

Université de Montréal

**Identification des récepteurs cholinergiques impliqués dans
le fonctionnement du cortex visuel du rongeur**

par Marianne Groleau

École d'optométrie

Thèse présentée
en vue de l'obtention du grade de doctorat
en sciences de la vision
option neurosciences de la vision et psychophysique

Juillet 2018

© Marianne Groleau, 2018

Cette thèse intitulée :

Identification des récepteurs cholinergiques impliqués dans le fonctionnement du cortex visuel
du rongeur

Présentée par :

Marianne Groleau

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes

Aarlenne Khan

Président rapporteur

Elvire Vaucher

Directrice de recherche

Graziella Di Cristo

Membre du jury

Kevin Whittingstall

Examineur externe

Hélène Girouard

Représentant du doyen de la FES

Résumé

Le système cholinergique est impliqué dans les phénomènes d'attention, de mémoire et d'apprentissage et les récepteurs cholinergiques régulent de multiples fonctions du système nerveux central. Néanmoins, leur rôle au niveau de la modulation des propriétés du cortex visuel reste à être établi. L'un des objectifs de cette thèse était d'étudier le rôle des récepteurs muscariniques impliqués dans le fonctionnement normal du cortex visuel. Nous avons pu déterminer que les récepteurs muscariniques sont impliqués dans l'établissement de nombreuses propriétés visuelles telles la taille des champs récepteurs, la sensibilité au contraste, la sélectivité à la fréquence spatiale et la finesse de la connectivité corticale. L'autre objectif était d'identifier les récepteurs cholinergiques impliqués dans la potentiation des capacités visuelles. Nous avons amélioré le traitement cognitif de l'information visuelle par stimulation électrique du télencéphale basal (noyau où sont localisés les corps cellulaires cholinergiques) et par la stimulation cholinergique par le donépézil, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase. La combinaison répétée d'une stimulation visuelle et cholinergique (qu'elle soit électrique ou pharmacologique) améliore similairement l'activité corticale visuelle. Toutefois, les récepteurs impliqués ne sont pas les mêmes. Suite à la stimulation pharmacologique, ce sont principalement les récepteurs muscariniques qui influencent l'acuité visuelle de manière tardive et cette modulation est plus précoce lors de la stimulation électrique. Ces résultats démontrent que le couplage répétitif d'une stimulation cholinergique et d'une stimulation visuelle est en mesure d'améliorer l'activité corticale visuelle. Le fait de connaître les récepteurs cholinergiques impliqués permettra dans un futur proche de les cibler directement pour améliorer la fonction corticale.

Mots-clés : récepteurs muscariniques, récepteurs nicotiniques, stimulation cholinergique, vision, activité corticale, inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, télencéphale basal

Abstract

The cholinergic system is involved in attention, learning and memory and cholinergic receptors regulate multiple functions of the central nervous system. Nevertheless, their role in modulating the properties of the visual cortex remains to be established. One of the objectives of this thesis was to study the role of muscarinic receptors involved in the normal function of the visual cortex. We have been able to determine that the muscarinic receptors are involved in the establishment of many visual properties such as the size of the receptor fields, contrast sensitivity, spatial frequency selectivity and accuracy of the cortical connectivity. The other objective was to identify the cholinergic receptors involved in the potentiation of visual abilities. We improved the cognitive processing of visual information by electrical stimulation of the basal forebrain (the nucleus where the cholinergic cell bodies are located) and by cholinergic stimulation using donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor. The repeated combination of visual and cholinergic stimulations (whether electrical or pharmacological) similarly enhances visual cortical activity. However, the receptors involved are not the same. Following the pharmacological stimulation, it is mainly the muscarinic receptors that influence visual acuity with a delay in the receptors expression and this modulation is earlier for the electrical stimulation. These results demonstrate that repetitive coupling of cholinergic stimulation and visual stimulation can enhance visual cortical activity. Knowing the cholinergic receptors involved will allow in a near future to target them directly to improve cortical function.

Keywords : muscarinic receptors, nicotinic receptors, cholinergic stimulation, vision, cortical activity, acetylcholinesterase inhibitors, basal forebrain

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Table des matières.....	iii
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures.....	x
Liste des abréviations.....	xii
Remerciements.....	xv
Chapitre I: Introduction.....	1
I.1 Prologue.....	1
I.2 Le neurone.....	1
I.2.1 Morphologie du neurone.....	2
I.2.2 L'activité neuronale.....	5
I.3 Le système visuel.....	9
I.3.1 Anatomie de la rétine.....	10
I.3.2 Les voies visuelles.....	12
I.3.3 Le cortex visuel chez les mammifères.....	14
I.4 La plasticité corticale visuelle.....	18
I.4.1 Mise en évidence de la période critique visuelle.....	19
I.4.2 Importance de l'inhibition corticale.....	19
I.4.3 L'attention et l'apprentissage.....	20
I.4.4 Le déficit visuel.....	21
I.4.4 La plasticité synaptique.....	23
I.5 Le système cholinergique.....	23
I.5.1 L'acétylcholine.....	23
I.5.2 Les récepteurs cholinergiques.....	25
I.6 La modulation de la plasticité corticale visuelle par le système cholinergique.....	27
I.6.1 Le renforcement du système cholinergique.....	28

I.6.2 Modulation de la plasticité corticale visuelle par la transmission cholinergique	30
I.7 Raisonnement, hypothèses, techniques choisies et objectifs	34
I.7.1 Raisonnement	34
I.7.2 Hypothèses.....	34
I.7.3 Techniques sélectionnées	35
I.7.4 Objectifs spécifiques.....	38
Chapitre II : Premier article	41
Impaired functional organization in the visual cortex of muscarinic receptors knock-out mice	41
Contributions :	41
II.1 Abstract	42
II.2 Introduction	42
II.3 Materials and methods	44
II.3.1 Animal preparation.....	44
II.3.2 Optical imaging.....	45
II.3.3 Immunohistochemistry.....	48
II.3.4 Statistical analysis	49
II.4 Results	50
II.4.1 Visual parameters differences between strains of mice	50
II.4.2 Contribution of the muscarinic receptors to the retinotopic maps in V1	50
II.4.3 Contribution of the muscarinic receptors to the apparent visual field	51
II.4.4 Contribution of the muscarinic receptors to the spatial RF properties of V1 neurons	51
II.4.5 Contribution of the muscarinic receptors to the cholinergic innervation of V1.....	52
II.5 Discussion	53
II.5.1 Muscarinic receptors influence on the cortical representation of the visual field... ..	54
II.5.2 Muscarinic receptors influence on the neuronal connectivity of V1	55
II.5.3 Muscarinic receptors influence on the function of the V1 neurons	56
II.5.4 Muscarinic receptors influence on the development and maturation of V1	57
II.6 Conclusion.....	58

II.7 Acknowledgments	59
II.8 References	59
II.9 Figures	65
II. 10 Table.....	71
Chapitre III : Deuxième article	72
Dose-dependent effect of donepezil administration on long-term enhancement of visually evoked potentials and cholinergic receptor overexpression in rat visual cortex.	72
Contributions :	72
III.1 Abstract.....	73
III.2 Introduction.....	73
III.3 Materials and methods	75
III.3.1 Animal preparation	75
III.3.2 Donepezil treatment.....	76
III.3.3 Visual evoked potential recording procedures.....	76
III.3.4 Visual training procedure.....	77
III.3.5 Tissue sampling	77
III.3.6 Primer designing	78
III.3.7 Measurement of cholinergic receptor expression by quantitative RT-PCR	78
III.3.8 Statistical analyses	79
III.4 Results.....	79
III.4.1 Visual exposure without cholinergic enhancement does not alter the cortical responsiveness or the expression of cholinergic receptors	79
III.4.2 Combined visual exposure and 0.5 mg/kg dose of donepezil increases the cortical visual response without any cholinergic receptor expression change	80
III.4.3 Combined visual exposure and 1 mg/kg dose of donepezil induces broader VEP effect and alters both muscarinic and nicotinic receptor expression	80
III.5 Discussion.....	81
III.5.1 Dose-dependent effect of repetitive visual exposure combined with DPZ on functional activity	82

III.5.2 Repetitive visual exposure combined with 1 mg/kg DPZ induces long-term changes in cholinergic receptor expression	84
III.6 Conclusions.....	87
III.7 Acknowledgments.....	87
III.8 References.....	87
III.9 Figures.....	93
III.10 Tables.....	97
Chapitre IV : Troisième article	99
Stimulation of acetylcholine release and pharmacological potentiation of cholinergic transmission affect cholinergic receptor expression differently during visual conditioning....	99
Contributions :	99
IV.1 Abstract.....	100
IV.2 Introduction.....	100
IV.3 Experimental procedures	103
IV.3.1 Animal preparation	103
IV.3.2 Electrode implantation for HDB stimulation.....	103
IV.3.3 Visual exposure procedure	103
IV.3.4 HDB electrical stimulation	104
IV.3.5 Donepezil treatment.....	104
IV.3.6 Mesurement of cholinergic receptors expression by quantitative RT-PCR	104
IV.3.7 Statistical analysis.....	105
IV.4 Results.....	105
IV.4.1 The muscarinic receptors expression changes in the primary visual cortex according to the stimulation type and the timing.....	106
IV.4.2 The nicotinic receptor expression changes in the primary visual cortex according to the stimulation type and the timing for the the $\alpha 7$ and $\beta 4$ subunit.....	106
IV.4.3 The plasticity marker expression changes in the primary visual cortex according to the stimulation type and the timing, but not the synthetic enzyme of ACh.....	107
IV.5 Discussion.....	108

IV.5.1 The main changes are seen in the visual cortex, while other regions investigated are scarcely affected.....	108
IV.5.2 Changes of Expression in the Visual Cortex	109
IV.5.3 Comparison of the electrical and pharmacological activation of the cholinergic system	111
IV.6 Acknowledgments	113
IV.7 References.....	113
IV.8 Figures	117
IV.9 Tables.....	121
Chapitre V : Quatrième article.....	125
Distribution and effects of the muscarinic receptor subtypes in the primary visual cortex	125
Contributions :	125
V.1 Abstract	126
V.2 Introduction.....	126
V.3 Muscarinic Receptors' Organization in the Primary Visual Cortex	127
V.4 Muscarinic Influence on Visual Processing in V1	129
V.5 Muscarinic Influence on the Development and Maturation of the Visual Cortex	131
V.6 Muscarinic Influence on Visual Cognition	133
V.7 Conclusion	135
V.8 Conflict of Interest Statement	135
V.9 Acknowledgments.....	135
V.10 Abbreviations	136
V.11 References.....	136
V.12 Figures.....	143
Chapitre VI : Étude complémentaire	146
Observation longitudinale de la réorganisation du réseau cortical suite à une lésion partielle du nerf optique chez la souris GCaMP6s.....	146
VI.1 Introduction.....	146
VI.2 Objectif.....	146
VI.3 Procédures expérimentales	146

VI.3.1 Modèle animal	147
VI.3.2 Implantation de la chambre d'imagerie	147
VI.3.3 Écrasement partiel du nerf optique (ONC).....	147
VI.3.4 Imagerie calcique.....	147
VI.4 Résultats et figures.....	149
VI.4.1 Amplitude de la réponse suite à la lésion du nerf optique.....	149
VI.4.2 Latence de la réponse suite à la lésion du nerf optique	150
VI.4.3 Comparaison de la réponse des hémisphères.....	152
VI.4.4 Acuité visuelle au réflexe optomoteur.....	153
VI.4.5 Évaluation du taux de survie des cellules ganglionnaires	154
VI.5 Discussion.....	155
VI.6 Conclusion	157
Chapitre VII : Discussion générale.....	158
VII.1 L'intérêt d'étudier les récepteurs cholinergiques	160
VII.2 Comparaison des modes de stimulation cholinergique	162
VII.2 Les récepteurs cholinergiques à cibler	163
VII.3 Conclusion.....	165
Bibliographie.....	167

Liste des tableaux

Table II.1 Cholinergic fibres and varicosities density in the primary visual cortex of mAChR-KO and wild type mice	71
Table III.1 Experimental procedures	97
Table III.2 Primer list.	97
Table III.3 Significance table.	98
Table IV.1 Primer list.....	121
Table IV.2 Expression of the cholinergic receptors in the primary visual cortex V1.....	122
Table IV.3 Expression of the cholinergic receptors in the somatosensory cortex	123
Table IV.4 Expression of the cholinergic receptors in the basal forebrain.....	124

Liste des figures

Figure I.1 Morphologie du neurone.....	3
Figure I.2 Transmission synaptique et transmission volumique.....	5
Figure I.3 Spectre d'absorption de l'hémoglobine.....	8
Figure I.4 Couches de la rétine.	11
Figure I.5 Voies visuelles.	13
Figure I.6 Organisation du cortex visuel primaire.....	15
Figure I.7 Organisation des neurones corticaux visuels.	17
Figure I.8 Synthèse, libération et dégradation de l'acétylcholine.....	25
Figure I.9 Récepteurs cholinergiques.	27
Figure I.10 Projections cholinergiques centrales chez le rat.	31
Figure II.1 Topographic maps and functional organization of V1 using optical intrinsic signal imaging.	65
Figure II.2 Surface and shape of the visual cortex in mAChR-KO and wild type mice.	66
Figure II.3 Evaluation of the scatter index.	67
Figure II.4 Sensitive properties of V1 and apparent visual field.....	68
Figure II.5 Population receptive field index of mAChR-KO and wild type mice.....	69
Figure II.6 Microphotographs of cholinergic fibres and varicosities in V1 of the different mice.	70
Figure III.1 VEP amplitude before and 2 weeks after daily exposure to a 30 and 0.12 CPD sinusoidal grating with donepezil administration.	93
Figure III.2 Effect of visual training and donepezil treatment on cholinergic receptors mRNA expression.	95
Figure III.3 Effect of visual training and donepezil treatment on VEP amplitude (percentage of change) for the different treatments.....	96
Figure IV.1 Experimental groups.	117
Figure IV.2 Representation of the significant changes in the mRNA expression at 0, 1, 7, 14 days of visual stimulation combined with saline or Donepezil injection and HDB electrical stimulation in the primary visual cortex.	118
Figure IV.3 Graphical abstract.....	120

Figure V.1 M1 and M2 mAChRs intracellular mediation.	143
Figure V.2 Distribution of the mAChRs on the inhibitory and excitatory cells of the cortical microcircuitry and their associated functions.	144
Figure VI.1 Zones corticales.....	149
Figure VI.2 Amplitude de la réponse calcique corticale en fonction du temps.....	150
Figure VI.3 Latence de la réponse calcique corticale en fonction du temps	151
Figure VI.4 Amplitude de la réponse calcique dans les deux hémisphères.....	152
Figure VI.5 Acuité visuelle mesurée dans chaque œil.....	153
Figure VI.6 Microphotographies de la rétine montée à plat avec marquage RBPMS.....	154
Figure VII.1 Schéma récapitulatif de l'implication des récepteurs cholinergiques dans les propriétés visuelles corticales	159

Liste des abréviations

ACh : Acétylcholine

AChE : Acétylcholinestérase

AChEIs : Inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

BF: Télencéphale basal (basal forebrain)

ChAT : Choline acétyl-transférase

CGL : Corps genouillé latéral

DPZ : Donépézil

GABA : Acide gamma-aminobutyrique

GAD : Glutamic acid decarboxylase

FP : Potentiels de champ (field potential)

HDB : Bras horizontal de la bande diagonale de Broca

KO : Knock-out

LDT : Noyau latérodorsal du thalamus

LFP : Potentiels de champ locaux (*local field potentials*)

LTD : Dépression à long terme

LTP : Potentiation à long terme

mAChR : Récepteur muscarinique de l'acétylcholine

mRNA : Acide ribonucléique messenger

MS : Septum médial

NMDA : N-methyl-D-aspartate

nAChR : Récepteur nicotinique de l'acétylcholine

OIS : Imagerie optique des signaux intrinsèques

pRF : Population receptive field

RF : Receptive field

ROI : Région d'intérêt

qRT-PCR : Real-Time Quantitative Reverse Transcription polymerase chain reaction

VAcHT : Transporteur vésiculaire de l'acétylcholine

VDB : Bras vertical de la bande diagonale de Broca

VEP : Potentiels visuels évoqués

V1 : Cortex visuel primaire

V2 : Cortex visuel secondaire

WT : Wild-type

Si les découvertes scientifiques ont à la fois donné à l'humanité le pouvoir de créer et le pouvoir de détruire, alors elles sont en même temps un énorme défi et une grande épreuve

John Fitzgerald Kennedy

Remerciements

Eh ben on y est. Un énorme travail d'accompli mais j'ai encore du mal à réaliser que c'est terminé. C'est 5 années qu'il aura fallu pour y arriver (peut être un peu plus ?). Et au travers de ces cinq ans, beaucoup de personnes ont pensé à moi, m'ont suivie et m'ont soutenue.

Un énorme merci à Elvire qui m'a prise sous son aile pour cette thèse. Merci d'avoir été présente en tant que mentor, d'avoir accepté mes idées de projets et de m'avoir poussée à aller plus loin. Merci mille fois pour votre côté humain qui m'a aidé à traverser des moments difficiles. Merci d'avoir accepté que ma productivité soit très basse pendant cette période et de m'avoir poussée à accomplir plus quand je l'ai pu. Ça a été un vrai plaisir de faire ma thèse dans votre laboratoire. J'y ai vraiment grandi et appris à réfléchir. Merci de m'avoir fait confiance avec les stagiaires et nouveaux étudiants. C'est beaucoup de travail de réussir à tout faire en même temps mais comme vous dites : C'est ça la science !! Et si je puis me permettre de rajouter : Et oh qu'on aime ça ☺ !!!

