapoport, S., Polsky, A., Garion, L., Schiller, J., 2012. Nonlinear dendritic processing determines angular tuning of barrel cortex neurons in vivo. *Nature* 490, 397–401. doi:10.1038/nature11451
- Le Bé, J.-V., Silberberg, G., Wang, Y., Markram, H., 2007. Morphological, electrophysiological, and synaptic properties of corticocallosal pyramidal cells in the neonatal rat neocortex. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 17, 2204–2213. doi:10.1093/cercor/bhl127

- Le Moine, C., Kieffer, B., Gaveriaux-Ruff, C., Befort, K., Bloch, B., 1994. Delta-opioid receptor gene expression in the mouse forebrain: localization in cholinergic neurons of the striatum. *Neuroscience* 62, 635–640.
- Lee, A.T., Gee, S.M., Vogt, D., Patel, T., Rubenstein, J.L., Sohal, V.S., 2014. Pyramidal neurons in prefrontal cortex receive subtype-specific forms of excitation and inhibition. *Neuron* 81, 61–68. doi:10.1016/j.neuron.2013.10.031
- Lee, H.K., Barbarosie, M., Kameyama, K., Bear, M.F., Huganir, R.L., 2000. Regulation of distinct AMPA receptor phosphorylation sites during bidirectional synaptic plasticity. *Nature* 405, 955–959. doi:10.1038/35016089
- Lee, H.K., Kameyama, K., Huganir, R.L., Bear, M.F., 1998. NMDA induces long-term synaptic depression and dephosphorylation of the GluR1 subunit of AMPA receptors in hippocampus. *Neuron* 21, 1151–1162.
- Lee, S., Hjerling-Leffler, J., Zagha, E., Fishell, G., Rudy, B., 2010. The largest group of superficial neocortical GABAergic interneurons expresses ionotropic serotonin receptors. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 16796–16808. doi:10.1523/JNEUROSCI.1869-10.2010
- Lee, S.P., So, C.H., Rashid, A.J., Varghese, G., Cheng, R., Lança, A.J., O’Dowd, B.F., George, S.R., 2004. Dopamine D1 and D2 receptor Co-activation generates a novel phospholipase C-mediated calcium signal. *J. Biol. Chem.* 279, 35671–35678. doi:10.1074/jbc.M401923200
- Lehmann, J., Langer, S.Z., 1983. The striatal cholinergic interneuron: synaptic target of dopaminergic terminals? *Neuroscience* 10, 1105–1120.
- Lenz, S., Perney, T.M., Qin, Y., Robbins, E., Chesselet, M.F., 1994. GABA-ergic interneurons of the striatum express the Shaw-like potassium channel Kv3.1. *Synap. N. Y. N* 18, 55–66. doi:10.1002/syn.890180108
- Lerma, J., 2006. Kainate receptor physiology. *Curr. Opin. Pharmacol.* 6, 89–97. doi:10.1016/j.coph.2005.08.004
- Levesque, M., Charara, A., Gagnon, S., Parent, A., Deschenes, M., 1996. Corticostriatal projections from layer V cells in rat are collaterals of long-range corticofugal axons. *Brain Res.* 709, 311–315.
- Lim, S.A.O., Kang, U.J., McGehee, D.S., 2014. Striatal cholinergic interneuron regulation and circuit effects. *Front. Synaptic Neurosci.* 6, 22. doi:10.3389/fnsyn.2014.00022
- Liu, Z., Otsu, Y., Vasuta, C., Nawa, H., Murphy, T.H., 2007. Action-potential-independent GABAergic tone mediated by nicotinic stimulation of immature striatal miniature synaptic transmission. *J. Neurophysiol.* 98, 581–593. doi:10.1152/jn.00768.2006
- Lodato, S., Rouaux, C., Quast, K.B., Jantrachotechatchawan, C., Studer, M., Hensch, T.K., Arlotta, P., 2011. Excitatory projection neuron subtypes control the distribution of local inhibitory interneurons in the cerebral cortex. *Neuron* 69, 763–779. doi:10.1016/j.neuron.2011.01.015
- Lopes, R., Verhey van Wijk, N., Neves, G., Pachnis, V., 2012. Transcription factor LIM homeobox 7 (Lhx7) maintains subtype identity of cholinergic interneurons in the mammalian striatum. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 3119–3124. doi:10.1073/pnas.1109251109
- López-Coviella, I., Berse, B., Krauss, R., Thies, R.S., Blusztajn, J.K., 2000. Induction and maintenance of the neuronal cholinergic phenotype in the central nervous system by BMP-9. *Science* 289, 313–316.

- Lopez-Coviella, I., Follettie, M.T., Mellott, T.J., Kovacheva, V.P., Slack, B.E., Diesl, V., Berse, B., Thies, R.S., Blusztajn, J.K., 2005. Bone morphogenetic protein 9 induces the transcriptome of basal forebrain cholinergic neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 6984–6989. doi:10.1073/pnas.0502097102
- Lovinger, D.M., 2010. Neurotransmitter roles in synaptic modulation, plasticity and learning in the dorsal striatum. *Neuropharmacology* 58, 951–961. doi:10.1016/j.neuropharm.2010.01.008
- Lovinger, D.M., Partridge, J.G., Tang, K.-C., 2003. Plastic control of striatal glutamatergic transmission by ensemble actions of several neurotransmitters and targets for drugs of abuse. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1003, 226–240.
- Lukas, R.J., Changeux, J.P., Le Novère, N., Albuquerque, E.X., Balfour, D.J., Berg, D.K., Bertrand, D., Chiappinelli, V.A., Clarke, P.B., Collins, A.C., Dani, J.A., Grady, S.R., Kellar, K.J., Lindstrom, J.M., Marks, M.J., Quik, M., Taylor, P.W., Wonnacott, S., 1999. International Union of Pharmacology. XX. Current status of the nomenclature for nicotinic acetylcholine receptors and their subunits. *Pharmacol. Rev.* 51, 397–401.
- Lur, G., Vinck, M.A., Tang, L., Cardin, J.A., Higley, M.J., 2016. Projection-Specific Visual Feature Encoding by Layer 5 Cortical Subnetworks. *Cell Rep.* 14, 2538–2545. doi:10.1016/j.celrep.2016.02.050
- Lüscher, C., Jan, L.Y., Stoffel, M., Malenka, R.C., Nicoll, R.A., 1997. G protein-coupled inwardly rectifying K⁺ channels (GIRKs) mediate postsynaptic but not presynaptic transmitter actions in hippocampal neurons. *Neuron* 19, 687–695.
- Luttrell, L.M., Lefkowitz, R.J., 2002. The role of beta-arrestins in the termination and transduction of G-protein-coupled receptor signals. *J. Cell Sci.* 115, 455–465.