Geneviève, sans toi ça aurait été beaucoup plus difficile. Merci d'avoir été là pour tous les instants où ça ne me tentait pas (au lab et à l'extérieur) ! Franchement, merci pour tout.

Mira, on a manqué de temps. J'espère que je t'ai finalement donné toutes les photos des congrès...Bon, après la thèse je m'en viens chez toi avec du vin (on demandera à Alex de faire la comission sushis :p) ça fait longtemps là, on a des choses à se dire! How much is too much?

Merci à Prof Majid Mohajerani qui m'a accueillie dans son lab à Lethbridge et à Mojtaba. Merci à Matthieu d'être resté présent même à distance et d'avoir accepté de faire partie d'un nouveau projet. Merci de m'avoir écrit de temps en temps pour voir comment ça allait et comment j'avançais, j'ai vraiment apprécié. Merci à Olivia pour ton support constant depuis qu'on se connaît, ça ne fait pas longtemps, mais j'ai apprécié !

BrunoO, on y est arrivés ! Faudra aller boire (beaucoup) pour fêter nos fins de thèses. Et manger des sushis. Pas le choix !

Merci aux étudiants présents et passés de chez Elvire. Soumaya, Anne-Sophie, Nam, Rahmeh. Merci pour toutes les discussions qu'on a eues, Olivier (bien que très occupé me demandait à chaque fois où il me voyait comment c'était et ou j'en étais), et les petits derniers du lab

Jacqueline, Guillaume. Merci Guillaume d'avoir pris la relève. Merci Jacqueline pour cette nouvelle amitié ! Je me ramènerai chez toi pour écouter des films et manger de la pizza ☺

Je dois absolument remercier Helwise; j'ai terminé !!! Je ne veux plus compter les années depuis qu'on se connaît parce que ça me fait me sentir vieille. Merci d'être là ! Bien qu'on ait passé une partie des dernières années à distance, tu as été capable d'être présente et de me remonter le moral. Tu m'as accueillie chez toi en vacances. Merci pour tout. Ton amitié m'est précieuse.

Merci à mon Bébé, 9 ans ma belle fille, tu le sais pas mais t'as fait un bac, deux maîtrises et un doc ! Je dirais pas que t'es le meilleur chat, mais t'es mauditement parfaite pour nous !

Alain (papa), Hélène (maman), vous êtes des piliers pour moi. Merci de m'avoir écoutée conter mes histoires et mes problèmes. Vous l'avez faite blonde mais pas bête !

Karim, merci d'avoir été et de toujours être patient avec moi. Merci de m'accompagner, de me parler de foot et de jeux vidéo, d'avoir écouté avec moi les monster, Rocky, faites entrer l'accusé et tant d'autres. Ton support m'a été précieux. Ged-Gedyah ! Je t'aime.

Finalement, à Laurence je tiens à dire : Ceci dit, il faut toujours voir le verre à moitié plein, parce que si tu as soif, voir seulement le vide des verres peut décourager un peu. Il faut aussi toujours s'assurer que son zipper est monté en sortant des salles de bains. Merci d'être (toujours) là. Ça aurait été drôlement plus difficile sans ton support, et drôlement moins drôle.

- *P.S. Laurence, je te promets que je ne parlerai plus de récepteurs cholinergiques avant un petit moment -*

Chapitre I: Introduction

I.1 Prologue

La vue est un sens déterminant sur lequel l'homme se base pour effectuer la plupart de ses actions. De la rétine au cerveau, toutes les structures doivent être intègres et fonctionnelles pour détecter adéquatement ce qui nous entoure. Cette perception visuelle, cette interprétation du monde, peut être développée si elle est entraînée de manière adéquate. Elle peut, en contrepartie, être affectée par un déficit dû à une lésion présente à quelque niveau de la voie rétino-cérébrale.

Le cerveau est plastique. Il se développe, mûrit, et apprend. Il se reconstruit jusqu'à une certaine mesure. Cette plasticité, qui modifie la relation et la force des connexions neuronales, entraîne entre autres, des modifications comportementales, cognitives et structurelles. Ainsi, l'étude de la modulation des connexions au niveau du système visuel a une place importante pour la compréhension du traitement de l'information visuelle, le raffinement de la perception visuelle et sa restauration. Cela est d'autant plus important que la vision est le sens dominant de la perception chez l'homme, et plus de la moitié du cortex serait dédiée au traitement de l'information visuelle (Felleman & Van Essen 1991). La perception visuelle est aussi un regard conscient qui est porté par l'œil, dans laquelle l'attention visuelle intervient lorsqu'une volonté est exercée pour regarder un objet particulier ou une scène en faisant abstraction des distracteurs.

L'implication de la plasticité corticale dans ces phénomènes visuels permet au cerveau de consolider l'information observée. Or, pour y parvenir, un réseau complexe de cellules, les neurones, est nécessaire afin d'acheminer l'information de l'œil jusqu'au cortex cérébral. Ces cellules forment l'unité de base de la vision.

I.2 Le neurone

La capacité de voir, de sentir, d'entendre, de détecter un danger, de traiter consciemment l'information perçue et de réagir volontairement ou involontairement à une situation dépend de

la connectivité qu'ont, entre elles, les cellules du système nerveux. Les neurones en sont l'unité de base. Ils reçoivent une information, l'intègrent et la communiquent sous forme de signaux électriques et chimiques. Les signaux électriques, les potentiels d'action, sont transmis le long des prolongements axonaux qui permettent le transport du signal sur de longues distances et libèrent les signaux chimiques, les neurotransmetteurs, chargés de la transmission de l'information d'un neurone à l'autre.

I.2.1 Morphologie du neurone

Les neurones sont composés d'un corps cellulaire, de dendrites, d'un axone et de boutons axonaux (Fig. 1). Le corps cellulaire contient le noyau et est le lieu de synthèse protéique. C'est aussi au niveau du corps cellulaire que se fait l'intégration du signal nerveux et la transmission ou la suppression de celui-ci vers la prochaine cellule. Les dendrites sont des prolongements cytoplasmiques spécialisés dans la réception des signaux provenant d'autres neurones. Dans le système nerveux central, les branches dendritiques sont très longues et ramifiées, possédant de nombreuses épines, ce qui augmente la surface de réception. Finalement, l'axone et ses collatérales se spécialisent dans le transport du potentiel d'action vers les boutons terminaux, le lieu de stockage et libération des messagers chimiques. Des varicosités peuvent être retrouvées le long de l'axone; il s'agit d'un petit renflement présentant une forte densité de vésicules remplies de messagers chimiques, permettant une libération *en passant* du neurotransmetteur.

Les neurones sont organisés en circuits. Ils communiquent au niveau de la synapse, structure spécialisée entre deux neurones à forte densité en neurotransmetteurs, récepteurs et enzymes de dégradation des neurotransmetteurs, ou encore au niveau des varicosités par libération et diffusion volumique des neurotransmetteurs. Le signal passe de la cellule pré-synaptique (qui envoie le signal) à la cellule post-synaptique (qui reçoit le signal). La grande majorité des neurones du cerveau utilisent comme neurotransmetteurs le glutamate, qui est le neurotransmetteur excitateur principal dans le cerveau, ou l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), le neurotransmetteur inhibiteur principal. Il existe au travers de ce circuit d'excitation et d'inhibition des systèmes neuromodulateurs. Entre autres, l'acétylcholine (ACh) est impliquée dans la mémoire et l'apprentissage, la dopamine l'est dans le circuit de la récompense,

la norépinéphrine dans la vigilance et la sérotonine dans la régulation du cycle circadien et des émotions. Ce sont des neuromodulateurs qui sont libérés par des fibres dont le corps cellulaire est situé dans des noyaux sous-corticaux et qui ont comme fonction de moduler l'activité des systèmes principaux.

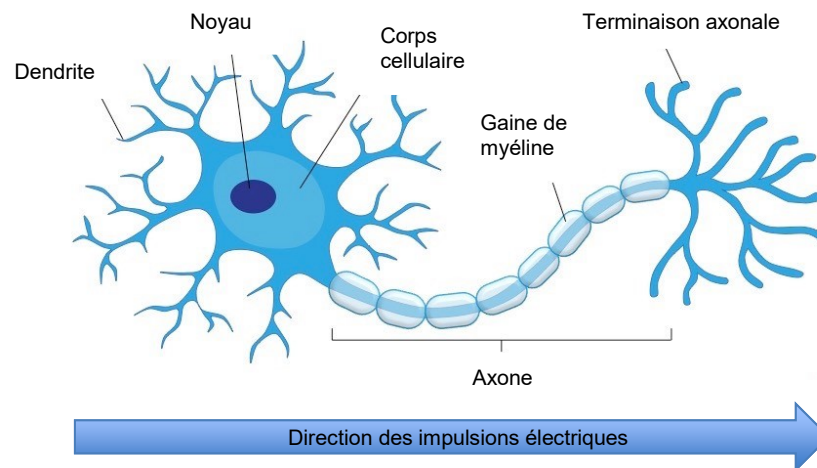


Figure I.1 Morphologie du neurone.

Le neurone est composé du corps cellulaire qui contient un noyau, de dendrites et d'un axone. L'axone transmet le potentiel d'action, généré à son émergence du corps cellulaire. Les terminaisons axonales et les boutons terminaux libèrent les messagers chimiques. Les dendrites étendent la surface de réceptivité du neurone. Le signal neuronal est unidirectionnel se dirigeant des dendrites aux terminaisons axonales. La gaine de myéline, parfois présente autour de l'axone permet une conduction électrique plus rapide.

(Adapté du site

<http://ib.bioninja.com.au/standard-level/topic-6-human-physiology/65-neurons-and-synapses/neurons.html>)

À l'état de repos du neurone, un déséquilibre ionique existe entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule, et la fonction d'excitabilité des neurones en est dépendante. Ce déséquilibre ionique génère la présence d'un potentiel électrique de part et d'autre de la membrane cellulaire. Lors de l'excitation neuronale, ce potentiel s'inverse et un potentiel d'action, séparé en trois phases, est généré au niveau de l'axone. La première phase est une entrée d'ion sodium (Na^+) qui induit une dépolarisation membranaire. En réponse à cette entrée de sodium, une sortie d'ion potassium (K^+) a lieu pour induire la repolarisation de la membrane. Finalement, une

hyperpolarisation est créée le temps que les canaux K^+ voltage dépendants se ferment et que les ions se rééquilibrent de part et d'autre de la membrane grâce aux pompes ATPase, nécessitant de l'énergie (Hille 2010). L'émission et la fréquence des potentiels d'action, qui se propagent le long de l'axone jusqu'au neurone suivant, codent le message nerveux.

Il existe plusieurs moyens de classifier les neurones mais une façon commune et simple est de les grouper selon leur action post-synaptique. Les neurones excitateurs (comme les neurones glutamatergiques) permettent une entrée d'ions positifs (Na^+ , Ca^{2+}), qui dépolarisent la cellule post-synaptique. Les neurones inhibiteurs (comme les neurones GABAergiques) permettent l'entrée d'ions négatifs (Cl^-), qui hyperpolarisent la cellule post-synaptique. Dans le cortex, les neurones pyramidaux, de type excitateur, ont de longues ramifications axonales permettant le transfert des signaux sur de longues distances, au sein de la même région ou d'une région corticale à une autre. En revanche, les interneurons inhibiteurs ont des ramifications plutôt courtes et traitent localement l'information (Rockland & Lund 1982).

Les terminaisons axonales contiennent des vésicules remplies de neurotransmetteurs. L'arrivée d'un potentiel d'action engendre une augmentation intracellulaire de Ca^{2+} provenant de l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants, des récepteurs ionotropiques du glutamate et des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) (revue par Grienberger & Konnerth 2012) présents à la membrane plasmique près de la terminaison dendritique. À l'intérieur de la cellule, le calcium présent dans les réserves du réticulum endoplasmique est libéré dans le cytosol par l'activation des récepteurs de l'inositol triphosphate (Berridge 1998). Ce faisant, le neurotransmetteur est libéré par la fusion des vésicules à la membrane dans la fente synaptique (l'espace entre les cellules) ou encore à proximité d'un autre neurone via les boutons synaptiques, par diffusion volumique (Fig. 2). Le neurotransmetteur ainsi libéré atteint la cellule post-synaptique et se lie spécifiquement aux récepteurs, protéines présentes à sa membrane plasmique, changeant subséquemment sa perméabilité ionique (Lodish et al 2000). À la liaison du ligand, le comportement de la protéine réceptrice est affecté, permettant le mouvement des ions de part et d'autre de la membrane. Il existe deux grandes classes de récepteurs membranaires, les récepteurs ionotropes (des canaux ioniques) et les récepteurs métabotropes (couplés à des protéines G ou à une enzyme).

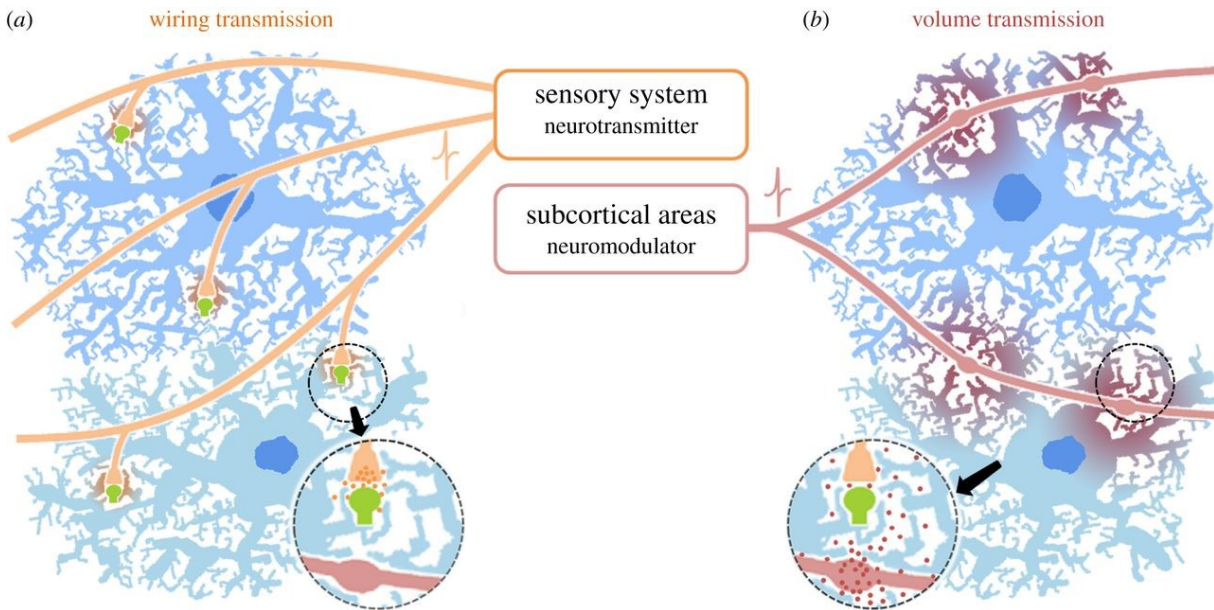


Figure I.2 Transmission synaptique et transmission volumique.

(a) La transmission synaptique. Ce type de transmission utilisant des neurotransmetteurs cible des synapses spécifiques et produit des réponses localisées. On retrouve ce type de transmission dans les systèmes sensoriels.
 (b) La transmission volumique. Dans ce type de transmission, les neurotransmetteurs (ou neuromodulateurs) sont diffusés par les varicosités pour atteindre la cellule post-synaptique. C'est le mode de transmission principal du système cholinergique cortical. Les deux types de neurotransmission peuvent se produire en même temps.

(Adapté de Hirase et al 2014)

I.2.2 L'activité neuronale

Plusieurs techniques existent pour mesurer l'activité neuronale corticale. Elles se basent sur le fait que l'activation d'un neurone cortical entraîne, lorsque la somme des afférences excitatrices est assez importante, une dépolarisation membranaire du neurone post-synaptique (via le potentiel d'action). Pour combler ses besoins énergétiques nécessaires aux équilibres ioniques et à la transmission nerveuse, une augmentation de l'apport sanguin transportant oxygène et glucose est nécessaire. La mesure de la variation du débit sanguin ou des mouvements ioniques permet d'évaluer l'activité neuronale.

Parmi les techniques de neuroimagerie, certaines nécessitent entre autre l'injection d'un produit radioactif dans la circulation sanguine du sujet, comme la tomographie par émission

monophotonique et la tomographie par émission de positons. D'autres mesurent l'activité cérébrale indirectement par l'évaluation du signal hémodynamique telle l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle. Il existe aussi certaines techniques qui mesurent les champs électriques émis par les ensembles de neurones comme l'électroencéphalographie et les potentiels *event-related* et la magnétoencéphalographie. Toutefois, ces méthodes présentent certaines limitations en termes de résolution spatiale mais aussi de résolution temporelle. De plus, leur coût et l'équipement nécessaire à leur utilisation ne prédisposent pas ces techniques à un emploi fréquent dans les études animales.

La prochaine section souligne les avantages et inconvénients des différentes procédures de test utilisées dans le cadre de cette thèse afin de répondre au mieux aux impératifs de résolution spatiale et temporelle des objectifs de la thèse.

I.2.2.1 Mesure des perturbations du champ électrique

En présence d'un stimulus externe, plusieurs neurones répondent de pair. Le courant ionique s'opère, où les ions passent de l'extérieur à l'intérieur de la membrane plasmique du neurone. La perturbation des charges modifie le potentiel local. Un retour à l'électroneutralité s'effectue rapidement et le surplus de charges positives intracellulaires retourne dans le milieu extracellulaire, générant aussi un courant. L'insertion dans le cortex d'une électrode de faible impédance permet l'évaluation de ces potentiels de champ locaux (*local field potentials*, LFP) qui reflètent la perturbation du champ électrique.