M

- MacDermott, A.B., Role, L.W., Siegelbaum, S.A., 1999. Presynaptic ionotropic receptors and the control of transmitter release. *Annu. Rev. Neurosci.* 22, 443–485. doi:10.1146/annurev.neuro.22.1.443
- Magno, L., Kretz, O., Bert, B., Ersözlü, S., Vogt, J., Fink, H., Kimura, S., Vogt, A., Monyer, H., Nitsch, R., Naumann, T., 2011. The integrity of cholinergic basal forebrain neurons depends on expression of Nkx2-1. *Eur. J. Neurosci.* 34, 1767–1782. doi:10.1111/j.1460-9568.2011.07890.x
- Maguire, J.L., Stell, B.M., Rafizadeh, M., Mody, I., 2005. Ovarian cycle-linked changes in GABA(A) receptors mediating tonic inhibition alter seizure susceptibility and anxiety. *Nat. Neurosci.* 8, 797–804. doi:10.1038/nn1469
- Mahon, S., Deniau, J.-M., Charpier, S., 2003. Various synaptic activities and firing patterns in cortico-striatal and striatal neurons in vivo. *J. Physiol. Paris* 97, 557–566. doi:10.1016/j.jphysparis.2004.01.013
- Major, G., Larkum, M.E., Schiller, J., 2013. Active properties of neocortical pyramidal neuron dendrites. *Annu. Rev. Neurosci.* 36, 1–24. doi:10.1146/annurev-neuro-062111-150343
- Malach, R., Graybiel, A.M., 1986. Mosaic architecture of the somatic sensory-recipient sector of the cat's striatum. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 6, 3436–3458.
- Malan, V., Raoul, O., Firth, H.V., Royer, G., Turleau, C., Bernheim, A., Willatt, L., Munnich, A., Vekemans, M., Lyonnet, S., Cormier-Daire, V., Colleaux, L., 2009. 19q13.11 deletion

- syndrome: a novel clinically recognisable genetic condition identified by array comparative genomic hybridisation. *J. Med. Genet.* 46, 635–640. doi:10.1136/jmg.2008.062034
- Malenka, R.C., Kauer, J.A., Zucker, R.S., Nicoll, R.A., 1988. Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. *Science* 242, 81–84.
- Malenka, R.C., Kocsis, J.D., 1988. Presynaptic actions of carbachol and adenosine on corticostriatal synaptic transmission studied in vitro. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 8, 3750–3756.
- Malenka, R.C., Nicoll, R.A., 1999. Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* 285, 1870–1874.
- Malinow, R., Malenka, R.C., 2002. AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu. Rev. Neurosci.* 25, 103–126. doi:10.1146/annurev.neuro.25.112701.142758
- Malinow, R., Miller, J.P., 1986. Postsynaptic hyperpolarization during conditioning reversibly blocks induction of long-term potentiation. *Nature* 320, 529–530. doi:10.1038/320529a0
- Maloney, S.E., Rieger, M.A., Dougherty, J.D., 2013. Identifying essential cell types and circuits in autism spectrum disorders. *Int. Rev. Neurobiol.* 113, 61–96. doi:10.1016/B978-0-12-418700-9.00003-4
- Manfroid, I., Caubit, X., Kerridge, S., Fasano, L., 2004. Three putative murine Teashirt orthologues specify trunk structures in *Drosophila* in the same way as the *Drosophila* teashirt gene. *Dev. Camb. Engl.* 131, 1065–1073. doi:10.1242/dev.00977
- Mansour, A., Fox, C.A., Burke, S., Meng, F., Thompson, R.C., Akil, H., Watson, S.J., 1994. Mu, delta, and kappa opioid receptor mRNA expression in the rat CNS: an in situ hybridization study. *J. Comp. Neurol.* 350, 412–438. doi:10.1002/cne.903500307
- Marin, O., Anderson, S.A., Rubenstein, J.L., 2000. Origin and molecular specification of striatal interneurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 20, 6063–6076.
- Marín, O., Rubenstein, J.L., 2001. A long, remarkable journey: tangential migration in the telencephalon. *Nat. Rev. Neurosci.* 2, 780–790. doi:10.1038/35097509
- Markov, N.T., Kennedy, H., 2013. The importance of being hierarchical. *Curr. Opin. Neurobiol.* 23, 187–194. doi:10.1016/j.conb.2012.12.008
- Martella, G., Platania, P., Vita, D., Sciamanna, G., Cuomo, D., Tassone, A., Tscherter, A., Kitada, T., Bonsi, P., Shen, J., Pisani, A., 2009. Enhanced sensitivity to group II mGlu receptor activation at corticostriatal synapses in mice lacking the familial parkinsonism-linked genes PINK1 or Parkin. *Exp. Neurol.* 215, 388–396. doi:10.1016/j.expneurol.2008.11.001
- Martin, E., Caubit, X., Airik, R., Vola, C., Fatmi, A., Kispert, A., Fasano, L., 2013. TSHZ3 and SOX9 regulate the timing of smooth muscle cell differentiation in the ureter by reducing myocardin activity. *PLoS One* 8, e63721. doi:10.1371/journal.pone.0063721
- Martone, M.E., Armstrong, D.M., Young, S.J., Groves, P.M., 1992. Ultrastructural examination of enkephalin and substance P input to cholinergic neurons within the rat neostriatum. *Brain Res.* 594, 253–262.
- Martos, Y.V., Braz, B.Y., Beccaria, J.P., Murer, M.G., Belforte, J.E., 2017. Compulsive social behavior emerges after selective ablation of striatal cholinergic interneurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* doi:10.1523/JNEUROSCI.3460-16.2017
- Maruoka, Y., Ohbayashi, N., Hoshikawa, M., Itoh, N., Hogan, B.L., Furuta, Y., 1998. Comparison of the expression of three highly related genes, Fgf8, Fgf17 and Fgf18, in the mouse embryo. *Mech. Dev.* 74, 175–177.

- Massey, P.V., Bashir, Z.I., 2007. Long-term depression: multiple forms and implications for brain function. *Trends Neurosci.* 30, 176–184. doi:10.1016/j.tins.2007.02.005
- Matsumoto, N., Minamimoto, T., Graybiel, A.M., Kimura, M., 2001. Neurons in the thalamic CM-Pf complex supply striatal neurons with information about behaviorally significant sensory events. *J. Neurophysiol.* 85, 960–976.
- McGarry, L.M., Packer, A.M., Fino, E., Nikolenko, V., Sippy, T., Yuste, R., 2010. Quantitative classification of somatostatin-positive neocortical interneurons identifies three interneuron subtypes. *Front. Neural Circuits* 4, 12. doi:10.3389/fncir.2010.00012
- McKenna, W.L., Betancourt, J., Larkin, K.A., Abrams, B., Guo, C., Rubenstein, J.L.R., Chen, B., 2011. *Tbr1* and *Fezf2* regulate alternate corticofugal neuronal identities during neocortical development. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 31, 549–564. doi:10.1523/JNEUROSCI.4131-10.2011
- Menon-Johansson, A.S., Berrow, N., Dolphin, A.C., 1993. G(o) transduces GABAB-receptor modulation of N-type calcium channels in cultured dorsal root ganglion neurons. *Pflugers Arch.* 425, 335–343.
- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Levey, A.I., Wainer, B.H., 1983. Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata), and hypothalamus in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 214, 170–197. doi:10.1002/cne.902140206
- Minamimoto, T., Kimura, M., 2002. Participation of the thalamic CM-Pf complex in attentional orienting. *J. Neurophysiol.* 87, 3090–3101.
- Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., Caron, M.G., 1998. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol. Rev.* 78, 189–225.
- Mobley, W.C., Rutkowski, J.L., Tennekoon, G.I., Buchanan, K., Johnston, M.V., 1985. Choline acetyltransferase activity in striatum of neonatal rats increased by nerve growth factor. *Science* 229, 284–287.
- Molyneaux, B.J., Arlotta, P., Fame, R.M., MacDonald, J.L., MacQuarrie, K.L., Macklis, J.D., 2009. Novel subtype-specific genes identify distinct subpopulations of callosal projection neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 29, 12343–12354. doi:10.1523/JNEUROSCI.6108-08.2009
- Molyneaux, B.J., Arlotta, P., Hirata, T., Hibi, M., Macklis, J.D., 2005. *Fez1* is required for the birth and specification of corticospinal motor neurons. *Neuron* 47, 817–831. doi:10.1016/j.neuron.2005.08.030
- Molyneaux, B.J., Arlotta, P., Menezes, J.R.L., Macklis, J.D., 2007. Neuronal subtype specification in the cerebral cortex. *Nat. Rev. Neurosci.* 8, 427–437. doi:10.1038/nrn2151
- Morishima, M., Kawaguchi, Y., 2006. Recurrent connection patterns of corticostriatal pyramidal cells in frontal cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 26, 4394–4405. doi:10.1523/JNEUROSCI.0252-06.2006
- Morishita, W., Connor, J.H., Xia, H., Quinlan, E.M., Shenolikar, S., Malenka, R.C., 2001. Regulation of synaptic strength by protein phosphatase 1. *Neuron* 32, 1133–1148.
- Morris, R.G., 1999. D.O. Hebb: *The Organization of Behavior*, Wiley: New York; 1949. *Brain Res. Bull.* 50, 437.
- Mulder, A.H., Wardeh, G., Hogenboom, F., Frankhuyzen, A.L., 1984. Kappa- and delta-opioid receptor agonists differentially inhibit striatal dopamine and acetylcholine release. *Nature* 308, 278–280.