Contrairement à l'enregistrement uni-cellulaire qui requiert de multiples insertions d'électrodes dans les cellules pour obtenir l'information de plusieurs potentiels électriques, le signal LFP peut être enregistré à l'extérieur des cellules et intègre l'information de plusieurs événements synchronisés. En effet, cette synchronicité temporelle permet d'atteindre un degré d'oscillation observé dans le traitement sensoriel en relation avec l'attention et la plasticité corticale. En absence de synchronicité, la réponse LFP risque de ne pas être perçue. De plus, la mesure du signal est moins affectée par la position de l'électrode que l'enregistrement uni-cellulaire puisque l'activité observée intègre les réponses neuronales synchronisées sur une grande distance variant de 0.5 mm à 3 mm (Juergens et al 1999, Katzner et al 2009).

I.2.2.2 Mesure indirecte de l'activité neuronale

L'activation d'une population neuronale entraîne une consommation locale accrue d'oxygène par ces neurones. Afin de s'y ajuster, une augmentation du volume et du débit sanguin est nécessaire, amenant oxygène et glucose aux cellules activées – c'est à dire les cellules consommant de l'oxygène et répondant positivement à la stimulation visuelle. L'oxygène étant transporté par l'hémoglobine (oxyhémoglobine) et étant libéré à la zone activée (desoxyhémoglobine), il est possible de mesurer à la zone active une modification du ratio oxy-/désoxy- hémoglobine.

Dans le tissu cérébral, l'hémoglobine est une molécule absorbant la lumière dans les spectres visible et infrarouge (Fig. 3). À l'illumination du cortex, la lumière réfléchi et mesurée dépend de l'état d'oxygénation de l'hémoglobine. En effet, le spectre d'absorption de l'hémoglobine diffère selon qu'elle soit dans un état oxygéné ou désoxygéné (Ferrari et al 2004, Hillman 2007). Ainsi, par l'utilisation d'une longueur d'onde où la différence entre les états de l'hémoglobine est détectable, en général autour de 610 nm, il est possible d'observer les changements d'absorbance relatifs à l'activation neuronale. À cette longueur d'onde, le signal représente principalement les variations de concentration d'hémoglobine réduite (sans oxygène) (Vanzetta & Grinvald 2008). Or, à l'utilisation d'une longueur d'onde isobestique (qui est absorbée également par les 2 formes d'hémoglobine), le signal ne fournit pas d'indication sur la variation d'oxygénation car son absorption est la même pour les deux états (Frostig et al 1990, Vanzetta et al 2005).

La réponse hémodynamique est composée de deux phases, soit d'une augmentation de la concentration en desoxy-hémoglobine, suivie d'une augmentation de l'oxy-hémoglobine. La première phase correspond à une consommation d'oxygène dans la région activée. Cette première portion semble localisée avec l'activité neuronale plutôt que constituer une réponse vasculaire. La deuxième phase, elle, représente une augmentation du volume et du débit sanguin, en réponse à la consommation d'oxygène (Vanzetta & Grinvald 2008). Ainsi, la consommation d'oxygène par les neurones activés peut être mesurée avant la réponse hémodynamique. L'imagerie optique des signaux intrinsèques est l'exemple d'une technique qui se base sur la réponse hémodynamique permettant d'évaluer l'activité neuronale corticale (Grinvald et al 1986a, Grinvald et al 1986b, Ts'o et al 1990, Vanzetta & Grinvald 1999).

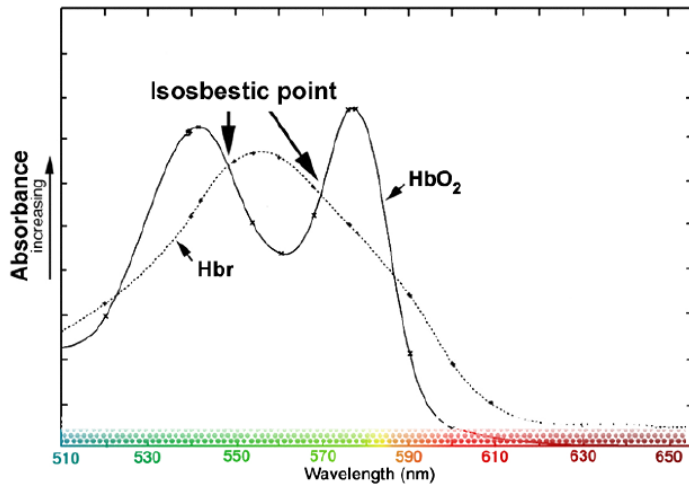


Figure I.3 Spectre d'absorption de l'hémoglobine.

Spectre d'absorption de l'hémoglobine oxygénée (HbO₂) et réduite (Hbr). Les flèches représentent quelques longueurs d'onde isobestiques.

(Adapté de Sheth et al 2011)

I.2.2.3 Mesure de l'activité intracellulaire

Il est difficile d'étudier en temps réel le réseau neuronal cortical et son activité, principalement parce que les techniques couramment utilisées ont de faibles résolutions temporelles (par exemple les techniques utilisant le couplage hémodynamique telles l'imagerie fonctionnelle par résonance magnétique ou l'imagerie optique des signaux intrinsèques). Bien que l'approche électrophysiologique par enregistrement extracellulaire puisse être utilisée pour y pallier, elle ne permet pas l'étude de très larges portions corticales. Dans ce cas, les techniques d'imagerie utilisant des colorants sensibles au voltage ou des marqueurs calciques peuvent être employées (Stosiek et al 2003).

L'utilisation des colorants sensibles au voltage est une méthode utilisée depuis plusieurs années qui permet l'analyse en temps réel du réseau neuronal sur une large portion de cortex (Orbach et al 1985). Les colorants se lient à la surface externe des membranes cellulaires (cellules neuronales et non neuronales) sans affecter leur fonction, puis transforment les variations du potentiel de membrane obtenues lors des mouvements ioniques en signal optique (revue par Chemla & Chavane 2010). C'est la différence de potentiel électrique de part et d'autre de la membrane plasmique qui génère un champ électrique. Lorsque cette différence de potentiel varie, le champ électrique altéré affecte les propriétés de fluorescence du colorant. Les

changements dans le potentiel de la membrane sont linéairement liés à la fluorescence mesurée (Ferezou et al 2009).

Cette technique a d'ailleurs été utilisée pour mettre en évidence les cartes d'orientation dans le cortex visuel (Bonhoeffer & Grinvald 1991). Cette méthode a pour défaut majeur son invasivité : le cortex doit être exposé après craniotomie, puis les colorants doivent être infusés durant au moins une heure (Mohajerani et al 2013). Depuis peu, des souris génétiquement modifiées possédant l'indicateur de voltage sont disponibles. Elles permettent de contrer les problèmes dus à la craniotomie (risque d'infection, d'œdème, hémorragie) et de procéder à l'acquisition de données de façon non-invasive durant de longues périodes et lors de multiples séances (Carandini et al 2015). Néanmoins, les indicateurs de voltage ont des spectres optiques qui chevauchent le spectre d'absorption de l'hémoglobine, rendant l'interprétation des signaux enregistrés délicate (Hillman 2007).

Depuis quelques années, il est possible d'éviter ce problème par l'utilisation de souris transgéniques. Elles permettent de voir l'activité neuronale corticale de manière directe en possédant un indicateur calcique présent au niveau des neurones excitateurs. Chez les mammifères, le calcium est un messager intracellulaire essentiel. Il intervient dans la fonction du neurone notamment au niveau de la libération des neurotransmetteurs. Les pompes calciques transportent le calcium, ce qui fait varier sa concentration intracellulaire. La technique d'imagerie calcique se base sur ces flux intracellulaires de calcium lors de la transmission de l'influx nerveux afin de visualiser sa signalisation en fonction de l'activité neuronale (Vanni & Murphy 2014). Lors d'un stimulus, ici visuel, un potentiel d'action dans le neurone se déclenche et induit un influx de calcium dans le cytoplasme. Ce faisant, le Ca^{2+} se lie à des indicateurs calciques (agents chélateurs) qui subissent un changement conformationnel, ce qui résulte en l'augmentation de la fluorescence. Cette technique est non-invasive et permet d'évaluer l'activité corticale en temps réel sur de larges portions de cortex et ce, chez l'animal qui est éveillé et de manière répétitive si désiré.

I.3 Le système visuel

Les neurones sont l'unité de base de la vision et forment des réseaux tout le long de la voie visuelle, de la rétine de l'œil au cortex visuel. Le point d'origine de la voie rétino-corticale

est la rétine dans laquelle les photons de la lumière directe ou réfléctée par l'environnement excitent les photorécepteurs. Le signal des photorécepteurs est transmis ensuite aux cellules ganglionnaires, qui forment le point de sortie de la rétine. Les axones des cellules ganglionnaires forment le nerf optique, permettant le transfert de l'influx nerveux au cerveau. Ils font synapse au niveau du corps genouillé latéral avant d'atteindre le cortex visuel. Alternativement, certains axones rejoignent le colliculus supérieur, voie impliquée dans les mouvements oculaires. Bien que l'organisation des voies de la vision diffère d'une espèce animale à l'autre, la voie rétino-corticale est bien définie.

Peu importe le système sensoriel étudié, pour qu'un neurone soit activé, le stimulus doit être présenté dans son champ récepteur. En vision, le champ récepteur d'une cellule représente un espace défini du champ visuel. Lorsqu'un stimulus y est présenté, la cellule visuelle est activée. L'étude des cartes visuelles corticales a permis de démontrer que chaque cellule corticale visuelle possède un champ récepteur qui lui est propre.

Le modèle animal qui a été choisi dans les expériences constituant cette thèse est le rongeur (rat et souris). De nombreuses caractéristiques visuelles présentes au niveau des neurones du primate ou du félin se retrouvent chez le rongeur et seront discutées. Ainsi, ce modèle est fréquemment utilisé pour l'étude du système visuel grâce, entre autres, à la possibilité d'utiliser des souris génétiquement modifiées telles que les souris '*knock out*' ou encore des souris transgéniques possédant des indicateurs cérébraux permettant d'observer l'activité neuronale corticale. Ces souris permettent d'identifier différents acteurs moléculaires et cellulaires qui participent aux fonctions visuelles.

I.3.1 Anatomie de la rétine

La rétine est la seule partie du système nerveux central située à l'extérieur du cerveau. Il s'agit d'un tissu neurosensoriel considéré comme étant l'organe initial de la vision. La rétine tapisse la face interne du globe oculaire et est composée de neurones, entre autres les photorécepteurs qui sont des cellules hautement spécialisées répondant à la lumière, et de cellules gliales.

C'est au niveau de la rétine que les photons sont encodés en influx neuronal. La lumière s'y doit de traverser plusieurs couches cellulaires. Une fois que les photorécepteurs captent le signal lumineux, celui-ci est dirigé vers les cellules ganglionnaires qui projettent le signal aux cibles sous-corticales (Fig. 4). Deux types de photorécepteurs sont retrouvés dans la rétine : les cônes, sensibles à la longueur d'onde de la lumière (ce qui permet la vision des couleurs) et les bâtonnets, sensibles à son intensité. Contrairement aux primates et autres mammifères, les photorécepteurs du rongeur sont essentiellement des bâtonnets. Les cônes, très peu denses chez le rongeur, sont sensibles à la lumière ultraviolette (Jacobs et al 1991). Chez la plupart des mammifères, la fovéa, une région dense en cônes, permet une bonne résolution optique. Toutefois, les rongeurs ne possèdent pas cette région qui permet la vision des détails.

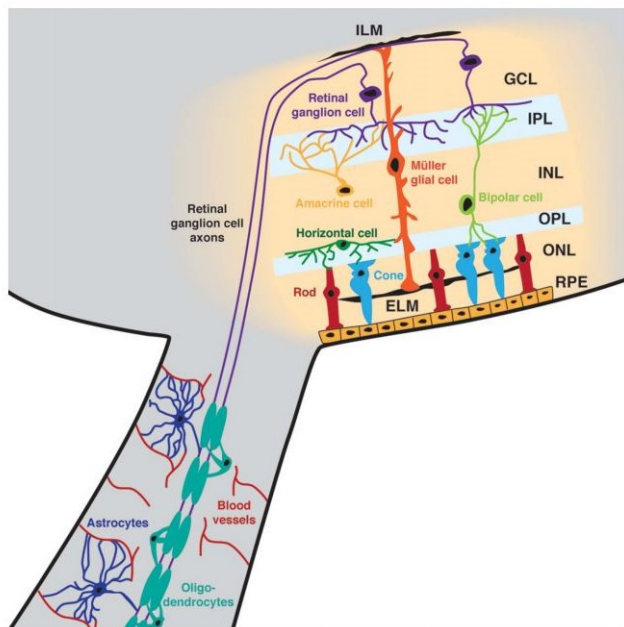


Figure I.4 Couches de la rétine.

Le traitement de l'information visuelle débute au niveau des cônes (cone) et bâtonnets (rod) présents dans la couche nucléaire externe (ONL). Le signal est acheminé aux cellules dans la couche nucléaire interne (INL). L'information lumineuse traduite en message chimique atteint les cellules ganglionnaires. La rétine est aussi composée de cellules gliales. Les axones des cellules ganglionnaires forment le nerf optique qui est myélinisé par les oligodendrocytes. Des astrocytes et des vaisseaux sanguins communiquent avec les axones des cellules ganglionnaires. GCL, couche de cellules ganglionnaires; IPL, couche plexiforme interne; OPL, couche plexiforme externe; RPE, épithélium pigmentaire rétinien; ILM, membrane limitante interne; ELM, membrane limitante externe.

(Adapté de Moore & Goldberg 2010)

Ce sont les axones des cellules ganglionnaires qui convergent au niveau de la papille et forment le nerf optique. À l'endroit où le nerf optique sort du globe oculaire, le faisceau devient myélinisé. Chez le rongeur, les fibres en provenance des deux yeux se croisent au chiasma

optique à 95%, suivent le tractus optique puis se terminent au niveau des cibles sous-corticales (Kolb et al 2001).

I.3.2 Les voies visuelles

Il existe deux cibles sous-corticales principales de la rétine chez le mammifère soit le corps genouillé latéral, situé dans le thalamus, et le colliculus supérieur, situé dans le mésencéphale (Fig. 5).

La voie géniculostriée fait référence au corps genouillé latéral (CGL) et à la projection de ses cellules au cortex visuel primaire. Il s'agit d'une structure thalamique de bas niveau qui projette à la couche IV du cortex visuel primaire (voir prochaine section : 1.3.3 Le cortex visuel) faisant partie de la voie visuelle consciente (Chalupa & Williams 2008, Hattar et al 2006, Hofbauer & Drager 1985, Markram et al 2004). Chez le primate, le CGL est séparé en plusieurs couches (Kaas & Balaram 2014) et il s'agit de la voie privilégiée des cellules ganglionnaires où environ 80% l'atteignent. Chez le rongeur, le CGL est divisé en deux sections : une portion ventrale et une dorsale, la région dorsale du CGL étant celle qui reçoit les projections rétinienne (Reese 1988).

Le colliculus supérieur fait partie d'une voie extrastriée. Il est impliqué dans le contrôle des mouvements des yeux et de la tête et il projette au noyau thalamique latéral postérieur (revue par Leinonen & Tanila 2017). Chez le primate, il contrôle les comportements visuomoteurs et fait relais au pulvinar. Finalement, tant le noyau latéral postérieur que le pulvinar, structures thalamiques, projettent au cortex visuel extrastrié.

L'information visuelle est traitée au niveau des aires associatives et les informations multisensorielles y sont représentées. Cette intégration multisensorielle peut être modulée par l'attention lors du traitement du stimulus. L'attention visuelle, tel qu'il le sera décrit plus tard, permet de compenser l'inaptitude du cerveau à traiter d'un seul coup toute l'information

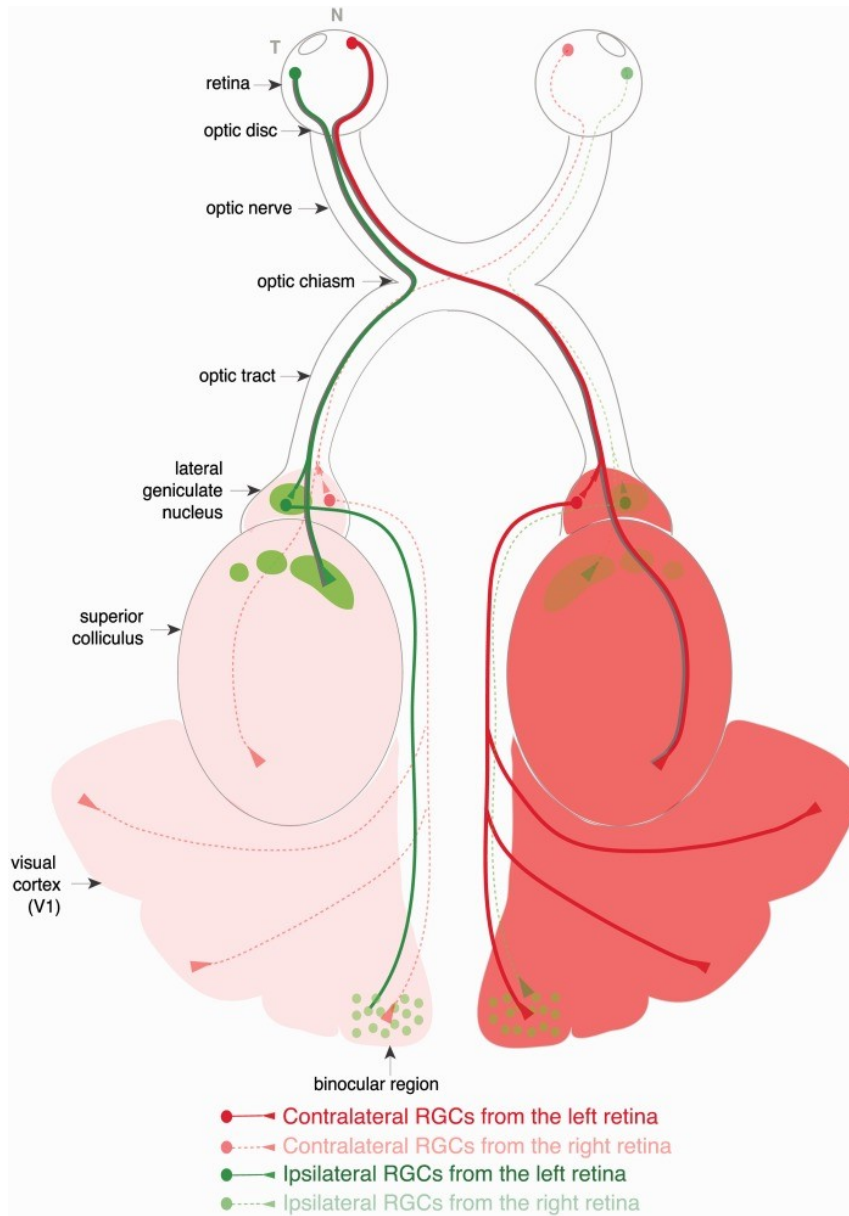


Figure I.5 Voies visuelles.