- Mulkey, R.M., Endo, S., Shenolikar, S., Malenka, R.C., 1994. Involvement of a calcineurin/inhibitor-1 phosphatase cascade in hippocampal long-term depression. *Nature* 369, 486–488. doi:10.1038/369486a0
- Mulkey, R.M., Malenka, R.C., 1992. Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 9, 967–975.
- Murasaki, O., Kaibara, M., Nagase, Y., Mitarai, S., Doi, Y., Sumikawa, K., Taniyama, K., 2003. Site of action of the general anesthetic propofol in muscarinic M1 receptor-mediated signal transduction. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 307, 995–1000. doi:10.1124/jpet.103.055772
- Murayama, M., Pérez-Garci, E., Nevian, T., Bock, T., Senn, W., Larkum, M.E., 2009. Dendritic encoding of sensory stimuli controlled by deep cortical interneurons. *Nature* 457, 1137–1141. doi:10.1038/nature07663

N-O

- Naka, A., 2015. Cell-Type-Specific Manipulation Reveals New Specificity in the Neocortical Microcircuit. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 35, 8976–8978. doi:10.1523/JNEUROSCI.1297-15.2015
- Naka, A., Adesnik, H., 2016. Inhibitory Circuits in Cortical Layer 5. *Front. Neural Circuits* 10, 35. doi:10.3389/fncir.2016.00035
- Nassi, J.J., Callaway, E.M., 2009. Parallel processing strategies of the primate visual system. *Nat. Rev. Neurosci.* 10, 360–372. doi:10.1038/nrn2619
- Nelson, A.B., Bussert, T.G., Kreitzer, A.C., Seal, R.P., 2014a. Striatal cholinergic neurotransmission requires VGLUT3. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 34, 8772–8777. doi:10.1523/JNEUROSCI.0901-14.2014
- Nelson, A.B., Hammack, N., Yang, C.F., Shah, N.M., Seal, R.P., Kreitzer, A.C., 2014b. Striatal cholinergic interneurons Drive GABA release from dopamine terminals. *Neuron* 82, 63–70. doi:10.1016/j.neuron.2014.01.023
- Nicholas, A.P., Pieribone, V.A., Arvidsson, U., Hökfelt, T., 1992. Serotonin-, substance P- and glutamate/aspartate-like immunoreactivities in medullo-spinal pathways of rat and primate. *Neuroscience* 48, 545–559.
- Nicoletti, F., Bockaert, J., Collingridge, G.L., Conn, P.J., Ferraguti, F., Schoepp, D.D., Wroblewski, J.T., Pin, J.P., 2011. Metabotropic glutamate receptors: from the workbench to the bedside. *Neuropharmacology* 60, 1017–1041. doi:10.1016/j.neuropharm.2010.10.022
- Niewiadomska, G., Mietelska-Porowska, A., Mazurkiewicz, M., 2011. The cholinergic system, nerve growth factor and the cytoskeleton. *Behav. Brain Res.* 221, 515–526. doi:10.1016/j.bbr.2010.02.024
- Nisenbaum, E.S., Wilson, C.J., 1995. Potassium currents responsible for inward and outward rectification in rat neostriatal spiny projection neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 15, 4449–4463.
- Nisenbaum, E.S., Wilson, C.J., Foehring, R.C., Surmeier, D.J., 1996. Isolation and characterization of a persistent potassium current in neostriatal neurons. *J. Neurophysiol.* 76, 1180–1194.
- Nishi, A., Snyder, G.L., Greengard, P., 1997. Bidirectional regulation of DARPP-32 phosphorylation by dopamine. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 8147–8155.

- Nóbrega-Pereira, S., Gelman, D., Bartolini, G., Pla, R., Pierani, A., Marín, O., 2010. Origin and molecular specification of globus pallidus neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 2824–2834. doi:10.1523/JNEUROSCI.4023-09.2010
- O'Connor, D.H., Peron, S.P., Huber, D., Svoboda, K., 2010. Neural activity in barrel cortex underlying vibrissa-based object localization in mice. *Neuron* 67, 1048–1061. doi:10.1016/j.neuron.2010.08.026
- O'Leary, D.D.M., Chou, S.-J., Sahara, S., 2007. Area patterning of the mammalian cortex. *Neuron* 56, 252–269. doi:10.1016/j.neuron.2007.10.010

P-Q-R

- Packer, A.M., Yuste, R., 2011. Dense, unspecific connectivity of neocortical parvalbumin-positive interneurons: a canonical microcircuit for inhibition? *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 31, 13260–13271. doi:10.1523/JNEUROSCI.3131-11.2011
- Pan, D., Rubin, G.M., 1998. Targeted expression of teashirt induces ectopic eyes in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 15508–15512.
- Pancani, T., Bolarinwa, C., Smith, Y., Lindsley, C.W., Conn, P.J., Xiang, Z., 2014. M4 mAChR-mediated modulation of glutamatergic transmission at corticostriatal synapses. *ACS Chem. Neurosci.* 5, 318–324. doi:10.1021/cn500003z
- Parent, A., Hazrati, L.N., 1995. Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 20, 91–127.
- Parsons, M.E., Ganellin, C.R., 2006. Histamine and its receptors. *Br. J. Pharmacol.* 147 Suppl 1, S127-135. doi:10.1038/sj.bjp.0706440
- Partridge, J.G., Tang, K.C., Lovinger, D.M., 2000. Regional and postnatal heterogeneity of activity-dependent long-term changes in synaptic efficacy in the dorsal striatum. *J. Neurophysiol.* 84, 1422–1429.
- Paxinos G, Franklin KBJ, 2001. *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates* 2nd edn., Academic Press. ed.
- Peça, J., Feliciano, C., Ting, J.T., Wang, W., Wells, M.F., Venkatraman, T.N., Lascola, C.D., Fu, Z., Feng, G., 2011. Shank3 mutant mice display autistic-like behaviours and striatal dysfunction. *Nature* 472, 437–442. doi:10.1038/nature09965
- Pepeu, G., Giovannini, M.G., 2004. Changes in acetylcholine extracellular levels during cognitive processes. *Learn. Mem. Cold Spring Harb. N* 11, 21–27. doi:10.1101/lm.68104
- Persohn, E., Malherbe, P., Richards, J.G., 1992. Comparative molecular neuroanatomy of cloned GABAA receptor subunits in the rat CNS. *J. Comp. Neurol.* 326, 193–216. doi:10.1002/cne.903260204
- Peters, A., Proskauer, C.C., Ribak, C.E., 1982. Chandelier cells in rat visual cortex. *J. Comp. Neurol.* 206, 397–416. doi:10.1002/cne.902060408
- Petreaanu, L., Mao, T., Sternson, S.M., Svoboda, K., 2009. The subcellular organization of neocortical excitatory connections. *Nature* 457, 1142–1145. doi:10.1038/nature07709
- Pfeffer, C.K., Xue, M., He, M., Huang, Z.J., Scanziani, M., 2013. Inhibition of inhibition in visual cortex: the logic of connections between molecularly distinct interneurons. *Nat. Neurosci.* 16, 1068–1076. doi:10.1038/nn.3446