Représentation de la voie visuelle du rongeur. Les axones des cellules ganglionnaires de la rétine sortent au niveau du disque optique pour former le nerf optique. Au niveau du chiasma optique les nerfs se croisent (à 95% environ) et suivent le tractus optique vers le colliculus supérieur et dans le thalamus au niveau du corps genouillé latéral. Les projections ipsilatérales et contralatérales y restent ségréguées. Les neurones projettent ensuite du thalamus au cortex visuel primaire. Chez la souris, ce cortex est principalement monoculaire mais une petite région binoculaire existe et reçoit les projections des corps genouillés latéraux des deux hémisphères.

(Adapté de Erskine & Herrera 2014)

visuelle présente (Desimone 1998, Treue 2001). Les mécanismes du traitement ascendant (bottom-up) de l'information permettent de capter l'attention lorsqu'un stimulus saillant est présenté lors d'événements multi sensoriels. Un traitement descendant (top-down) de l'information, permet plutôt de faciliter l'intégration des inputs multi sensoriels, facilitant la diffusion attentionnelle dans les modalités sensorielles.

I.3.3 Le cortex visuel chez les mammifères

Les voies visuelles se mettent en place durant le développement embryonnaire. Durant les premiers jours suivant la naissance, les yeux des rongeurs sont encore fermés mais il existe un phénomène d'ondes rétinienne qui établit le patron de la connexion thalamocorticale (Cang et al 2005b). Il s'agit de décharges de courte durée entrecoupées de longues périodes dites silencieuses. Puisque les cellules ganglionnaires de la rétine ne déchargent pas en même temps dans les deux yeux, il y a production d'un patron d'activité de l'œil gauche vs l'œil droit qui se retrouve dans le CGL puis subséquemment dans le cortex visuel. C'est ce qui produit chez certaines espèces les colonnes de dominance oculaire. Puis, c'est durant une période hautement plastique appelée la période critique que les propriétés fonctionnelles et structurales du cortex visuel s'acquièrent (Sherman & Spear 1982, Sur & Leamey 2001). Durant cette période, une expérience visuelle est nécessaire afin d'ajuster et de raffiner la circuiterie neuronale (Hensch 2005b, Katz & Shatz 1996).

Le cortex visuel primaire (V1) est commun à tous les mammifères. Il est divisé en aires monoculaire et binoculaire. Le chat, qui a les yeux très frontaux, a une très large région binoculaire (environ 90 deg sur un champ visuel d'environ 180 deg) (Chalupa & Williams 2008) comparativement au rongeur dont les yeux très latéraux favorisent un grand champ visuel caractérisé par une grande région monoculaire (la région binoculaire représente environ 30-40 deg (Drager 1978) sur un champ visuel d'environ 220 deg (Wagor et al 1980). Le cortex visuel primaire est entouré d'une région visuelle secondaire (V2) qui comprend diverses petites aires. Chez la souris, il existe d'ailleurs une quinzaine de régions qui entourent V1 de nature visuelle, somatosensorielle, motrice ou limbique (Wang & Burkhalter 2007).

Le cortex visuel est stratifié, divisé en six couches caractérisées par type et densité cellulaire (Fig. 6). La majeure partie des projections montantes du thalamus au cortex, nommées en anglais *feedforward*, atteint la couche IV densément constituée de cellules étoilées épineuses (Fig. 6). Ces cellules sont des interneurons excitateurs glutamatergiques retrouvés dans la couche IV des aires sensorielles primaires (revue par Markram et al 2004). C'est à partir de cette couche granulaire que débute la communication intra-corticale. Ses neurones projettent verticalement aux couches infra et supra granulaires (revue par Van Hooser 2007). Les cellules des couches supra-granulaires II/III projettent aux neurones pyramidaux de la couche VI. Quant aux couches infra-granulaires V et VI, elles renvoient des projections descendantes (*feedback* en anglais) au colliculus supérieur et au CGL) (Burkhalter 1989, Van Hooser 2007). Les cellules sont reliées aussi entre elles via des connexions horizontales qui permettent aux différentes régions corticales de communiquer (connexions cortico-corticales). De telles connexions sont nombreuses et sont de nature *feedback* (vers une aire inférieure), *feedforward* (vers une aire supérieure) ou latérales.

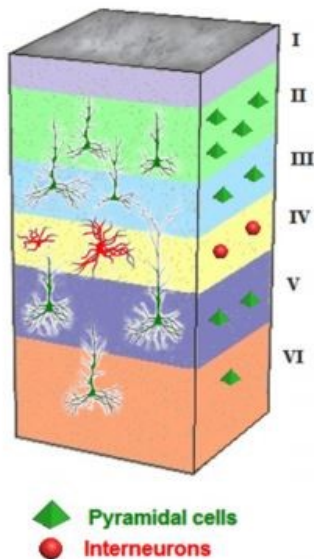


Figure I.6 Organisation du cortex visuel primaire.

Le cortex visuel est divisé en 6 couches. La couche IV reçoit les projections thalamiques et est constituée de cellules stellaires, de petits interneurons possédant des dendrites disposés tout le tour du corps cellulaire. Les couches supragranulaires (II et III) et infragranulaires (V et VI) sont quant à elles constituées de cellules pyramidales. Elles ont des dendrites plutôt courtes près de leurs corps cellulaires tandis que la branche apicale possède de longues dendrites.

(Adapté de Bachatene et al 2012)

Au niveau cortical, les différentes régions du champ visuel sont représentées de manière bidimensionnelle (Drager 1975, Hubel & Wiesel 1962). Chez tous les mammifères, il est possible d'y observer des cartes topographiques (aussi nommées visuotopiques ou rétinitopiques) grâce à l'organisation ordonnée des neurones qui reproduit celle du champ visuel.

Selon l'espèce étudiée, l'architecture fonctionnelle visuelle diffère. Chez le carnivore et le primate, les neurones corticaux visuels sont distribués en fonction des propriétés de leurs champs récepteurs. Par exemple, il est possible d'y observer des colonnes de dominance oculaire ou d'orientation où les neurones répondant préférentiellement à un œil ou orientation sont ségrégués. Par contre, les propriétés des cellules en tant que telles sont retrouvées d'une espèce à l'autre. Par exemple, qu'il y ait absence ou présence de colonnes d'orientation, les cellules corticales visuelles possèdent une préférence pour l'orientation du stimulus visuel. De la même manière, qu'il y ait absence ou présence de colonnes de dominance oculaire, les neurones vont répondre préférentiellement (ou sélectivement) à un œil ou à l'autre.

I.3.3.1 Différences selon l'espèce étudiée

Selon l'espèce, les neurones possédant une spécificité pour le type de stimulus présenté peuvent être regroupés. En général, ils le sont selon leur préférence à l'orientation (Grinvald et al 1986a, Hubel et al 1976). Chez le rongeur, la distribution des neurones corticaux est plutôt organisée de manière aléatoire dans une disposition de type poivre-et-sel (Bonin et al 2011, Drager 1975, Girman et al 1999, Niell & Stryker 2010) (Fig. 7). Chez le rat et la souris, il n'y a pas de colonnes d'orientation (Girman et al 1999) ou encore de colonnes de dominance oculaire, patrons d'organisation structurelle qui sont en relation (Obermayer & Blasdel 1993). Toutefois, l'absence d'organisation en domaine de sélectivité n'empêche en rien la sélectivité neuronale et la vision de haute acuité. Chez la souris, qui ne possède pas de tels modules d'organisation en domaine de sélectivité, des cellules sélectives à l'orientation sont présentes dans le cortex visuel (Drager 1975, Metin et al 1988, Niell & Stryker 2008, Ohki et al 2005, Ohki & Reid 2007).

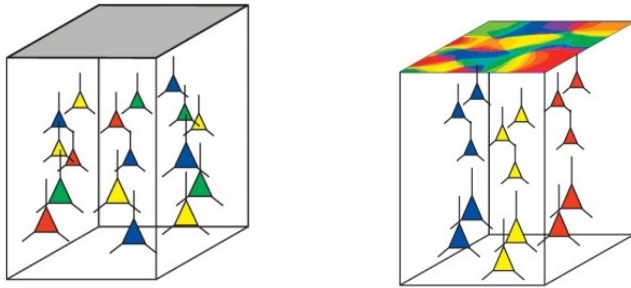


Figure I.7 Organisation des neurones corticaux visuels.

À gauche, organisation aléatoire des neurones sélectifs à l'orientation telle que retrouvée chez le rongeur. À droite, les neurones possédant les mêmes caractéristiques de réponse à l'orientation s'organisent en colonnes.

(Adapté de Kaschube 2014)

Au moment de l'ouverture des yeux, chez le mammifère, le cortex visuel est immature, c'est-à-dire que bien que l'organisation architecturale du cortex (en couches et colonnes) soit présente, la connectivité corticale doit encore être améliorée. Toutefois, certaines caractéristiques des neurones sont comparables à celles de l'animal adulte. Par exemple, les propriétés des champs récepteurs visuels ou encore le patron des colonnes de dominance oculaire (DO) chez le chaton nouveau-né ressemblent à ceux de l'animal adulte (Horton & Hocking 1996). Ces colonnes de DO se forment *in utero* (Rakic 1976) et leur développement s'effectue rapidement par ségrégation des projections thalamocorticales dans la couche IV (LeVay et al 1980). Il existe une certaine plasticité du patron des colonnes de DO durant la maturation corticale et l'expérience visuelle. Ainsi, bien que la périodicité des colonnes de DO reste inchangée, la force des connexions latérales est modulée par l'expérience visuelle.

Les champs récepteurs qui se retrouvent à proximité dans le champ visuel correspondent à des neurones qui sont proches dans le cortex. La logique est que les neurones excités directement par les signaux lumineux qui sont proches dans la rétine projettent vers des cellules adjacentes dans le CGL projection organisée reproduite au niveau de la couche IV du cortex visuel. Cette connectivité précise de la rétine au cerveau produit une organisation rétinotopique de ces

structures, où chaque région du champ visuel est couverte par les champs récepteurs de neurones adjacents. C'est du moins le cas chez le rongeur. Évidemment, lorsqu'il est question de modèles tels le chat ou le singe qui ont des yeux très frontaux, il y a présence de colonnes de dominance oculaire avec une alternance au niveau cortical de cellules qui répondent soit à l'œil droit, soit à l'œil gauche.

I.4 La plasticité corticale visuelle

Le cerveau s'adapte, apprend, se réorganise. Il est façonné par l'expérience et tente de compenser les lésions (revue par Liu & Behrmann 2017). La plasticité est la capacité du système nerveux à modifier ses connexions, sa structure ou sa fonction en réponse à des stimuli externes et internes. Les mécanismes de plasticité changent la force des connexions synaptiques entre les cellules. Au niveau structurel, ils modifient la connectivité thalamo-corticale, cortico-corticale ou cortico-subcorticale. Au niveau fonctionnel, les mécanismes de plasticité mènent à des modifications comportementales (revue par Liu & Behrmann 2017).

La plasticité est un potentiel d'adaptation qui entre en jeu lors du phénomène de mémoire mais aussi pour récupérer les fonctions suite à un déficit. Le moment le plus plastique dans une vie est la période critique, une fenêtre temporelle restreinte de neuroplasticité. Il faut tout de même rester prudent et considérer que le cerveau est à la fois plastique et stable. Il existe en effet un équilibre entre la plasticité et la stabilité corticale. Chez l'adulte, c'est la stabilité qui domine. Selon ce qui est étudié (par exemple le type de lésion) et la technique utilisée, certains observent de la plasticité corticale tandis que d'autres ne la relève pas. Cela pourrait provenir de l'interprétation de ce qu'est à la base la plasticité corticale et des limites des techniques utilisées. La plasticité n'est pas toujours corroborée par des modifications comportementales et l'adaptation à court terme peut aussi entrer en ligne de compte. Par exemple, il est encore débattu de l'habileté du cortex visuel primaire de se réorganiser suite à une lésion rétinienne. C'est pourquoi les études tentent, entre autre, d'activer la réorganisation par l'inhibition de molécules de stabilité. Ainsi, de plus en plus, il devient intéressant et important de combiner diverses techniques pour évaluer le phénomène.

Les mécanismes de stabilisation de la voie visuelle mis en place après le développement existent pour prévenir la perturbation de la fonction visuelle comme l'identification d'objets ou la perception du mouvement. Il devient donc intéressant de se pencher sur la nature et les mécanismes de plasticité induits par exemple par des déficits spécifiques.

I.4.1 Mise en évidence de la période critique visuelle

C'est au cours des années 1960 que la plasticité du cortex visuel (études chez le chat) est mise en évidence. Lors d'une obstruction visuelle, produite par la suture des paupières d'un œil, un déplacement de la réponse corticale visuelle en faveur de l'œil demeuré intact est induit. Cette déprivation monoculaire entraîne une diminution de l'activité corticale provenant de l'œil suturé découlant d'une absence d'excitation synaptique. C'est la potentialisation des connexions corticales vers les cellules répondant à l'œil non-altéré qui induit une augmentation de l'activité corticale répondant à cet œil (Bear 2003).

Le développement des connexions du système visuel implique fortement l'expérience visuelle et les études de dominance oculaire ont été faites tant chez l'adulte que chez le jeune animal. Il en ressort que si la privation est arrêtée tôt dans le développement, la récupération des capacités visuelles est bonne. Cependant, si elle débute chez le jeune et est arrêtée lorsque l'animal est adulte, la récupération est très limitée et se répercute au niveau cortical par des altérations de la sensibilité au contraste et de l'acuité visuelle (Domenici et al 1991, Prusky et al 2000). La vision binoculaire en devient altérée puisque les neurones corticaux visuels deviennent dominés par l'œil non-privé diminuant ainsi la proportion de neurones binoculaires.

La période critique visuelle est décrite par Hubel et Wiesel (1963) suite à leurs études sur la dominance oculaire. Ils la décrivent comme étant une période de temps restreinte où la fermeture d'un œil est en mesure d'altérer la structure des colonnes de dominance oculaire.

I.4.2 Importance de l'inhibition corticale

Il est reconnu que l'enfant a une capacité plastique d'apprentissage et de mémoire très importante, beaucoup plus que l'adulte (Bourne 2010). Hors, la neuroplasticité est présente du

début à la fin de la vie (revue par Pascual-Leone et al 2005). Dans le cortex visuel, il existe une fenêtre temporelle de plasticité où les modifications chez l'enfant ont lieu principalement ; la période critique visuelle. Dans le cortex juvénile, l'inhibition intracorticale mature en même temps que la période critique progresse (Harauzov et al 2010). Le système GABAergique serait en effet nécessaire à l'initiation de la période critique. Chez la souris qui ne possède pas la GAD65 (l'acide glutamique décarboxylase, une enzyme de synthèse du GABA), l'initiation de la période critique est retardée jusqu'à ce que l'animal soit traité avec un agoniste GABAergique (Fagiolini & Hensch 2000, Hensch et al 1998). Dans la même logique, il a été démontré que la maturation rapide du système GABAergique par l'application de BDNF (*brain derived neurotrophic factor*) menait à une ouverture prématurée de la période critique (Gianfranceschi et al 2003, Hanover et al 1999). Chez l'animal qui a été placé au noir dès sa naissance, la circuiterie neuronale est altérée et les systèmes GABAergiques et glutamatergiques sont affectés (Desai et al 2002, Morales et al 2002). Ces animaux présentent une faible acuité visuelle, une sélectivité à la direction altérée (Benevento et al 1992, Fagiolini et al 1994) et possèdent de grands champs récepteurs (Fagiolini et al 1994).

Chez l'adulte, bien qu'un haut potentiel de neuroplasticité soit présent, les mécanismes intracorticaux inhibiteurs sont prédominants (Fregnac & Schulz 1988). Pour induire la plasticité chez l'adulte, il faut que la balance entre les systèmes excitateurs et inhibiteurs soit compromise (Hensch 2005a). La réouverture de la période critique induisant la dominance oculaire ou la restauration de la vision suite à la déprivation visuelle peut justement survenir suite à la réduction de l'inhibition GABAergique (Baroncelli et al 2010, Harauzov et al 2010). Ainsi, plusieurs études se penchent maintenant sur l'élimination de ces freins de la plasticité afin de rendre le cerveau plus propice à cette plasticité (Bavelier et al 2010, Morishita et al 2010).