- Pi, H.-J., Hangya, B., Kvitsiani, D., Sanders, J.I., Huang, Z.J., Kepecs, A., 2013. Cortical interneurons that specialize in disinhibitory control. *Nature* 503, 521–524. doi:10.1038/nature12676
- Picconi, B., Centonze, D., Håkansson, K., Bernardi, G., Greengard, P., Fisone, G., Cenci, M.A., Calabresi, P., 2003. Loss of bidirectional striatal synaptic plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia. *Nat. Neurosci.* 6, 501–506. doi:10.1038/nn1040
- Pisani, A., Bernardi, G., Ding, J., Surmeier, D.J., 2007. Re-emergence of striatal cholinergic interneurons in movement disorders. *Trends Neurosci.* 30, 545–553. doi:10.1016/j.tins.2007.07.008
- Pisani, A., Bonsi, P., Catania, M.V., Giuffrida, R., Morari, M., Marti, M., Centonze, D., Bernardi, G., Kingston, A.E., Calabresi, P., 2002. Metabotropic glutamate 2 receptors modulate synaptic inputs and calcium signals in striatal cholinergic interneurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 22, 6176–6185. doi:20026568
- Pluta, S., Naka, A., Veit, J., Telian, G., Yao, L., Hakim, R., Taylor, D., Adesnik, H., 2015. A direct translaminar inhibitory circuit tunes cortical output. *Nat. Neurosci.* 18, 1631–1640. doi:10.1038/nn.4123
- Ponterio, G., Tassone, A., Sciamanna, G., Riahi, E., Vanni, V., Bonsi, P., Pisani, A., 2013. Powerful inhibitory action of mu opioid receptors (MOR) on cholinergic interneuron excitability in the dorsal striatum. *Neuropharmacology* 75, 78–85. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.07.006
- Pouille, F., Marin-Burgin, A., Adesnik, H., Atallah, B.V., Scanziani, M., 2009. Input normalization by global feedforward inhibition expands cortical dynamic range. *Nat. Neurosci.* 12, 1577–1585. doi:10.1038/nn.2441
- Prado, V.F., Janickova, H., Al-Onaizi, M.A., Prado, M.A.M., 2017. Cholinergic circuits in cognitive flexibility. *Neuroscience* 345, 130–141. doi:10.1016/j.neuroscience.2016.09.013
- Preston, Z., Lee, K., Widdowson, L., Richardson, P.J., Pinnock, R.D., 2000. Tachykinins increase [3H]acetylcholine release in mouse striatum through multiple receptor subtypes. *Neuroscience* 95, 367–376.
- Prönneke, A., Scheuer, B., Wagener, R.J., Möck, M., Witte, M., Staiger, J.F., 2015. Characterizing VIP Neurons in the Barrel Cortex of VIPcre/tdTomato Mice Reveals Layer-Specific Differences. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991* 25, 4854–4868. doi:10.1093/cercor/bhv202
- Puelles, L., Kuwana, E., Puelles, E., Bulfone, A., Shimamura, K., Keleher, J., Smiga, S., Rubenstein, J.L., 2000. Pallial and subpallial derivatives in the embryonic chick and mouse telencephalon, traced by the expression of the genes *Dlx-2*, *Emx-1*, *Nkx-2.1*, *Pax-6*, and *Tbr-1*. *J. Comp. Neurol.* 424, 409–438.
- Qiu, S., Anderson, C.T., Levitt, P., Shepherd, G.M.G., 2011. Circuit-specific intracortical hyperconnectivity in mice with deletion of the autism-associated Met receptor tyrosine kinase. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 31, 5855–5864. doi:10.1523/JNEUROSCI.6569-10.2011
- Quik, M., Bordia, T., O’Leary, K., 2007. Nicotinic receptors as CNS targets for Parkinson’s disease. *Biochem. Pharmacol.* 74, 1224–1234. doi:10.1016/j.bcp.2007.06.015
- Rah, J.-C., Bas, E., Colonell, J., Mishchenko, Y., Karsh, B., Fetter, R.D., Myers, E.W., Chklovskii, D.B., Svoboda, K., Harris, T.D., Isaac, J.T.R., 2013. Thalamocortical input onto layer 5 pyramidal neurons measured using quantitative large-scale array tomography. *Front. Neural Circuits* 7, 177. doi:10.3389/fncir.2013.00177

- Ramanathan, S., Hanley, J.J., Deniau, J.-M., Bolam, J.P., 2002. Synaptic convergence of motor and somatosensory cortical afferents onto GABAergic interneurons in the rat striatum. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 22, 8158–8169.
- Ramaswamy, S., Markram, H., 2015. Anatomy and physiology of the thick-tufted layer 5 pyramidal neuron. *Front. Cell. Neurosci.* 9, 233. doi:10.3389/fncel.2015.00233
- Ramirez, D.M.O., Kavalali, E.T., 2011. Differential regulation of spontaneous and evoked neurotransmitter release at central synapses. *Curr. Opin. Neurobiol.* 21, 275–282. doi:10.1016/j.conb.2011.01.007
- Rankin, M.L., Sibley, D.R., 2010. Constitutive phosphorylation by protein kinase C regulates D1 dopamine receptor signaling. *J. Neurochem.* 115, 1655–1667. doi:10.1111/j.1471-4159.2010.07074.x
- Rapanelli, M., Frick, L.R., Pittenger, C., 2017. The Role of Interneurons in Autism and Tourette Syndrome. *Trends Neurosci.* doi:10.1016/j.tins.2017.05.004
- Ravel, S., Legallet, E., Apicella, P., 1999. Tonicly active neurons in the monkey striatum do not preferentially respond to appetitive stimuli. *Exp. Brain Res.* 128, 531–534.
- Read, H.L., Winer, J.A., Schreiner, C.E., 2001. Modular organization of intrinsic connections associated with spectral tuning in cat auditory cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 8042–8047. doi:10.1073/pnas.131591898
- Reiner, A., Hart, N.M., Lei, W., Deng, Y., 2010. Corticostriatal projection neurons - dichotomous types and dichotomous functions. *Front. Neuroanat.* 4, 142. doi:10.3389/fnana.2010.00142
- Ren, J., Qin, C., Hu, F., Tan, J., Qiu, L., Zhao, S., Feng, G., Luo, M., 2011. Habenula “cholinergic” neurons co-release glutamate and acetylcholine and activate postsynaptic neurons via distinct transmission modes. *Neuron* 69, 445–452. doi:10.1016/j.neuron.2010.12.038
- Reyes-Puerta, V., Kim, S., Sun, J.-J., Imbrosci, B., Kilb, W., Luhmann, H.J., 2015. High Stimulus-Related Information in Barrel Cortex Inhibitory Interneurons. *PLoS Comput. Biol.* 11, e1004121. doi:10.1371/journal.pcbi.1004121
- Reynolds, J.N., Wickens, J.R., 2000. Substantia nigra dopamine regulates synaptic plasticity and membrane potential fluctuations in the rat neostriatum, in vivo. *Neuroscience* 99, 199–203.
- Reynolds, J.N.J., Hyland, B.I., Wickens, J.R., 2004. Modulation of an afterhyperpolarization by the substantia nigra induces pauses in the tonic firing of striatal cholinergic interneurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 24, 9870–9877. doi:10.1523/JNEUROSCI.3225-04.2004
- Richardson, P.J., Dixon, A.K., Lee, K., Bell, M.I., Cox, P.J., Williams, R., Pinnock, R.D., Freeman, T.C., 2000. Correlating physiology with gene expression in striatal cholinergic neurones. *J. Neurochem.* 74, 839–846.
- Rivier, F., Clarke, S., 1997. Cytochrome oxidase, acetylcholinesterase, and NADPH-diaphorase staining in human supratemporal and insular cortex: evidence for multiple auditory areas. *NeuroImage* 6, 288–304. doi:10.1006/nimg.1997.0304
- Rodríguez-Pallares, J., Labandeira-García, J.L., Muñoz, A., Caruncho, H.J., 2000. Morphology and neurochemistry of two striatal neuronal subtypes expressing the GABA(A) receptor alpha3-subunit in the rat. *Brain Res.* 876, 124–130.
- Rondou, P., Haegeman, G., Van Craenenbroeck, K., 2010. The dopamine D4 receptor: biochemical and signalling properties. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 67, 1971–1986. doi:10.1007/s00018-010-0293-y