1.4.3 L'attention et l'apprentissage

Au cours d'une vie, le cerveau s'adapte et avec l'âge, les mécanismes d'apprentissage, qui dépendent de la plasticité neuronale, doivent être plus travaillés. L'attention apportée à un stimulus précis et la répétition de la présentation du stimulus permettent le raffinement de la réponse.

Le cerveau est en mesure de sélectionner l'information visuelle tout en inhibant des informations inutiles. Cette fonction d'attention visuelle permet de compenser l'inaptitude du cerveau à traiter d'un seul coup toute l'information visuelle présente (Desimone 1998, Treue 2001). Lors d'une tâche attentionnelle, la réponse à un stimulus induit une augmentation du taux de décharge neuronal (Reynolds & Chelazzi 2004). Il s'agit d'un moyen pour améliorer le traitement de l'information visuelle en permettant la diminution du rapport signal/bruit tout en raffinant la connectivité neuronale (Briggs et al 2013).

L'attention est à la base de l'apprentissage. En portant une attention momentanée, il est possible de se concentrer sur un stimulus précis dans un ensemble de stimuli sensoriels. Le cerveau peut ainsi être entraîné à améliorer sa réponse à ce stimulus. Ainsi, un entraînement répétitif à un stimulus précis est en mesure de modifier les cartes corticales. Le résultat proviendrait du contrôle des connexions horizontales (Gilbert & Li 2013) et d'un raffinement des connectivités corticales. Il est ainsi possible d'imaginer que la plasticité neuronale serait une réponse à l'attention ponctuelle. Lorsque celle-ci est entraînée, la consolidation de l'information s'effectue et il apparaît une plasticité suite à l'apprentissage. En portant attention à un stimulus en particulier, cet apprentissage perceptuel permet d'améliorer les capacités visuelles spécifiques à ce stimulus.

I.4.4 Le déficit visuel

Chez l'adulte, en condition normale, la structure et la circuiterie neuronale sont stables (Grutzendler et al 2002, Trachtenberg et al 2002). Or, des lésions peuvent induire des déficits fonctionnels et surviennent partout sur la voie rétino-corticale. Les causes de déficience visuelle sont variées et dépendent de l'endroit atteint ; au niveau de la rétine (par exemple les maladies oculaires, dégénérescence maculaire liée à l'âge, rétinopathie), au niveau du nerf optique (neuropathie ischémique ou traumatique, glaucome), au niveau du chiasma optique (adénome pituitaire) et finalement au niveau des cibles sous-corticales et du cortex visuel (accident vasculaire cérébral, traumatisme, tumeur, infection).

Suite à un déficit de la voie visuelle, le cortex tente toutefois de contrer les effets de la lésion en se réorganisant. Évidemment, plus une lésion est circonscrite, meilleur en sera le résultat de la

plasticité. De plus, une lésion qui serait lente à survenir, par exemple en présence d'une tumeur, permettrait un plus grand degré de plasticité qu'une lésion brusque tel que l'accident vasculaire cérébral (Liu & Behrmann 2017).

Une approche extrêmement importante pour comprendre la plasticité dépendante de l'expérience chez l'adulte est la lésion rétinienne localisée. Une réorganisation de la carte corticale apparaît après une lésion partielle de la rétine (Darian-Smith & Gilbert 1994, Darian-Smith & Gilbert 1995) tandis que la plasticité est faible suite à une lésion corticale bilatérale (Liu & Behrmann 2017, Young & Ellis 1989). La réorganisation de la carte visuelle corticale a été démontrée en imagerie par résonance magnétique fonctionnelle chez le patient atteint de dégénérescence maculaire liée à l'âge (Baker et al 2005) et suite à un accident vasculaire cérébral (Dilks et al 2007). Cette réorganisation corticale serait directement liée au réarrangement des connexions horizontales corticales entre les cellules pyramidales (Das & Gilbert 1995, Gilbert & Wiesel 1992, Rockland & Lund 1982).

Chez l'animal adulte qui a subi une lésion rétinienne, il est possible d'observer au niveau cortical visuel une région appelée la "*lesion projection zone*". Les neurones présents dans cette région de V1 qui ne reçoit plus l'input de la rétine répondent plus lentement et leur réponse est supprimée par la réponse des cellules hors de la *lesion projection zone* (Palagina et al 2009). À la suite de la lésion rétinienne, le '*turnover*' des épines dendritiques corticales s'accélère (Keck et al 2011) et il est possible d'observer le fait que tant les cellules excitatrices qu'inhibitrices (Keck et al 2011, Marik et al 2014) modifient leurs branches et leurs synapses, créant de nouvelles connexions en rétractant des anciennes (Yamahachi et al 2009). Cette plasticité cérébrale permet ainsi de redévelopper une certaine connectivité menant à une récupération partielle spontanée de la capacité visuelle (Foerster & Holmes 1999, Prilloff et al 2010, Sabel 1999).

Une autre façon d'étudier la récupération des capacités visuelles est d'infliger une lésion partielle du nerf optique. Il s'agit d'un modèle utilisé chez le rongeur pour obtenir un déficit visuel diffus qui permet d'observer les dommages neuronaux et la plasticité post-traumatique (Dieterich et al 2002, Kreutz et al 1998, Prilloff et al 2010, Sautter & Sabel 1993). Normalement, la récupération partielle de l'activité visuelle (de l'ordre de 20%) survient dans les trois semaines

suivant la lésion et a été évaluée par des études comportementales (Hanke & Sabel 2002, Rousseau & Sabel 2001, Sautter et al 1991).

I.4.4 La plasticité synaptique

Durant le développement, il est observé une élimination des synapses qui ne sont pas utiles. Cette plasticité synaptique a été expliquée par le postulat de Hebb qui détermine le sort d'une synapse selon les changements des connexions des neurones pré et post-synaptique en fonction de leur activité respective (Fregnac & Schulz 1988). Il s'agit de changements qui perdurent dans le temps et maintenant, outre les modifications qui ont lieu durant le développement, les phénomènes de potentialisation et de dépression à long terme viennent corroborer le postulat. Ces formes de plasticité sont impliquées dans la mémoire et l'apprentissage et sont régulées par le système cholinergique (Brocher et al 1992).

I.5 Le système cholinergique

En 1914, Henry Hallett Dale mettait en évidence l'existence d'un nouveau neurotransmetteur, l'acétylcholine (ACh), qui simulait les fonctions du système nerveux parasympathique (Fishman 1972). Otto Loewi, en 1921, le confirmait avec ses études sur le nerf vague et la régulation des battements du cœur si bien que le nom qu'il avait attribué à l'acétylcholine à cette époque était la substance vagale (*vagusstoff*) (Kandel & Squire 2000). Puis, en 1929, Henry Dale démontrait la présence de l'acétylcholine en tant que substance naturelle du corps. En 1936, Dale et Loewi se sont vus décerner le prix Nobel en *physiologie ou médecine* pour ces découvertes.

I.5.1 L'acétylcholine

Dans le cortex, la majorité des neurones fait partie du système exciteur, le système glutamatergique, ou du système inhibiteur, le système GABAergique. Toutefois, il existe aussi une forte innervation par des fibres nerveuses provenant de noyaux sous-corticaux et contenant d'autres neuromédiateurs. Il s'agit des neuromodulateurs du système nerveux central, c'est-à-

dire des neurotransmetteurs pouvant moduler l'activité des systèmes principaux excitateurs ou inhibiteurs. Aujourd'hui, il est connu que l'ACh, le neuromodulateur du système cholinergique, est largement impliqué dans les processus de plasticité neuronale (Krnjevic 2004), d'attention, de mémoire et d'apprentissage.

La choline acétyl-transférase (ChAT) synthétise l'acétylcholine cytosolique à partir de la choline et de l'acétyl-coenzyme A (Fig. 8). Le transporteur vésiculaire de l'ACh (VChT) permet de l'emmagasiner dans les vésicules synaptiques ce qui rend l'ACh prête à être relâchée. Suite à l'activation pré-synaptique des cellules cholinergiques, la vésicule fusionne avec la membrane, ce qui libère l'ACh. C'est au niveau de la fente synaptique que l'ACh est rapidement dégradée et la choline est recapturée dans la cellule pré-synaptique (Rand 2007).

L'acétylcholine qui est libérée dans V1 provient du télencéphale basal, un noyau cholinergique. Toutefois, les fibres cholinergiques se retrouvent dans toutes les couches corticales (Avendano et al 1996, Lysakowski et al 1989, Mechawar et al 2000) et l'ACh y est diffusée par transmission volumique (Descarries et al 1997). De plus, chez le rongeur, les neurones cholinergiques sont présents en grande densité dans les couches II et III et sont seulement absents au niveau de la couche I (Mechawar et al 2000). Il s'agit d'une différence majeure comparativement au primate qui ne possède pas de corps cellulaires cholinergiques à même le cortex, bien que cette information soit controversée. Dans ce cas, l'innervation cholinergique origine exclusivement du télencéphale basal (revue par Coppola & Disney 2018).

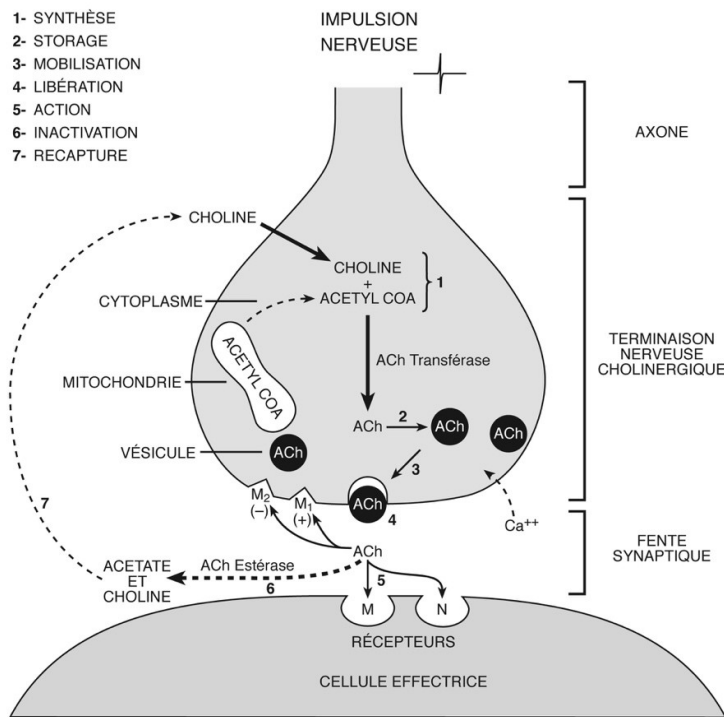


Figure I.8 Synthèse, libération et dégradation de l'acétylcholine.

La synthèse de l'acétylcholine débute dans le cytoplasme de la terminaison nerveuse (1) par la choline et l'acétyl coA via l'action de l'ACh transférase. L'ACh est emmagasinée dans les vésicules (2) puis libérée dans la fente synaptique par la fusion de la vésicule à la membrane plasmique (3-4). Dans la fente synaptique l'ACh se lie à ses récepteurs (5), est dégradée par l'ACh estérase (6) puis recapturée par la terminaison pré-synaptique (7).

(Adapté de Couture et al 2015)

I.5.2 Les récepteurs cholinergiques

L'ACh agit par sa liaison à deux types de récepteurs, soient les récepteurs nicotiniques et muscariniques. Ces récepteurs se retrouvent à la fois au niveau des cellules neuronales et non-neuronales présentes dans les systèmes nerveux centraux et périphériques.

Les nAChRs sont constitués d'un assemblage de sous-unités disposées en pentamères, généralement deux sous-unités α et trois sous-unités β . Toutefois, parce qu'il existe neuf sous-unités α ($\alpha 2$ à $\alpha 10$) et trois sous-unités β ($\beta 2$ à $\beta 4$), la quantité de combinaisons existante donne naissance à 1728 récepteurs possibles (Steinlein 1998) qui ont des sélectivités et sensibilités propres aux agonistes et antagonistes les rendant perméables à différents cations (Changeux et al 1998). Ce sont des récepteurs retrouvés dans les systèmes nerveux centraux et périphériques (Dani 2001, Wonnacott 1997) où ils modulent la libération d'autres transmetteurs comme le glutamate (Radcliffe & Dani 1998) et le GABA (Alkondon et al 2000). En périphérie, les nAChRs sont principalement perméables aux ions Na^+ tandis que dans le système nerveux central ils le sont grandement au Ca^{2+} . Au niveau cortical, les plus présents sont les récepteurs

$\alpha 7$ et $\alpha 4\beta 2$ (revue par McGehee & Role 1995, Nordman & Kabbani 2012) (voir Fig. 9) et ils y sont répartis dans les couches corticales (Aztiria et al 2004). Le récepteur $\alpha 7$ a été démontré comme étant impliqué dans les tâches d'attention (Hoyle et al 2006). En effet, les récepteurs nicotiques, à l'injection de nicotine, améliorent l'attention tant chez les humains que chez les rongeurs (Levin et al 1998, Mirza & Stolerman 1998). Le récepteur $\alpha 7$ est aussi impliqué dans la formation des synapses glutamatergiques (Lozada et al 2012).

Les récepteurs métabotropiques muscariniques (mAChRs) appartiennent à la superfamille des récepteurs couplés aux protéines G. Ils avaient jadis été séparés selon leur affinité à la pirenzepine selon qu'elle soit forte (M1) ou faible/intermédiaire (M2) (Hammer et al 1980). Cinq gènes de ces récepteurs muscariniques ont ensuite été caractérisés (m1 à m5) puis les propriétés des protéines explorées. Souvent regroupés, les récepteurs M1, M3 et M5 sont généralement présents en position post-synaptique. Couplés à la famille G $\alpha q/11$, ils mènent à la fermeture des canaux K^+ par la voie inositol phosphate (Nathanson 2000). Les récepteurs M2 et M4 sont, eux, essentiellement pré-synaptiques. Ils inhibent la protéine G_i via l'adénylate cyclase (Egan & North 1986). Les premiers sont donc de nature excitatrice tandis que les seconds sont inhibiteurs en plus de faire office d'autorécepteurs, produisant un *feedback* négatif de la libération d'ACh (Douglas et al 2001, Lucas-Meunier et al 2003b) (Fig. 9). Le mAChR retrouvé principalement au niveau du cortex est de type M1 et est distribué dans toutes les couches corticales. Ce récepteur a été démontré comme ayant une grande influence sur la sensibilité neuronale. Le récepteur M2 est aussi largement exprimé dans le cortex bien que moins abondant (Levey et al 1991b). Il est retrouvé chez le rongeur au niveau des cellules GABAergiques et a donc le rôle de moduler l'inhibition intracorticale. C'est un autorécepteur inhibiteur de la libération d'ACh (Mrzljak et al 1993). De plus, les récepteurs M1 et M2 semblent impliqués dans le développement du cortex visuel (Kuczewski et al 2005a, Kuczewski et al 2005b)

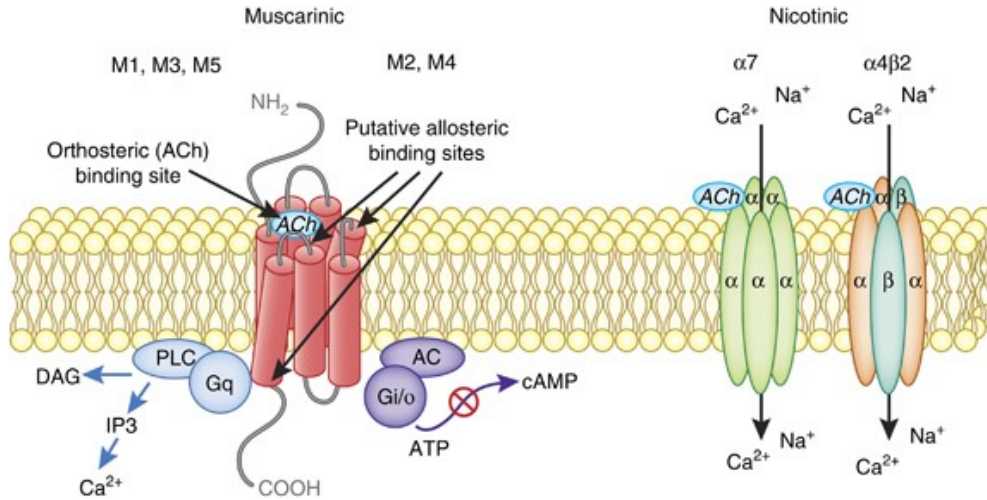


Figure I.9 Récepteurs cholinergiques.

Les fonctions du système cholinergique sont médiées par deux classes majeures de récepteurs, les récepteurs muscariniques et les récepteurs nicotiniques. **Gauche.** Les récepteurs muscariniques (M1 à M5) sont métabotropes. Les récepteurs M1, M3 et M5 sont principalement situés au niveau des terminaisons postsynaptiques et mènent à l'augmentation des niveaux intracellulaires de calcium. Les récepteurs M2 et M4 sont plutôt pré-synaptiques et réduisent la concentration intracellulaire d'AMPc, ce qui prolonge l'ouverture des canaux potassiques. **Droite.** Les récepteurs nicotiniques sont ionotropes (il en existe plusieurs formes dépendamment de la combinaison des sous unités du récepteur). Ils sont composés de 7 sous-unités, et selon leur agencement vont avoir une sélectivité différente aux ions. Au niveau du système nerveux central, ils le sont principalement aux ions Ca^{2+} .

(Adapté de Jones et al 2012)

I.6 La modulation de la plasticité corticale visuelle par le système cholinergique

Des études antérieures ont démontré que le système cholinergique central régule l'activité et la plasticité du cortex cérébral en modifiant les propriétés des cellules corticales, en particulier leur réponse à long terme aux stimuli sensoriels. Par exemple, lors de la présentation visuelle d'un réseau sinusoïdal précis, la libération corticale d'acétylcholine (ACh) est augmentée spécifiquement dans le cortex visuel (Laplante et al 2005).

L'ACh module donc l'excitabilité corticale visuelle (revue par Sarter & Bruno 1997). Entre autres, l'ACh influence les réponses à l'orientation et à la direction des cellules visuelles corticales (Murphy & Sillito 1987). Il semble d'ailleurs que les effets amplificateurs de l'ACh

proviendraient de son effet sur les circuits neuronaux impliquant les cellules GABAergiques (revue par Sarter & Bruno 1997). Son implication dans l'activité corticale a aussi bien été montrée par des lésions du télencéphale basal, qui diminuent la réceptivité des cellules aux stimuli visuels que par l'application d'ACh qui la restaure (Sato et al 1987).

Dans le cortex visuel, l'ACh a un rôle de facilitation de la réponse neuronale tout en supprimant les réponses moins fortes provenant du stimulus. Grâce à cette capacité, le système cholinergique contribue à l'attention, la mémoire, l'apprentissage et l'amélioration de la performance comportementale. Il a été démontré que lors du couplage d'une stimulation visuelle et d'une stimulation cholinergique, la performance visuelle est améliorée d'une part par des mécanismes d'attention et d'autre part par une plasticité du cortex visuel primaire.

1.6.1 Le renforcement du système cholinergique

Plusieurs études ont démontré qu'afin de réguler l'activité et la plasticité corticale, il est possible de stimuler le système cholinergique. Tant l'utilisation d'acétylcholinomimétiques que la stimulation électrique du télencéphale basal, que l'utilisation d'agonistes des récepteurs cholinergiques ou encore que l'utilisation d'inhibiteurs de la dégradation de l'ACh peut être employée. Dans la présente thèse, deux modes de stimulation cholinergique ont été sélectionnés et utilisés soit l'inhibition de la dégradation de l'ACh et la stimulation de sa libération.

1.6.1.1 Inhibition de la dégradation de l'ACh

L'utilisation d'inhibiteurs de la dégradation de l'acétylcholine est employée pour traiter les symptômes cognitifs de la maladie d'Alzheimer. Cette maladie affecte les neurones cholinergiques qui dégèrent à mesure que la maladie progresse. Leur perte est même constatée avant l'apparition des symptômes cliniques (Beach et al 1997, Beach et al 2000).

Il existe une gamme d'acétylcholinestérases (AChEIs) ayant comme mode d'action d'empêcher la dégradation de l'ACh dans la fente synaptique, y prolongeant ainsi sa présence. Le facteur limitant de l'action de l'ACh est en effet sa dégradation immédiate par les AChE dans la fente synaptique. Les AChEIs, par leur inhibition de l'acétylcholinestérase, améliorent la possibilité

d'action de l'ACh sur la cellule post synaptique. Les AChEI diffèrent par leurs demi-vies, doses, spécificités et effets secondaires. Dans les études décrites dans cette thèse, le chlorhydrate de donépézil (ou simplement donépézil, DPZ) a été sélectionné. Il s'agit de l'AChEI prescrit le plus couramment pour le traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer (Rogers & Friedhoff 1998a, Rogers & Friedhoff 1998b).

Le DPZ est un AChEI de choix dans les études car il est réversible, possède une longue demi-vie et est spécifique à l'AChE (Sugimoto et al 2000). Chez le rongeur sain, le DPZ améliore la performance cognitive (Cutuli et al 2008) et son utilisation à une faible dose chez l'animal dont le système cholinergique est lésé au niveau du septum médian améliore la mémoire spatiale et réduit le déficit d'apprentissage (Ogura et al 2000).

Le DPZ peut induire divers effets secondaires tels l'hypertension, la nausée, la perte de poids et la déshydratation. C'est pourquoi il convient de monitorer adéquatement l'humain ou l'animal qui se verra administrer le médicament.

1.6.1.2 Stimulation de la libération d'ACh

En électrophysiologie, l'utilisation d'un enchainement de stimulations électriques permet d'induire des phénomènes de plasticité synaptique impliqués dans les mécanismes de stockage de l'information. Une stimulation électrique de haute fréquence permet d'induire la potentialisation à long-terme (LTP), qui correspond à une amélioration de la connectivité de longue durée. À l'inverse, la dépression à long-terme (LTD) est induite par une stimulation électrique à basse fréquence et présente une dépression des potentiels post-synaptiques excitateurs. Ces phénomènes de plasticité synaptique, LTP et LTD, induisent mémoire et apprentissage, et sont entre autres sous contrôle cholinergique.

Il existe six voies de l'innervation cholinergique dont quatre provenant du télencéphale basal (Ch1-Ch4). Les voies Ch1 (origine du noyau septal médial), Ch2 (section latérale verticale du noyau de la bande diagonal de Broca) et Ch3 (portion horizontale du noyau de la bande diagonale de Broca) projettent à l'hippocampe. Les voies Ch2 et Ch3 projettent également au cortex occipital et au bulbe olfactif. La voie Ch4 (noyau basal de Meynert) se rend au niveau du cortex cérébral et de l'amygdale et les voies Ch5 (noyau pedunculo pontin) et Ch6 (noyau

tegmental latérodorsal) au thalamus, à la substance noire et au colliculus supérieur (Lucas-Meunier et al 2003b, Mesulam et al 1983b).

L'insertion d'une électrode dans les noyaux cholinergiques est donc en mesure d'induire la libération d'ACh dans différentes régions corticales sous un régime de stimulation à haute fréquence. En stimulant directement la région horizontale de la bande diagonale de Broca (HDB), l'ACh est libérée dans le cortex visuel (Fig. 10) (Gaykema et al 1990, Laplante et al 2005, Mesulam et al 1983b). Le télencéphale basal n'est toutefois pas uniquement composé de corps cellulaires cholinergiques. Il y est aussi retrouvé des cellules GABAergiques et glutamatergiques. Ainsi, la stimulation doit être optimisée pour stimuler préférentiellement les neurones cholinergiques (Kang et al 2014a, Vaucher et al 1997).

I.6.2 Modulation de la plasticité corticale visuelle par la transmission cholinergique

L'ACh est connue comme possédant un rôle de facilitation de la réponse visuelle. Toutefois, le système cholinergique exerce une action différente chez le jeune et chez l'adulte. Par exemple, lors du développement cortical, la facilitation produite par l'ACh est absente (Kuczewski et al 2006) tandis qu'elle augmente avec la maturation. Au niveau du cortex visuel adulte, l'efficacité synaptique est modulée en fonction de la concentration d'ACh (Kuczewski et al 2005a). Il convient donc de différencier les effets que produit l'ACh selon que le cortex visuel soit mature ou immature.

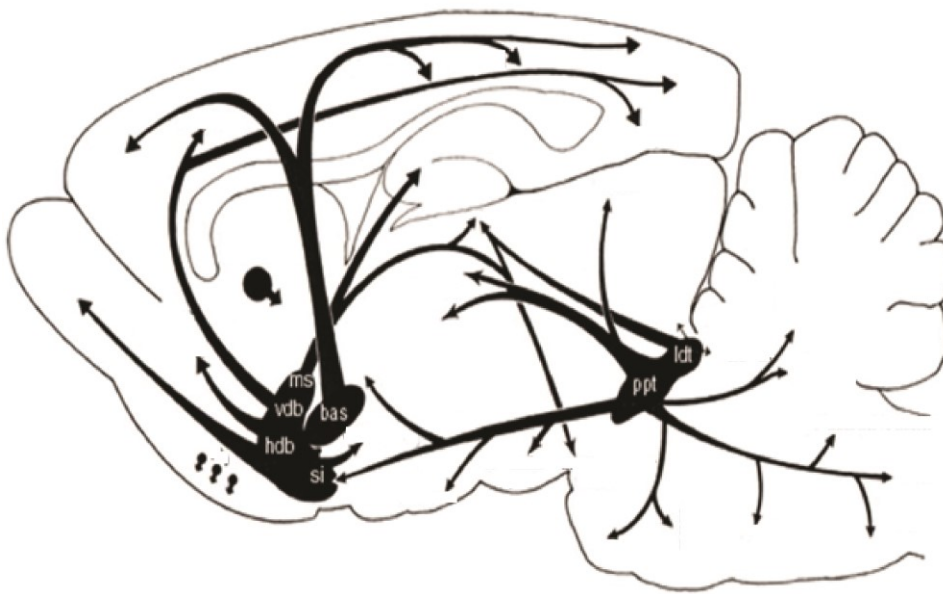


Figure I.10 Projections cholinergiques centrales chez le rat.

Plusieurs noyaux cholinergiques existent et innervent l'ensemble du cerveau. Toutefois, c'est la portion horizontale de la bande diagonale de Broca (HDB) ainsi que la substantia innominata (SI) qui innervent principalement le cortex occipital (Gaykema et al 1990, Laplante et al 2005, Zaborszky et al 1999). MS, septum médial ; VDB, portion verticale de la bande diagonale de Broca ; BAS, noyau basalis ; PPT, noyau pédonculopontin ; LDT, noyau latérodorsal

(Adapté de Woolf 1991)

I.6.2.1 Le cerveau en développement

Le système cholinergique est connu comme étant impliqué dans le développement du cerveau et se met en place lors de la période critique (Consonni et al 2009). Son origine au niveau du cortex visuel est le télencéphale basal (Gaykema et al 1990, Luiten et al 1987, Mesulam et al 1983a) et sa fonction est de moduler les circuits neuronaux (Goard & Dan 2009, von Engelhardt et al 2007) en facilitant la réponse visuelle sensorielle. Dans le cortex en développement, le système cholinergique régule à la fois la structure et la fonction des circuits neuronaux (Gu 2002, Siciliano et al 1997) tout en facilitant la plasticité neuronale (Bear & Singer 1986, Gu & Singer 1993).

Chez l'embryon, tant les récepteurs cholinergiques que la ChAT sont retrouvés dans le système nerveux (Dori & Parnavelas 1989, Zoli et al 1995). L'ACh influence la croissance des neurites et la formation des filopodes et lamellipodes, c'est-à-dire le cône de croissance cellulaire (Kozma et al 1997, Rosner & Fischer 1996).

L'action du système cholinergique varie selon sa concentration. Chez le jeune animal de 13 jours, de faibles concentrations d'ACh ne produisent pas de facilitation tandis qu'une forte concentration d'ACh (micromolaire) diminue les *field potentiels* (Kuczewski et al 2006). C'est l'inverse de ce qui est retrouvé chez l'animal adulte (Kuczewski et al 2005a). Une altération de l'excitation induite par l'ACh produira une stabilisation de la circuiterie synaptique (Hanganu & Luhmann 2004).

La période pendant laquelle le système cholinergique se structure est particulièrement importante. Un décalage de cette phase changera tant la structure que la connectivité corticale menant à des altérations comportementales (revue par Hohmann 2003). L'exposition du fœtus, de l'enfant et de l'adolescent à des drogues interagissant avec l'ACh et ses récepteurs peut grandement affecter les performances attentionnelles étant donné que le système cholinergique est reconnu comme étant impliqué dans la réorganisation des connexions corticales (Aztiria et al 2004).

Dans le cortex visuel en développement, en présence d'une occlusion monoculaire lors de la période critique, il est possible d'observer un transfert de dominance oculaire. Toutefois, l'infusion d'antagonistes muscariniques au niveau du cortex visuel, bloquant la transmission cholinergique, supprime le changement de dominance normalement observé (Gu & Singer 1993). Une destruction unilatérale de l'innervation cholinergique altère temporairement la dominance oculaire mais laisse en parallèle intacte certaines propriétés cellulaires telles la sélectivité à l'orientation ou la taille des champs récepteurs (Siciliano et al 1997).

I.6.2.2 Le cerveau adulte

Le cortex visuel étant composé à la fois de neurones excitateurs et inhibiteurs, l'ACh y joue un rôle complexe. Chez l'adulte, il faut que l'état stable entre l'inhibition et l'excitation corticale soit altéré pour induire de la plasticité (Hensch & Fagiolini 2005). Lynx1 est un

inhibiteur endogène des récepteurs nicotiniques, principalement $\alpha 7$ et $\alpha 4\beta 2$ (Ibanez-Tallon et al 2002) et sa présence chez l'adulte limite la plasticité fonctionnelle (Morishita et al 2010). L'enlever augmente le '*turnover*' dendritique chez l'adulte (Sadahiro et al 2016) et induit de la plasticité structurale.

L'efficacité synaptique corticale répond à l'ACh selon sa concentration. Une faible concentration induit une augmentation des *field potentials* tandis qu'une forte concentration les diminue (Kuczewski et al 2005a). L'application d'ACh dans V1 améliore la sélectivité à l'orientation et à la direction (Sato et al 1987, Sillito & Kemp 1983) et une activation des récepteurs nicotiniques améliore la sensibilité au contraste (Disney et al 2007). De plus, l'activation des récepteurs nicotiniques par l'ACh améliore l'efficacité des projections *feedforward* géniculocorticales (Vidal & Changeux 1993, Wonnacott 1997).

Lors d'un test de discrimination visuelle chez la souris, l'injection sous-cutanée de scopolamine, un antagoniste des récepteurs muscariniques de l'ACh, induit un déficit de cette performance d'une manière dose-dépendante. L'injection de nicotine, un agoniste des récepteurs nicotiniques, entraîne une amélioration de la performance à la tâche (Dillon et al 2009). En plus d'être modulée directement par les récepteurs cholinergiques, l'activité neuronale peut également l'être par des drogues affectant l'ACh. Chez l'animal adulte qui a subi une lésion du nerf optique partielle bilatérale, la discrimination au contraste est fortement affectée. Or, tout récemment, l'administration chez ces animaux de donépézil, un inhibiteur de l'AChE, a démontré améliorer cette capacité de discrimination (Chamoun et al 2017b).

Tant les récepteurs muscariniques que les récepteurs nicotiniques présentent une expression préférentielle au niveau des couches cellulaires et des types cellulaires qui les expriment (revue par Obermayer et al 2017). Par exemple, l'augmentation de l'inhibition GABAergique par les récepteurs muscariniques et nicotiniques dans les couches superficielles peut inhiber le déclenchement du potentiel d'action des neurones pyramidaux (revue par Obermayer et al 2017). Au niveau de la couche V du cortex visuel, le récepteur M1 mAChR inhibe les cellules pyramidales tandis que dans les couches II/III, ces cellules répondent moins à l'ACh (Gulledge et al 2007).

I.7 Raisonnement, hypothèses, techniques choisies et objectifs

I.7.1 Raisonnement

À la lumière des faits mentionnés ci-haut, certaines évidences existent quant à un lien fonctionnel entre le système cholinergique et le cortex visuel:

- 1) Les circuits neuronaux fonctionnent par les systèmes excitateurs et inhibiteurs mais sont aussi sous l'influence du système cholinergique.
- 2) Une stimulation visuelle induit une libération d'ACh dans le cortex visuel.
- 3) L'ACh est impliquée dans le développement de caractéristiques du cortex visuel telle la dominance oculaire. Elle est donc impliquée dans la plasticité corticale développementale.
- 4) L'ACh facilite la réponse aux stimuli visuels et ses récepteurs cholinergiques sont impliqués dans la formation des phénomènes de potentialisation et de dépression à long terme. Ils sont importants pour induire la plasticité chez l'adulte.

Il est évident que le système cholinergique influence la plasticité corticale, façonne la circuiterie neuronale durant le développement cérébral et est nécessaire à l'attention, la mémoire et l'apprentissage. Le système cholinergique a donc une implication importante dans le développement cérébral ainsi que dans la modulation de l'activité corticale chez l'adulte. Il convient maintenant d'évaluer comment le système cholinergique influence ces aspects.

I.7.2 Hypothèses

Cette thèse se divise en deux axes. Premièrement, l'impact des récepteurs muscariniques sur la maturation normale du cortex visuel en utilisant une approche fonctionnelle a été évaluée. Partant du principe que chez l'adulte, un déficit en ACh au niveau de V1 induit une diminution de la réponse corticale aux stimuli visuels (Dotigny et al 2008) et que les récepteurs muscariniques sont impliqués dans les mécanismes à long terme de l'amélioration du codage sensoriel des stimuli visuels (Kang et al 2014a, Origlia et al 2006b), leur implication directe

dans la maturation de la fonction visuelle a été supposée et évaluée à l'aide de la technique d'imagerie optique des signaux intrinsèques (se référer au chapitre 2).

Deuxièmement, l'évaluation des sous-types de récepteurs cholinergiques impliqués dans l'amélioration de la fonction visuelle observée lors du couplage cholinergique et visuel a été étudiée par qRT-PCR. L'utilisation d'une stimulation électrique du télencéphale basal est en mesure d'améliorer la perception visuelle (Kang et al 2014a). Or, cette méthode est invasive et peu applicable aux études humaines. Une approche pharmacologique, par l'administration de DPZ, a donc été utilisée et l'implication des récepteurs cholinergiques dans ce phénomène a été observée (se référer au chapitre 3).

Puis, les deux modes de stimulation cholinergique (électrique et pharmacologique) ont été comparés afin de vérifier si les modifications au niveau des récepteurs cholinergiques étaient différentes selon la méthode utilisée (se référer au chapitre 4).