- Rouaux, C., Arlotta, P., 2013. Direct lineage reprogramming of post-mitotic callosal neurons into corticofugal neurons in vivo. *Nat. Cell Biol.* 15, 214–221. doi:10.1038/ncb2660
- Rudie, J.D., Hernandez, L.M., Brown, J.A., Beck-Pancer, D., Colich, N.L., Gorrindo, P., Thompson, P.M., Geschwind, D.H., Bookheimer, S.Y., Levitt, P., Dapretto, M., 2012. Autism-associated promoter variant in MET impacts functional and structural brain networks. *Neuron* 75, 904–915. doi:10.1016/j.neuron.2012.07.010
- Rymar, V.V., Sasseville, R., Luk, K.C., Sadikot, A.F., 2004. Neurogenesis and stereological morphometry of calretinin-immunoreactive GABAergic interneurons of the neostriatum. *J. Comp. Neurol.* 469, 325–339. doi:10.1002/cne.11008

S

- Sahara, S., Kawakami, Y., Izpisua Belmonte, J.C., O'Leary, D.D.M., 2007. Sp8 exhibits reciprocal induction with Fgf8 but has an opposing effect on anterior-posterior cortical area patterning. *Neural Develop.* 2, 10. doi:10.1186/1749-8104-2-10
- Sahu, A., Tyeryar, K.R., Vongtau, H.O., Sibley, D.R., Undieh, A.S., 2009. D5 dopamine receptors are required for dopaminergic activation of phospholipase C. *Mol. Pharmacol.* 75, 447–453. doi:10.1124/mol.108.053017
- Sandor, N.T., Zelles, T., Kiss, J., Sershen, H., Torocsik, A., Lajtha, A., Vizi, E.S., 1991. Effect of nicotine on dopaminergic-cholinergic interaction in the striatum. *Brain Res.* 567, 313–316.
- Sato, A., Sasaoka, T., Nishijo, T., Momiyama, T., 2014. GABAergic synaptic transmission onto striatal cholinergic interneurons in dopamine D2 receptor knock-out mice. *Neuroscience* 263, 138–147. doi:10.1016/j.neuroscience.2014.01.010
- Schiffmann, S.N., Jacobs, O., Vanderhaeghen, J.J., 1991. Striatal restricted adenosine A2 receptor (RDC8) is expressed by enkephalin but not by substance P neurons: an in situ hybridization histochemistry study. *J. Neurochem.* 57, 1062–1067.
- Schnitzler, A.C., Mellott, T.J., Lopez-Coviella, I., Tallini, Y.N., Kotlikoff, M.I., Follettie, M.T., Blusztajn, J.K., 2010. BMP9 (bone morphogenetic protein 9) induces NGF as an autocrine/paracrine cholinergic trophic factor in developing basal forebrain neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 8221–8228. doi:10.1523/JNEUROSCI.5611-09.2010
- Schoffelmeer, A.N., Hogenboom, F., Mulder, A.H., 1997. Kappa1- and kappa2-opioid receptors mediating presynaptic inhibition of dopamine and acetylcholine release in rat neostriatum. *Br. J. Pharmacol.* 122, 520–524. doi:10.1038/sj.bjp.0701394
- Schotanus, S.M., Chergui, K., 2008. Dopamine D1 receptors and group I metabotropic glutamate receptors contribute to the induction of long-term potentiation in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology* 54, 837–844. doi:10.1016/j.neuropharm.2007.12.012
- Schubert, D., Kötter, R., Luhmann, H.J., Staiger, J.F., 2006. Morphology, electrophysiology and functional input connectivity of pyramidal neurons characterizes a genuine layer Va in the primary somatosensory cortex. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 16, 223–236. doi:10.1093/cercor/bhi100
- Schubert, D., Staiger, J.F., Cho, N., Kötter, R., Zilles, K., Luhmann, H.J., 2001. Layer-specific intracolumnar and transcolumnar functional connectivity of layer V pyramidal cells in rat barrel cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 21, 3580–3592.