Finalement, le dernier projet fait partie du deuxième axe de la thèse et vise à améliorer la vision résiduelle chez un modèle de déficit visuel par la combinaison des stimulations cholinergiques et visuelles. Une première partie de ce projet a été ici réalisée (se référer au chapitre 5) où une lésion de la voie visuelle, laissant toutefois intacts les neurones corticaux, a été pratiquée. Ce faisant, il devenait possible d'observer la réorganisation corticale naturelle non seulement au niveau du cortex visuel mais dans l'ensemble du cortex par imagerie calcique. La deuxième partie de cette étude, la combinaison des stimulations visuelles et cholinergique pour potentialiser l'activité corticale visuelle, a été cependant retardée pour bien caractériser l'effet de la lésion visuelle sur la fonction corticale normale.

I.7.3 Techniques sélectionnées

Afin de mener à bien les projets de cette thèse, nous avons sélectionné différentes techniques nous permettant d'atteindre les objectifs établis.

I.7.3.1 L'amplification quantitative en temps réel

Plusieurs techniques ont été débattues pour tenter d'obtenir l'information sur l'expression protéique des récepteurs cholinergiques. Par exemple, le *western blot* et l'immunohistochimie ont été considérés. Toutefois, un de leur problème majeur est l'absence de spécificité des anticorps contre toutes les sous-unités des récepteurs cholinergiques. Il devient donc dans cette optique difficile d'étudier la protéine en tant que telle. L'administration d'agonistes cholinergiques, muscariniques ou nicotiniques, est aussi une approche efficace pour observer la fonction cholinergique corticale. Il a en effet été démontré qu'à l'application d'antagonistes, la plasticité corticale visuelle est altérée (Lauder & Schambra 1999). Il n'en demeure pas moins que de cibler spécifiquement chaque sous-unité demanderait une quantité non exploitable d'anticorps mais surtout, les agonistes et antagonistes cholinergiques ne sont pas tous sélectifs. Par conséquent, la technique que nous avons retenue est la qRT-PCR (chapitres III et IV). La qRT-PCR est une technique qui permet de lier l'expression génique à l'expression protéique et sa variante quantitative nous permet de comparer les niveaux d'amplification de l'ARN de manière relative.

I.7.3.2 L'évaluation de l'activité corticale

L'évaluation de l'activité corticale à la fois à haute résolution spatiale et à haute résolution temporelle est capitale pour l'étude de la fonction corticale. Toutefois, la majorité des techniques mesurant cette activité cérébrale répondent difficilement aux deux exigences en même temps. Différentes techniques d'évaluation de l'activité corticale ont donc été utilisées dans cette thèse et sélectionnées selon les différents objectifs à atteindre.

Une des techniques qui a été utilisée pour évaluer l'activité corticale est l'imagerie des signaux intrinsèques (Chapitre II). Cette technique se base sur la consommation d'oxygène par les neurones suivie d'une augmentation du flux sanguin à la zone active pour évaluer leur activité (Grinvald et al 1986b). Bien que V1 chez la souris soit d'environ 4 mm² (Garrett et al 2014), il est admis que la résolution spatiale de l'ordre de 0.1 mm (Polimeni et al 2005) est suffisamment précise. Il est toutefois permis de penser l'impact d'une lésion focale rétinienne sur le cortex visuel ne serait pas détectable en utilisant cette technique. Toutefois, l'imagerie optique des

signaux intrinsèques ne possède pas une excellente résolution temporelle. Sa dynamique est lente : il faut entre 1 et 2 sec pour obtenir le maximum de la réponse et jusqu'à 10 sec pour retourner au niveau de base (Lu et al 2017). Bien que l'imagerie des signaux intrinsèque ne soit pas appropriée pour étudier des événements corticaux rapides, dans le cadre du projet elle était tout à fait appropriée, apportant l'information nécessaire à la compréhension des caractéristiques de la population neuronale.

L'évaluation de la réponse corticale à la stimulation visuelle et son changement suite à l'entraînement (Chapitre III) a plutôt été observée par la mesure des LFP extracellulaires. Dans cette méthode, une électrode doit être insérée dans le cortex de l'animal et les FPs correspondent à la synchronicité des courants synaptiques des neurones corticaux répondant à la stimulation (Nunez & Srinivasan 2006). Les neurones sont à la fois soumis à des activités activatrices et inhibitrices générant des potentiels post synaptiques excitateurs et inhibiteurs qui créent les signaux LFP. Comme la majorité des neurones corticaux est de type glutamatergique, l'activité corticale principale évaluée par cette technique serait de nature excitatrice. Or, il semble que chez l'animal anesthésié, les courants inhibiteurs pourraient être enregistrés (Haider et al 2016) affectant possiblement le signal. De plus, il est difficile de répéter lors d'expérimentation chronique le positionnement exact de l'électrode. Toutefois, l'intégration des signaux est étendue, allant de 0.5 mm à 3 mm (Kajikawa & Schroeder 2011, Katzner et al 2009, Xing et al 2009). L'évaluation des potentiels de champs locaux reste donc une technique appropriée à l'étude réalisée considérant qu'elle est répétable et qu'elle mesure l'activité sur une surface étendue de la population neuronale.

L'imagerie calcique est la technique que nous avons utilisée (Chapitre VI) qui permet la meilleure combinaison de résolutions spatiale et temporelle. Le signal calcique est plus important que celui observé en imagerie intrinsèque (Hillman 2007) et est directement lié à l'augmentation de calcium intracellulaire lors des potentiels d'action (Smetters et al 1999). Cette technique a pour avantage majeur de pouvoir s'appliquer à diverses échelles, allant de l'évaluation d'une partie d'un neurone à une population de neurones interconnectés.

I.7.3.3 La stimulation cholinergique

Deux différentes manières de stimuler le système cholinergique ont été utilisées dans cette thèse : la stimulation électrique du télencéphale basal et l'utilisation d'un agent pharmacologique, le DPZ.

La stimulation électrique est couramment utilisée chez les rats et est maîtrisée dans le laboratoire (Kang et al 2014a, Kang & Vaucher 2009). Toutefois, la plus grande limitation de cette technique est qu'elle est invasive et que l'électrode doit traverser 7 mm de substance cérébrale chez le rat avant d'atteindre le noyau basalis. Évidemment, cela cause des lésions, bien que minimes, détruisant des neurones le long de son chemin vers le noyau basalis. De plus, le noyau cholinergique n'est pas constitué exclusivement de neurones cholinergiques. On y retrouve aussi des neurones GABAergiques et dopaminergiques (Yang et al 2014). Bien que moins nombreux dans le noyau, ces neurones, lorsque la stimulation électrique est appliquée, peuvent aussi être activés.

La stimulation par le DPZ contourne l'aspect invasif de la stimulation électrique du noyau cholinergique. Le DPZ permet la potentiation de l'ACh endogène ne ciblant pas spécifiquement les récepteurs cholinergiques. De part son faible degré d'invasivité, le donépézil présente aussi l'avantage d'être plus facilement transférable aux études cliniques. En fait, le DPZ est régulièrement utilisé afin d'améliorer la fonction cognitive chez les patients Alzheimer (Prvulovic & Schneider 2014). Ce médicament traverse la barrière hémato-encéphalique (Banks 2012) et le transport du donépézil à travers cette barrière serait possible par des transporteurs de cations organiques comme le système de transport de la choline (Geldenhuys & Allen 2012).

I.7.4 Objectifs spécifiques

Le but de cette thèse est de mettre en relation l'acétylcholine et son influence sur la plasticité du V1. Il s'agit ici de mettre en évidence les bases de l'amélioration de la performance visuelle et de la plasticité chez le rongeur en vue de son transfert chez des patients atteints d'un déficit visuel.

Le rongeur est un modèle largement utilisé pour étudier le système visuel et c'est ce modèle qui a été choisi pour les études présentées dans cette thèse. Le rat et la souris possèdent un système

visuel d'une part relativement simple, pouvant aisément être manipulé (entraîné ou lésé), mais d'autre part ayant des caractéristiques très similaires à celui des primates. La caractérisation du système cholinergique chez ces rongeurs est aussi très avancée.

Le premier objectif vise à caractériser l'implication des récepteurs cholinergiques au niveau de l'organisation corticale visuelle et leur implication dans l'amélioration des performances visuelles chez l'animal sain. Le deuxième objectif de la thèse est l'initiation d'un projet de plus grande envergure qui visera à stimuler le système cholinergique dans l'optique de manipuler l'organisation corticale visuelle d'un animal ayant une atteinte visuelle et d'améliorer les performances visuelles de l'animal.

I.7.4.1 Premier article

Ce travail visait à démontrer que les récepteurs muscariniques sont essentiels au bon fonctionnement du cortex visuel et de la maturation post-natale et que leur implication dans les propriétés neuronales visuelles joue sur le contrôle du gain de la réponse par l'ACh.

Chapitre 2, Groleau et al., Neuroimage. 2014 Sep / PMID: 24837499

I.7.4.2 Deuxième article

Ce travail visait à déterminer quels récepteurs cholinergiques sont impliqués dans l'amélioration de la performance visuelle obtenue lors du couplage d'une stimulation visuelle et d'une stimulation cholinergique de type pharmacologique ainsi que la dose de donépézil produisant le meilleur effet au niveau fonctionnel.

Chapitre 3, Groleau et al., J Physiol Paris. 2016 Sep / PMID: 27913166

I.7.4.3 Troisième article

Ce travail visait à évaluer les différences dans l'expression des récepteurs cholinergiques obtenues entre la stimulation cholinergique électrique (précédemment utilisée dans le laboratoire) et pharmacologique en fonction du temps.

Chapitre 4, Groleau et al., Neuroscience. 2018 Jun / PMID: 29958942

I.7.4.4 Quatrième article

Cette courte revue présente les aspects anatomo-fonctionnels de la modulation muscarinique de la microcircuiterie corticale visuelle.

Chapitre 5, Groleau et al., Front Synaptic Neurosci. 2015 Jun / PMID: 26150786

I.7.4.5 Étude complémentaire

Cet objectif avait pour but de comprendre comment le système visuel se réorganise suite à une lésion du nerf optique chez la souris et quel est l'impact de cette lésion sur la connectivité corticale.

Chapitre 6, étude en cours

Chapitre II : Premier article

Article débuté dans le cadre de la maîtrise et terminé durant le doctorat

Publié dans

NeuroImage 98 (2014) 233–242

PMID: 24837499

Impaired functional organization in the visual cortex of muscarinic receptors knock-out mice

Marianne Groleau^{1,2}, Hoang Nam Nguyen¹, Matthieu Vanni², Frédéric Huppé-Gourgues¹,
Christian Casanova² and Elvire Vaucher^{1*}

¹ Laboratoire de Neurobiologie de la Cognition Visuelle, École d'optométrie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

² Laboratoire des Neurosciences de la Vision, École d'optométrie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Contributions :

Marianne Groleau, Matthieu Vanni, Christian Casanova et Elvire Vaucher ont conçu les expériences et ont interprété les résultats

Marianne Groleau et Hoang Nam Nguyen ont effectué les expériences

Marianne Groleau, Hoang Nam Nguyen et Matthieu Vanni ont analysé les résultats

Marianne Groleau, Matthieu Vanni, Frédéric Huppé-Gourgues, Christian Casanova et Elvire Vaucher ont écrit le manuscrit

II.1 Abstract

Acetylcholine modulates maturation and neuronal activity through muscarinic and nicotinic receptors in the primary visual cortex. However, the specific contribution of different muscarinic receptors subtypes in these neuromodulatory mechanisms is not fully understood. The present study evaluates *in vivo* the functional organization and the properties of the visual cortex of different groups of muscarinic receptor knock-out (KO) mice. Optical imaging of intrinsic signals coupled to continuous and episodic visual stimulation paradigms was used. Retinotopic maps along elevation and azimuth were preserved amongst the different groups of mice. However, compared to their wild-type counterparts, the apparent visual field along elevation was larger in M2/M4-KO mice but smaller in M1-KO. There was a reduction in the estimated relative receptive field size of V1 neurons in M1/M3-KO and M1-KO mice. Spatial frequency and contrast selectivity of V1 neuronal populations were affected only in M1/M3-KO and M1-KO mice. Finally, the neuronal connectivity was altered by the absence of M2/M4 muscarinic receptors. All these effects suggest the distinct roles of different subtypes of muscarinic receptors in the intrinsic organization of V1 and a strong involvement of the muscarinic transmission in the detectability of visual stimuli.

Keywords: cartography, muscarinic receptors, visual cortex, cortical activity

II.2 Introduction

The cerebral cholinergic system contributes to fine tuning of the sensory cortex during development, maturation and structure-function plasticity. In the primary visual cortex (V1), acetylcholine (ACh) modulates the neuron responses to new visual stimuli (Amar et al 2010, Bear & Singer 1986, Collier & Mitchell 1966, Laplante et al 2005, Thiele 2013), the orientation selectivity of single cells and the orientation and direction selectivity of complex cells (Bhattacharyya et al 2013, Murphy & Sillito 1991, Sato et al 1987, Zinke et al 2006). Its neuromodulatory action mediates the attentional enhancement of specific visual stimuli processing (Herrero et al 2008), and long-term modification of the neuronal responses (Dringenberg et al 2007, Greuel et al 1988, Heynen & Bear 2001, Kang & Vaucher 2009),

leading to the functional plasticity and perceptual learning (Kang et al 2013). The deficit of ACh in V1 leads to a decreased cortical responsiveness to visual stimuli as seen by c-Fos immunoreactivity (Dotigny et al 2008).

These functions are mediated through two major classes of cholinergic receptors namely muscarinic (mAChR) and nicotinic (nAChR) receptors located at every level of the cortical microcircuitry (Disney et al 2006b, Prusky et al 1987, Soma et al 2012, Volpicelli & Levey 2004). Although nAChRs are involved in the facilitation of glutamatergic transmission at V1 thalamo-cortical synapses (Gil et al 1997), the present study focuses on mAChRs since they are involved in long-term mechanisms in V1. Five G-protein-coupled mAChR genes (*m1-m5*) have been characterized, each encoding a different subtype of mAChR (for a review see Wess 2004). M1, M3 and M5 mAChRs are coupled to the G α q/11 G-protein family and activate the phospholipases C. These receptors are mainly located on postsynaptic elements. M1 receptor is predominant and mostly located on pyramidal cells and cortico-cortical fibers whereas, traces of M3 receptor are found in V1. On the other hand M2 and M4 receptors are coupled to α subunits of Gi/o and inhibit adenylate cyclase activity and voltage-sensitive calcium channels (Caulfield & Birdsall 1998). These receptors also activate MAPK that regulates synaptic plasticity (Roberson et al 1999). M2 are often found on presynaptic cholinergic (as autoreceptors) and GABAergic terminals and interneurons, where they induce direct modulatory effects as shown by *in vitro* studies (Caulfield & Birdsall 1998, McCormick & Prince 1985, Salgado et al 2007b). M4 is quite rare in V1. Muscarinic disinhibition of cortical circuits through decreased GABAergic drive (Lawrence 2008, Zinke et al 2006) changes the excitatory/inhibitory balance necessary for cortical plasticity. mAChRs are also involved in long-term potentiation (LTP) and depression (LTD) mechanisms in V1 (Dringenberg et al 2007, Kang & Vaucher 2009, Origlia et al 2006b), which contributes to the learning and memory processes in young and adult rats.

In the present study, single or double mAChRs knockout (KO) mice (M1-KO, M1/M3-KO and M2/M4-KO) were used to explore the contribution of mAChRs to the visual cortex organization using optical imaging of intrinsic signals (OIS) technique. OIS has been widely used to visualize topographic maps such as orientation (Grinvald et al 1986a, Ts'o et al 1990), ocular dominance (Ts'o et al 1990) or retinotopy maps in the visual system of various species, including mice

(Drager 1975, Kalatsky & Stryker 2003, Schuett et al 2002). The immunohistochemistry analysis was performed to associate the anatomical features to functional properties assessed with OIS.

II.3 Materials and methods

II.3.1 Animal preparation

All procedures were carried out in accordance with the guidelines of the Canadian Council for the Protection of Animals and were accepted by the Ethics Committee of the Université de Montréal. A total of 38 male mice (6-9 weeks) were used in this study, distributed over five groups: M1/M3-KO ($M_1M_3^{-/-}$) (n= 10), M1-KO ($M_1^{-/-}$) (n = 7), M2/M4-KO ($M_2M_4^{-/-}$) (n = 8) and their respective genetic controls, 129SvEv x CF1 (WT control mice, n = 6) for M1/M3-KO and M1-KO, and C57BL/6J (n = 7) for M2/M4-KO mice. All the strains were backcrossed for at least 10 generations (Duttaroy et al 2002). An additional set of animals for each group (n = 4/group) was used for immunocytochemical examination of the cholinergic innervation of V1. All mAChRs KO mice were kindly provided by Dr. Jurgen Wess (NIH, Bethesda, USA). Animals were maintained in a 12h light/dark normal daylight cycle with ad libitum access to food and water. Before OIS imaging, mice were anesthetized using urethane (1.25 g/kg, i.p.). Throughout the experiment, depth of anesthesia was periodically tested using the paw retirement reflex (10% of the induction dose were given as additionally if needed). A tracheotomy was performed and the animal was placed in a stereotaxic frame. A flow of O₂/N₂O mixture was placed directly in front of the tracheal tube. In addition, xylocaine (0.2%, AstraZeneca, Mississauga, Ontario) was injected locally at every incision points. The eyes were hydrated every 10-20 min with ocular drops (Blink, Abbott, Illinois, USA). Core body temperature was maintained at 37°C using a feedback controlled heating pad (Harvard Apparatus, Saint-Laurent, Québec) and electrocardiogram (FHC, Bowdoin, ME, USA) was continuously monitored with sub-dermal electrodes. The visual cortex was imaged through the skull: an imaging chamber was placed over both hemispheres, glued on the skull, filled with

agarose (1%) and sealed with a coverslip (Fig. 1A, B). At the end of the experiment, mice were perfused with 45-60 mL of 4% paraformaldehyde in 0.1M phosphate buffer sodium at room temperature. Brains were then dissected and kept for immunohistochemistry.