- Schuler, V., Lüscher, C., Blanchet, C., Klix, N., Sansig, G., Klebs, K., Schmutz, M., Heid, J., Gentry, C., Urban, L., Fox, A., Spooren, W., Jatou, A.L., Vigouret, J., Pozza, M., Kelly, P.H., Mosbacher, J., Froestl, W., Käslin, E., Korn, R., Bischoff, S., Kaupmann, K., van der Putten, H., Bettler, B., 2001. Epilepsy, hyperalgesia, impaired memory, and loss of pre- and postsynaptic GABA(B) responses in mice lacking GABA(B(1)). *Neuron* 31, 47–58.
- Schumann, C.M., Bloss, C.S., Barnes, C.C., Wideman, G.M., Carper, R.A., Akshoomoff, N., Pierce, K., Hagler, D., Schork, N., Lord, C., Courchesne, E., 2010. Longitudinal magnetic resonance imaging study of cortical development through early childhood in autism. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 4419–4427. doi:10.1523/JNEUROSCI.5714-09.2010
- Schuurs-Hoeijmakers, J.H.M., Vermeer, S., van Bon, B.W.M., Pfundt, R., Marcelis, C., de Brouwer, A.P.M., de Leeuw, N., de Vries, B.B.A., 2009. Refining the critical region of the novel 19q13.11 microdeletion syndrome to 750 Kb. *J. Med. Genet.* 46, 421–423. doi:10.1136/jmg.2009.066910
- Semba, K., Fibiger, H.C., 1988. Time of origin of cholinergic neurons in the rat basal forebrain. *J. Comp. Neurol.* 269, 87–95. doi:10.1002/cne.902690107
- Sharples, C.G., Kaiser, S., Soliakov, L., Marks, M.J., Collins, A.C., Washburn, M., Wright, E., Spencer, J.A., Gallagher, T., Whiteaker, P., Wonnacott, S., 2000. UB-165: a novel nicotinic agonist with subtype selectivity implicates the alpha4beta2* subtype in the modulation of dopamine release from rat striatal synaptosomes. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 20, 2783–2791.
- Sheets, P.L., Suter, B.A., Kiritani, T., Chan, C.S., Surmeier, D.J., Shepherd, G.M.G., 2011. Corticospinal-specific HCN expression in mouse motor cortex: I(h)-dependent synaptic integration as a candidate microcircuit mechanism involved in motor control. *J. Neurophysiol.* 106, 2216–2231. doi:10.1152/jn.00232.2011
- Shen, W., Flajolet, M., Greengard, P., Surmeier, D.J., 2008. Dichotomous dopaminergic control of striatal synaptic plasticity. *Science* 321, 848–851. doi:10.1126/science.1160575
- Shen, W., Tian, X., Day, M., Ulrich, S., Tkatch, T., Nathanson, N.M., Surmeier, D.J., 2007. Cholinergic modulation of Kir2 channels selectively elevates dendritic excitability in striatopallidal neurons. *Nat. Neurosci.* 10, 1458–1466. doi:10.1038/nn1972
- Shepherd, G.M.G., 2013. Corticostriatal connectivity and its role in disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 14, 278–291. doi:10.1038/nrn3469
- Shepherd, G.M.G., Katz, D.M., 2011. Synaptic microcircuit dysfunction in genetic models of neurodevelopmental disorders: focus on Mecp2 and Met. *Curr. Opin. Neurobiol.* 21, 827–833. doi:10.1016/j.conb.2011.06.006
- Shim, S., Kwan, K.Y., Li, M., Lefebvre, V., Sestan, N., 2012. Cis-regulatory control of corticospinal system development and evolution. *Nature* 486, 74–79. doi:10.1038/nature11094
- Sibley, D.R., 1999. New insights into dopaminergic receptor function using antisense and genetically altered animals. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 39, 313–341. doi:10.1146/annurev.pharmtox.39.1.313
- Silberberg, G., Markram, H., 2007. Disynaptic inhibition between neocortical pyramidal cells mediated by Martinotti cells. *Neuron* 53, 735–746. doi:10.1016/j.neuron.2007.02.012
- Simonds, W.F., 1999. G protein regulation of adenylate cyclase. *Trends Pharmacol. Sci.* 20, 66–73.

- Sobreviela, T., Clary, D.O., Reichardt, L.F., Brandabur, M.M., Kordower, J.H., Mufson, E.J., 1994. TrkA-immunoreactive profiles in the central nervous system: colocalization with neurons containing p75 nerve growth factor receptor, choline acetyltransferase, and serotonin. *J. Comp. Neurol.* 350, 587–611. doi:10.1002/cne.903500407
- Sohur, U.S., Padmanabhan, H.K., Kotchetkov, I.S., Menezes, J.R.L., Macklis, J.D., 2014. Anatomic and molecular development of corticostriatal projection neurons in mice. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991* 24, 293–303. doi:10.1093/cercor/bhs342
- Somogyi, P., Bolam, J.P., Smith, A.D., 1981. Monosynaptic cortical input and local axon collaterals of identified striatonigral neurons. A light and electron microscopic study using the Golgi-peroxidase transport-degeneration procedure. *J. Comp. Neurol.* 195, 567–584. doi:10.1002/cne.901950403
- Song, I., Huganir, R.L., 2002. Regulation of AMPA receptors during synaptic plasticity. *Trends Neurosci.* 25, 578–588.
- Spooren, W., Lindemann, L., Ghosh, A., Santarelli, L., 2012. Synapse dysfunction in autism: a molecular medicine approach to drug discovery in neurodevelopmental disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* 33, 669–684. doi:10.1016/j.tips.2012.09.004
- Srinivasan, K., Leone, D.P., Bateson, R.K., Dobрева, G., Kohwi, Y., Kohwi-Shigematsu, T., Grosschedl, R., McConnell, S.K., 2012. A network of genetic repression and derepression specifies projection fates in the developing neocortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 19071–19078. doi:10.1073/pnas.1216793109
- Stell, B.M., Brickley, S.G., Tang, C.Y., Farrant, M., Mody, I., 2003. Neuroactive steroids reduce neuronal excitability by selectively enhancing tonic inhibition mediated by delta subunit-containing GABAA receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 14439–14444. doi:10.1073/pnas.2435457100
- Stepanyants, A., Martinez, L.M., Ferecskó, A.S., Kisvárdy, Z.F., 2009. The fractions of short- and long-range connections in the visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 3555–3560. doi:10.1073/pnas.0810390106
- Straub, C., Tritsch, N.X., Hagan, N.A., Gu, C., Sabatini, B.L., 2014. Multiphasic modulation of cholinergic interneurons by nigrostriatal afferents. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 34, 8557–8569. doi:10.1523/JNEUROSCI.0589-14.2014
- Stuber, G.D., Hnasko, T.S., Britt, J.P., Edwards, R.H., Bonci, A., 2010. Dopaminergic terminals in the nucleus accumbens but not the dorsal striatum corelease glutamate. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 8229–8233. doi:10.1523/JNEUROSCI.1754-10.2010
- Südhof, T.C., 2008. Neuroligins and neurexins link synaptic function to cognitive disease. *Nature* 455, 903–911. doi:10.1038/nature07456
- Sugita, S., Uchimura, N., Jiang, Z.G., North, R.A., 1991. Distinct muscarinic receptors inhibit release of gamma-aminobutyric acid and excitatory amino acids in mammalian brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 2608–2611.
- Sullivan, M.A., Chen, H., Morikawa, H., 2008. Recurrent inhibitory network among striatal cholinergic interneurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 28, 8682–8690. doi:10.1523/JNEUROSCI.2411-08.2008
- Surmeier, D.J., Bargas, J., Kitai, S.T., 1989. Two types of A-current differing in voltage-dependence are expressed by neurons of the rat neostriatum. *Neurosci. Lett.* 103, 331–337.
- Suter, B.A., Migliore, M., Shepherd, G.M.G., 2013. Intrinsic electrophysiology of mouse corticospinal neurons: a class-specific triad of spike-related properties. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991* 23, 1965–1977. doi:10.1093/cercor/bhs184

Szydlowski, S.N., Pollak Dorocic, I., Planert, H., Carlén, M., Meletis, K., Silberberg, G., 2013. Target selectivity of feedforward inhibition by striatal fast-spiking interneurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 1678–1683. doi:10.1523/JNEUROSCI.3572-12.2013

T-U-V

- Taniguchi, H., Lu, J., Huang, Z.J., 2013. The spatial and temporal origin of chandelier cells in mouse neocortex. *Science* 339, 70–74. doi:10.1126/science.1227622
- Tepper, J.M., Bolam, J.P., 2004. Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Curr. Opin. Neurobiol.* 14, 685–692. doi:10.1016/j.conb.2004.10.003
- Tepper, J.M., Koós, T., Wilson, C.J., 2004. GABAergic microcircuits in the neostriatum. *Trends Neurosci.* 27, 662–669. doi:10.1016/j.tins.2004.08.007
- Tepper, J.M., Tecuapetla, F., Koós, T., Ibáñez-Sandoval, O., 2010. Heterogeneity and diversity of striatal GABAergic interneurons. *Front. Neuroanat.* 4, 150. doi:10.3389/fnana.2010.00150
- Thomson, A.M., 2010. Neocortical layer 6, a review. *Front. Neuroanat.* 4, 13. doi:10.3389/fnana.2010.00013
- Thomson, A.M., Bannister, A.P., 2003. Interlaminar connections in the neocortex. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991* 13, 5–14.
- Thomson, A.M., Bannister, A.P., 1998. Postsynaptic pyramidal target selection by descending layer III pyramidal axons: dual intracellular recordings and biocytin filling in slices of rat neocortex. *Neuroscience* 84, 669–683.
- Threlfell, S., Clements, M.A., Khodai, T., Pienaar, I.S., Exley, R., Wess, J., Cragg, S.J., 2010. Striatal muscarinic receptors promote activity dependence of dopamine transmission via distinct receptor subtypes on cholinergic interneurons in ventral versus dorsal striatum. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 3398–3408. doi:10.1523/JNEUROSCI.5620-09.2010
- Threlfell, S., Cragg, S.J., 2011. Dopamine signaling in dorsal versus ventral striatum: the dynamic role of cholinergic interneurons. *Front. Syst. Neurosci.* 5, 11. doi:10.3389/fnsys.2011.00011
- Threlfell, S., Lalic, T., Platt, N.J., Jennings, K.A., Deisseroth, K., Cragg, S.J., 2012a. Striatal dopamine release is triggered by synchronized activity in cholinergic interneurons. *Neuron* 75, 58–64. doi:10.1016/j.neuron.2012.04.038
- Threlfell, S., Lalic, T., Platt, N.J., Jennings, K.A., Deisseroth, K., Cragg, S.J., 2012b. Striatal dopamine release is triggered by synchronized activity in cholinergic interneurons. *Neuron* 75, 58–64. doi:10.1016/j.neuron.2012.04.038
- Tomassy, G.S., De Leonibus, E., Jabaudon, D., Lodato, S., Alfano, C., Mele, A., Macklis, J.D., Studer, M., 2010. Area-specific temporal control of corticospinal motor neuron differentiation by COUP-TFI. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 3576–3581. doi:10.1073/pnas.0911792107
- Toro, R., Konyukh, M., Delorme, R., Leblond, C., Chaste, P., Fauchereau, F., Coleman, M., Leboyer, M., Gillberg, C., Bourgeron, T., 2010. Key role for gene dosage and synaptic homeostasis in autism spectrum disorders. *Trends Genet. TIG* 26, 363–372. doi:10.1016/j.tig.2010.05.007

- Tremblay, R., Lee, S., Rudy, B., 2016. GABAergic Interneurons in the Neocortex: From Cellular Properties to Circuits. *Neuron* 91, 260–292. doi:10.1016/j.neuron.2016.06.033
- Tritsch, N.X., Ding, J.B., Sabatini, B.L., 2012. Dopaminergic neurons inhibit striatal output through non-canonical release of GABA. *Nature* 490, 262–266. doi:10.1038/nature11466
- Tso, P.H., Wong, Y.H., 2003. Molecular basis of opioid dependence: role of signal regulation by G-proteins. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 30, 307–316.
- Unwin, N., 2005. Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at 4Å resolution. *J. Mol. Biol.* 346, 967–989. doi:10.1016/j.jmb.2004.12.031
- Vallone, D., Picetti, R., Borrelli, E., 2000. Structure and function of dopamine receptors. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 24, 125–132.
- van den Heuvel, J.K., Furman, K., Gumbs, M.C.R., Eggels, L., Opland, D.M., Land, B.B., Kolk, S.M., Narayanan, N.S., Fliers, E., Kalsbeek, A., DiLeone, R.J., la Fleur, S.E., 2015. Neuropeptide Y activity in the nucleus accumbens modulates feeding behavior and neuronal activity. *Biol. Psychiatry* 77, 633–641. doi:10.1016/j.biopsych.2014.06.008
- van Vulpen, E.H., van der Kooy, D., 1998. Striatal cholinergic interneurons: birthdates predict compartmental localization. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 109, 51–58.
- Van Vulpen, E.H., Van Der Kooy, D., 1996. Differential maturation of cholinergic interneurons in the striatal patch versus matrix compartments. *J. Comp. Neurol.* 365, 683–691. doi:10.1002/(SICI)1096-9861(19960219)365:4<683::AID-CNE12>3.0.CO;2-I
- Vélez-Fort, M., Rousseau, C.V., Niedworok, C.J., Wickersham, I.R., Rancz, E.A., Brown, A.P.Y., Strom, M., Margrie, T.W., 2014. The stimulus selectivity and connectivity of layer six principal cells reveals cortical microcircuits underlying visual processing. *Neuron* 83, 1431–1443. doi:10.1016/j.neuron.2014.08.001
- Vincent, S.R., Johansson, O., 1983. Striatal neurons containing both somatostatin- and avian pancreatic polypeptide (APP)-like immunoreactivities and NADPH-diaphorase activity: a light and electron microscopic study. *J. Comp. Neurol.* 217, 264–270. doi:10.1002/cne.902170304
- Vincent, S.R., Johansson, O., Hökfelt, T., Skirboll, L., Elde, R.P., Terenius, L., Kimmel, J., Goldstein, M., 1983. NADPH-diaphorase: a selective histochemical marker for striatal neurons containing both somatostatin- and avian pancreatic polypeptide (APP)-like immunoreactivities. *J. Comp. Neurol.* 217, 252–263. doi:10.1002/cne.902170303
- Vuillet, J., Dimova, R., Nieoullon, A., Kerkerian-Le Goff, L., 1992. Ultrastructural relationships between choline acetyltransferase- and neuropeptide y-containing neurons in the rat striatum. *Neuroscience* 46, 351–360.
- Vuillet, J., Kerkerian, L., Kachidian, P., Bosler, O., Nieoullon, A., 1989. Ultrastructural correlates of functional relationships between nigral dopaminergic or cortical afferent fibers and neuropeptide Y-containing neurons in the rat striatum. *Neurosci. Lett.* 100, 99–104.



- Walther, C., Gruss, P., 1991. Pax-6, a murine paired box gene, is expressed in the developing CNS. *Dev. Camb. Engl.* 113, 1435–1449.
- Waltzer, L., Vandel, L., Bienz, M., 2001. Teashirt is required for transcriptional repression mediated by high Wingless levels. *EMBO J.* 20, 137–145. doi:10.1093/emboj/20.1.137

- Wang, H.F., Liu, F.C., 2001. Developmental restriction of the LIM homeodomain transcription factor *Islet-1* expression to cholinergic neurons in the rat striatum. *Neuroscience* 103, 999–1016.
- Ward, N.L., Hagg, T., 2000. BDNF is needed for postnatal maturation of basal forebrain and neostriatum cholinergic neurons in vivo. *Exp. Neurol.* 162, 297–310.
doi:10.1006/exnr.1999.7346
- Watanabe, M., Inoue, Y., Sakimura, K., Mishina, M., 1993. Distinct spatio-temporal distributions of the NMDA receptor channel subunit mRNAs in the brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 707, 463–466.
- Waters, S.T., Wilson, C.P., Lewandoski, M., 2003. Cloning and embryonic expression analysis of the mouse *Gbx1* gene. *Gene Expr. Patterns GEP* 3, 313–317.
- Weber, E.T., Andrade, R., 2010. *Htr2a* Gene and 5-HT(2A) Receptor Expression in the Cerebral Cortex Studied Using Genetically Modified Mice. *Front. Neurosci.* 4.
doi:10.3389/fnins.2010.00036
- Weiler, N., Wood, L., Yu, J., Solla, S.A., Shepherd, G.M.G., 2008. Top-down laminar organization of the excitatory network in motor cortex. *Nat. Neurosci.* 11, 360–366.
doi:10.1038/nn2049
- Weiner, D.M., Levey, A.I., Brann, M.R., 1990. Expression of muscarinic acetylcholine and dopamine receptor mRNAs in rat basal ganglia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87, 7050–7054.
- White, J.H., Wise, A., Main, M.J., Green, A., Fraser, N.J., Disney, G.H., Barnes, A.A., Emson, P., Foord, S.M., Marshall, F.H., 1998. Heterodimerization is required for the formation of a functional GABA(B) receptor. *Nature* 396, 679–682. doi:10.1038/25354
- Whiting, P.J., 2006. GABA-A receptors: a viable target for novel anxiolytics? *Curr. Opin. Pharmacol.* 6, 24–29. doi:10.1016/j.coph.2005.08.005
- Wilent, W.B., Contreras, D., 2005. Dynamics of excitation and inhibition underlying stimulus selectivity in rat somatosensory cortex. *Nat. Neurosci.* 8, 1364–1370.
doi:10.1038/nn1545
- Willsey, A.J., Sanders, S.J., Li, M., Dong, S., Tebbenkamp, A.T., Muhle, R.A., Reilly, S.K., Lin, L., Fertuzinhos, S., Miller, J.A., Murtha, M.T., Bichsel, C., Niu, W., Cotney, J., Ercan-Sencicek, A.G., Gockley, J., Gupta, A.R., Han, W., He, X., Hoffman, E.J., Klei, L., Lei, J., Liu, W., Liu, L., Lu, C., Xu, X., Zhu, Y., Mane, S.M., Lein, E.S., Wei, L., Noonan, J.P., Roeder, K., Devlin, B., Sestan, N., State, M.W., 2013. Coexpression networks implicate human midfetal deep cortical projection neurons in the pathogenesis of autism. *Cell* 155, 997–1007. doi:10.1016/j.cell.2013.10.020
- Wilson, C.J., Chang, H.T., Kitai, S.T., 1990. Firing patterns and synaptic potentials of identified giant aspiny interneurons in the rat neostriatum. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 10, 508–519.
- Wilson, C.J., Groves, P.M., 1981. Spontaneous firing patterns of identified spiny neurons in the rat neostriatum. *Brain Res.* 220, 67–80.
- Wilson, C.J., Kawaguchi, Y., 1996. The origins of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 16, 2397–2410.
- Wilson, R.I., Nicoll, R.A., 2002. Endocannabinoid signaling in the brain. *Science* 296, 678–682.
doi:10.1126/science.1063545
- Wise, S.P., 1975. The laminar organization of certain afferent and efferent fiber systems in the rat somatosensory cortex. *Brain Res.* 90, 139–142.

- Wolf, M.E., Roth, R.H., 1990. Autoreceptor regulation of dopamine synthesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 604, 323–343.
- Woodworth, M.B., Custo Greig, L., Kriegstein, A.R., Macklis, J.D., 2012. SnapShot: cortical development. *Cell* 151, 918–918.e1. doi:10.1016/j.cell.2012.10.004

X-Y-Z

- Xiang, Z., Huguenard, J.R., Prince, D.A., 2002. Synaptic inhibition of pyramidal cells evoked by different interneuronal subtypes in layer v of rat visual cortex. *J. Neurophysiol.* 88, 740–750.
- Xu, X., Callaway, E.M., 2009. Laminar specificity of functional input to distinct types of inhibitory cortical neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 29, 70–85. doi:10.1523/JNEUROSCI.4104-08.2009
- Yan, Z., Flores-Hernandez, J., Surmeier, D.J., 2001. Coordinated expression of muscarinic receptor messenger RNAs in striatal medium spiny neurons. *Neuroscience* 103, 1017–1024.
- Yan, Z., Hsieh-Wilson, L., Feng, J., Tomizawa, K., Allen, P.B., Fienberg, A.A., Nairn, A.C., Greengard, P., 1999. Protein phosphatase 1 modulation of neostriatal AMPA channels: regulation by DARPP-32 and spinophilin. *Nat. Neurosci.* 2, 13–17. doi:10.1038/4516
- Yan, Z., Song, W.J., Surmeier, J., 1997. D2 dopamine receptors reduce N-type Ca²⁺ currents in rat neostriatal cholinergic interneurons through a membrane-delimited, protein-kinase-C-insensitive pathway. *J. Neurophysiol.* 77, 1003–1015.
- Yasuda, R.P., Ciesla, W., Flores, L.R., Wall, S.J., Li, M., Satkus, S.A., Weisstein, J.S., Spagnola, B.V., Wolfe, B.B., 1993. Development of antisera selective for m4 and m5 muscarinic cholinergic receptors: distribution of m4 and m5 receptors in rat brain. *Mol. Pharmacol.* 43, 149–157.
- Yue, W., Li, Y., Zhang, T., Jiang, M., Qian, Y., Zhang, M., Sheng, N., Feng, S., Tang, K., Yu, X., Shu, Y., Yue, C., Jing, N., 2015. ESC-Derived Basal Forebrain Cholinergic Neurons Ameliorate the Cognitive Symptoms Associated with Alzheimer's Disease in Mouse Models. *Stem Cell Rep.* 5, 776–790. doi:10.1016/j.stemcr.2015.09.010
- Zarrinpar, A., Callaway, E.M., 2016. Functional Local Input to Layer 5 Pyramidal Neurons in the Rat Visual Cortex. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991* 26, 991–1003. doi:10.1093/cercor/bhu268
- Zhang, W., Yamada, M., Gomeza, J., Basile, A.S., Wess, J., 2002. Multiple muscarinic acetylcholine receptor subtypes modulate striatal dopamine release, as studied with M1-M5 muscarinic receptor knock-out mice. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 22, 6347–6352. doi:20026644
- Zhao, Y., Flandin, P., Vogt, D., Blood, A., Hermes, E., Westphal, H., Rubenstein, J.L.R., 2014. Ldb1 is essential for development of Nkx2.1 lineage derived GABAergic and cholinergic neurons in the telencephalon. *Dev. Biol.* 385, 94–106. doi:10.1016/j.ydbio.2013.10.010
- Zhao, Y., Marín, O., Hermes, E., Powell, A., Flames, N., Palkovits, M., Rubenstein, J.L.R., Westphal, H., 2003. The LIM-homeobox gene Lhx8 is required for the development of many cholinergic neurons in the mouse forebrain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 9005–9010. doi:10.1073/pnas.1537759100

- Zhou, C., Tsai, S.Y., Tsai, M.J., 2001. COUP-TFI: an intrinsic factor for early regionalization of the neocortex. *Genes Dev.* 15, 2054–2059. doi:10.1101/gad.913601
- Zhou, Liang, Y., Dani, J.A., 2001. Endogenous nicotinic cholinergic activity regulates dopamine release in the striatum. *Nat. Neurosci.* 4, 1224–1229. doi:10.1038/nn769
- Zhuang, S., Zhang, Q., Zhuang, T., Evans, S.M., Liang, X., Sun, Y., 2013. Expression of *Isl1* during mouse development. *Gene Expr. Patterns GEP* 13, 407–412. doi:10.1016/j.gep.2013.07.001
- Zucker, R.S., Regehr, W.G., 2002. Short-term synaptic plasticity. *Annu. Rev. Physiol.* 64, 355–405. doi:10.1146/annurev.physiol.64.092501.114547