II.3.2 Optical imaging

II.3.2.1 Stimulation

Visual stimulation was provided using a custom made software (STIMPlus) and presented by an LCD projector on a screen placed at a distance of 20 cm in front of the mouse eyes (subtending 150 x 135 degrees of visual angle). To assess visuotopy and characterize maps and connectivity in V1, a continuous stimulation paradigm (Kalatsky & Stryker 2003, Vanni et al 2010) was used, where 2 degrees thick light bars were periodically shifted horizontally (to obtain elevation maps) or vertically (to obtain azimuth maps) over a dark background at a frequency of 0.1 Hz (Fig. 1C). These relative retinotopic maps were used to assess several structural and functional parameters within V1 but were not used here to delineate visual areas (such as in fMRI studies) or evaluate precise positions of receptive field (such as in traditional electrophysiological studies). To examine the functional properties of V1 neurons, episodic full-field sine wave grating stimuli (four directions: 0, 90, 180, 270 degrees) were presented during 2s and spaced by a blank presentation lasting 18s intervals (mean luminance 75cd/m²) (Fig. 1D). The amplitude of the hemodynamic responses was measured as a function of contrast and spatial frequency selectivity. Five contrasts (6%, 12%, 25%, 50% and 100%) and four spatial frequencies (0.005, 0.01, 0.02 and 0.04 cycle per degree (cpd)) were used to determine contrast sensitivity and spatial frequency selectivity, respectively.

II.3.2.2 Image acquisition

The cortex was illuminated at 545 nm to adjust the focus of the camera and at 630 nm to record the intrinsic signals. Optical images were recorded using a 12-bit CCD camera (1M60, Dalsa, Colorado Springs, USA) driven by the Imager 3001 system (Optical Imaging Inc ©) and

fitted with a macroscopic lens (Nikon, AF Micro Nikon, 60mm, 1:2:8D). Frames of 512 x 512 pixels were acquired at a rate of 4 Hz, giving a spatial resolution of 28 $\mu\text{m}/\text{pixel}$. The acquisition was sustained for 10 min during the continuous stimulation paradigm. During episodic stimulation, frames were acquired for 20 seconds for every contrast and spatial frequency tested. An average of 10 repetitions was used to obtain a good signal to noise ratio.

II.3.2.3 Data analysis

OIS result from a complex interplay between neuronal activity and vascular response (Frostig et al 1990, Hillman et al 2007, Vanzetta & Grinvald 2008). The reflectance of the intrinsic signals is produced by a modification of the oxy/deoxy-hemoglobin ratio, relative to pure neuronal activity (oxygen consumption) or changes in blood volume or blood flow to adjust for the metabolic need of the neurons (hemodynamic response). The visual parameters analyzed from the OIS in the present study are thus representative of local activity of neurons rather than pure vascular response, in agreement with previous studies (Vanzetta & Grinvald 1999). It is also assumed here that mAChR deletion does not change the OIS signal in regard to possible blood flow effects. Although vasodilatory effects of mAChRs are well known (Hamel 2004), it is unlikely that mAChRs deletion does change the hemodynamic response to visual stimulation in the present study for the following reasons. First, predominantly M5 but not M1, M2, M3 or M4 mAChRs contributes to the cholinergic-induced blood flow changes in the cortex (Elhousseiny et al 1999, Hamel 2004, Wess 2004, Yamada et al 2001a) and M5 mAChR was not deleted in the group of mice examined here. Second, the contribution of acetylcholine on hemodynamic response to sensory stimulation has been shown to be minor compared to effects of glutamatergic or GABAergic local cortical neurons (Lecrux et al 2011). Moreover, the hemodynamic response obtained with episodic stimulation (Fig. 4E, F) is composed of two phases, an initial dip where the concentration of deoxyhemoglobin increases - representative of oxygen consumption - followed by a positive peak - representative of an increase of the oxyhemoglobin, secondary to an increase of blood volume/blood flow (Vanzetta & Grinvald 2008). In our study, the contrast sensitivity and optimal spatial frequency were established from the amplitude of the negative peak of the first part of the hemodynamic response, and is thus

related to neuronal activity rather than blood volume changes. If mAChRs deletion did affect the hemodynamic response, it would not have been considered since the second part of the hemodynamic response was not included in the analysis.

OIS data were analyzed with MATLAB (MathWorks, Nattick, MA). For each pixel of the cortex, a Fourier transform was applied on temporal signals collected during continuous stimulation (Kalatsky & Stryker 2003). Fourier phase and amplitude were generated for each frequency and used to map the retinotopy and realize quantification. The amplitude of neuronal activity was used to generate the “neuronal activation” map (Fig. 1E, upper panel). In parallel, the phase at the stimulus frequency was related to the delay to activate the receptive field and was associated to the relative retinotopic position (Fig. 1E, middle panel). The “retinotopic” map (Fig. 1E, lower panel) was obtained by multiplying the amplitude and phase maps. Regions of interest (ROI) located in the occipital cortex were manually delineated in the activation maps for each hemisphere. The area of V1 was calculated from the ROI borders. The shape of the ROI was fitted to an ellipse with MATLAB and the ratio of length of the two main axes of the ellipse determined (height/width) was calculated to measure the “ovality index” (Fig. 2A). The ratio of the number of the phases detected in the retinotopic maps over 2π (i.e. the range of the phases displayed) was used to estimate the “apparent visual field”, i.e. the proportion of the activated visual field represented in V1. The difference between the phase of each pixel and its surrounding pixels was calculated on the phase map to evaluate the “scatter index” (Fig. 3A). Being related only to the delay and frequency of the response rather than its amplitude, this parameter is independent of the amplitude of the signal thus independent of the intensity of blood volume changes, and rather it gives an estimate of the retinotopy accuracy (Cang et al 2005a, Cang et al 2008). Accordingly to the method presented by Vanni et al. (2010), Fourier amplitude at the stimulus frequency and second harmonic was used to evaluate the population receptive field (pRF) size of the underlying neurons (neurons within a ROI respond to a range of visual field locations and the region of the visual space that stimulates this local neuronal activity is called pRF). Briefly, when each bar travels into a pRF the neuronal activity increases. When the spatial extent of pRF is large, the duration of the neuronal activity should be long while for smaller pRF, a narrower temporal response is expected. Thus, broader temporal response generated for large pRF should produce a more sinus waveform than small pRF which

should be associated to a “sharper” waveform. Therefore, because sharper waveform is associated with higher harmonics amplitude, the ratio between the second to the first harmonic was used as an inverse measure of the pRF size.

The hemodynamic responses obtained during episodic stimulation were used for the functional analysis of the neurons features. The contrast and spatial frequency tuning curves for each pixel of V1 were established from the amplitude of the negative peak of the hemodynamic response (Fig. 4E, F). The spatial frequency producing the strongest hemodynamic response was calculated for each pixel. The results of each trial at all orientations were pooled and the average value of spatial frequency of all pixels of V1 was defined as the optimal spatial frequency. The curves of amplitude as a function of the contrast were fitted with a Naka-Rushton function (Carandini & Sengpiel 2004) to determine the contrast evoking 50% of the maximum response.

II.3.3 Immunohistochemistry

Intracardiac perfusion of 4% freshly prepared paraformaldehyde was performed under deep anesthesia (urethane, 1.25 g/kg, i.p.). Fixed brains were collected, post-fixed for 2 h in the same fixative, and stored in 0.1 M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) overnight. Brains were sliced into 35- μ m sections using a vibratome (VT1000, Leica microsystems) at the level of the visual cortex / superior colliculus (-3.52 mm from Bregma). Brain sections were collected and serially stored for proper antero-posterior identification. Sections were pre-incubated for 20 min at room temperature (RT) in PBS, (0.1 M, pH 7.4) containing 0.3% hydrogen peroxide, followed by 30 min in PBS containing 0.25% triton X-100 and 1.5% donkey serum (Jackson ImmunoResearch, Westgrove, PN, USA). Sections were incubated overnight at RT with goat anti-cholineacetyltransferase (ChAT) primary antibody (1:200, Chemicon, EMD Millipore, Billerica, MA, USA) in PBS-triton, followed by 2 h incubation in secondary antibody (1:200, donkey-anti-goat, Jackson ImmunoResearch, Westgrove, PN, USA). Visualization was achieved by 1 h in the avidin-biotin complex (ABC Elite kit, Vector laboratories, Burlingame, CA, USA) followed by peroxidase-substrate-kit Vector SG (Vector laboratories) for a standardized period of 5 min. Sections were then mounted onto slides, dehydrated and sealed with coverslips.

II.3.3.1 Stereological estimation of fibre density and varicosity

Stereological sampling and analysis was carried out in blind experimental conditions. Analysis was performed on 5 sections covering the extent of the primary visual cortex (-4.04 to -2.18 from Bregma). V1 was anatomically delineated at low magnification (10x) with reference to mouse brain atlas (Paxinos & Franklin 2012). Stereological counting of varicosities and fibers was performed at 100x magnification (Leica HCX PL Fluotar oil-immersion objective) using Leica DMR microscope with StereoInvestigator software (v9.13, MicroBrightField, Williston, VT) and a computer driven motorized stage. A sampling grid (250 x 210) was used. V1 was systematically sampled with a minimum average of 100 optical dissectors measuring 5 x 5 x 5 μm^3 . Guard zones were applied in all cases. The hemisphere spaceball probe was used to estimate fibre density in V1 (Mouton et al 2002). Optical-fractionator systematic sampling design was used to estimate the total number of varicosities (West et al 1991). An average of 169 varicosities per animal was counted at random over the whole extent cortical layers. The estimation of varicosities density was calculated by the sum of the counted varicosities in the dissectors multiplied by the section sampling fraction multiplied by the area sampling fraction multiplied by the thickness-sampling fraction. A coefficient of error (CE) of the estimation is used to assess the precision of the sampling (Gundersen et al 1999). Each of the measured mice CE was ≤ 0.1 that indicates adequate stereological sampling parameters (Mouton et al 2002, West et al 1991). Ratios of puncta density / fibers density were calculated for each animal and then averaged together (Table 1).

II.3.4 Statistical analysis

For all the imaging parameters, the groups WT mice, M1/M3-KO and M1-KO were compared using one-way ANOVA. Post-hoc test was carried out using LSD correction. C57BL/6J and M2/M4-KO were compared using Student's *t*-test. C57BL/6J and 129SvEv x CF1 (named WT mice) were compared using Student's *t*-test. For immunohistochemistry analysis, groups WT mice, M1/M3-KO and M1-KO were compared using Kruskal-Wallis test. C57BL/6J and M2/M4-KO were compared using Mann-Whitney test. Statistical analyses were performed using SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) with a significance level of $p < 0.05$.

II.4 Results

II.4.1 Visual parameters differences between strains of mice

Two strains of mice were used in this study, i.e. C57BL/6J and 129SvEv x CF1 (WT mice). The different mice did not show any behavioral deficits or major cognitive impairments, excluding hyperlocomotion in M1-KO mice (Wess 2004). There was a significant lower optimal spatial frequency (t-test, $p=0.0028$, Fig. 2B) and extent of the apparent visual field along azimuth (t-test, $p=0.001$) and elevation (t-test, $p=0.003$, Fig. 4B) in the C57BL/6J compared to 129SvEv x CF1 WT mice. The scatter index was however significantly smaller along azimuth (t-test, $p=0.005$, Fig. 3B) and elevation (t-test, $p=0.026$) in the C57BL/6J compared to 129SvEv x CF1 WT mice. The other parameters measured in the present study were not significantly different between the two strains. These findings support a difference of visual acuity between strains. This agrees with previous studies showing that the visual acuity threshold is higher in C57BL/6J than 129 strains (at least the 129S1/SV1MJ substrain) (0.375 vs 0.245 cpd, respectively) (Wong & Brown 2006) and that their speed to perform a discrimination task in the visual water maze is different. The pattern and stimuli detection threshold is however identical between C57BL/6J and 129S1/SV1MJ (Wong & Brown 2006). The aim of this study was not to determine the more adequate strain of mice for vision research. We rather performed a statistical analysis of the relative changes of the parameters within each strain related to the specific effect of mAChR subtypes deletion.

II.4.2 Contribution of the muscarinic receptors to the retinotopic maps in V1

The effect of mAChR deletion on V1 retinotopic maps was first analyzed by measuring the cortical surface and shape allocated for the response to the visual stimulation following the continuous visual stimulation paradigm (Fig. 1 and see Material and Methods section for details). The area of V1 was not statistically different between WT control mice, M1/M3-KO or M1-KO (ANOVA, $F_{1,505}=0.246$) nor between C57BL/6J and M2/M4-KO (t-test, $p=0.157$) (Fig.

2B). The ovality index (Fig. 2A, C and see Material and Methods section for details) was not statistically different between WT mice, M1/M3-KO and M1-KO (ANOVA, $F_{0.248} = 0.783$) nor between C57BL/6J and M2/M4-KO (t-test, $p = 0.114$). Therefore, the area and shape of V1 were not affected by mAChR deletion. Moreover, the index of the scatter – an index of architectonic organization of the cortex - was evaluated to assess the accuracy of the retinotopic map (Fig. 3A and see Material and Methods section for details). No change of this index was found along azimuth (ANOVA, $F_{0.155} = 0.858$, Fig. 3C) nor elevation (ANOVA, $F_{1.792} = 0.194$, Fig. 3B) between WT mice, M1/M3-KO and M1-KO. However, an increase of the scatter index along azimuth (t-test, $p = 0.041$, Fig. 3C) but not along elevation ($p = 0.859$, Fig. 3B) was observed in M2/M4-KO mice compared to C57BL/6J. This suggests that the retino-geniculo-cortical projections organization or the neuronal connectivity within V1 was affected by M2/M4 receptors but not M1 or M3 mAChRs.

II.4.3 Contribution of the muscarinic receptors to the apparent visual field

The organization of V1 was also characterized by quantifying the percentage of visual field encoded on the visual cortex over the extent of the stimulated visual field. The apparent visual field (the proportion of the visual field represented in V1) was shrunken along elevation in M1-KO ($F_{3.382} = 0.055$, ANOVA, post-hoc LSD, $p = 0.033$) mice compared to WT mice but not in M1/M3-KO (Fig. 4A). Nevertheless, it was not altered along azimuth (ANOVA, $F_{0.270} = 0.766$) between WT mice, M1/M3-KO and M1-KO (Fig. 4B). The apparent visual field was enlarged along azimuth (Fig. 4A) as well as along elevation (Fig. 4B) in M2/M4-KO mice compared to C57BL/6J (t-test, $p = 0.031$ and t-test, $p = 0.025$, respectively). Taken together, these results suggest an opposite effect of M1 vs. M2/M4 receptor on the cortical coverage of the visual field integration.

II.4.4 Contribution of the muscarinic receptors to the spatial RF properties of V1 neurons

The optimal spatial frequency and contrast function were assessed for the different groups of mice by analysis of the amplitude of the signal obtained by episodic stimulation. The optimal spatial frequency was significantly reduced in M1/M3-KO mice compared to WT mice

(WT: 0.018 ± 0.002 cpd, M1/M3-KO: 0.011 ± 0.001 cpd ,ANOVA, $F_{5.574}=0.013$, $p= 0.040$) whereas no reduction was observed in M1-KO mice (M1-KO: 0.014 ± 0.002 cpd, Fig. 4C), suggesting a specific involvement of M3 in high spatial frequency tuning of cells in V1. No statistical difference was observed in the optimal spatial frequency between C57BL/6J and M2/M4-KO mice (M2/M4-KO: 0.012 ± 0.001 cpd, C57BL/6J: 0.013 ± 0.001 cpd, t-test, $p= 0.640$, Fig. 4C). The C_{50} , which corresponds to the contrast evoking 50% of the maximal response, was significantly higher in M1/M3-KO (ANOVA, $F_{7.429}= 0.006$, $p= 0.003$) and M1-KO ($p= 0.009$) indicating a reduced contrast sensitivity in those animals compared to WT mice (Fig. 4D). This suggests an influence of M1 and possibly M3 mAChRs in contrast discrimination. C_{50} was not changed between C57BL/6J and M2/M4-KO (t-test, $p= 0.900$). Hemodynamic responses obtained at maximal contrast are represented in Fig. 4E (WT, M1/M3-KO and M1-KO) and 4F (C57BL/6J and M2/M4-KO). An index of the size of pRFs of V1 population was assessed by calculating the ratio of the magnitude of the second over the first harmonics of the Fourier transform of the signal (Fig. 5A and see Material and Methods section for details) obtained with the continuous stimulation paradigm. In M1-KO mice, the ratio was smaller along azimuth (ANOVA, $F_{4.191}= 0.031$, $p= 0.015$) and elevation (ANOVA, $F_{3.565}= 0.048$, $p= 0.024$) compared to WT mice (Fig. 5B, C). The ratio was decreased in M1/M3-KO along azimuth (ANOVA, $F_{4.191}= 0.031$, $p= 0.032$) but not along elevation (ANOVA, $p= 0.752$) compared to WT mice. The ratio being inversely proportional to pRF, the apparent pRF size was increased in these mice. M3 mAChR possibly compensates for a change of the pRF along elevation. This is coherent with the shift to low spatial frequency observed in M1/M3-KO mice. No statistical differences were found between C57BL/6J and M2/M4-KO along azimuth (t-test, $p= 0.795$) nor elevation (t-test, $p= 0.622$). This suggests that M2/M4 mAChRs do not affect spatial properties of pRF structure of V1 neurons; which is consistent with the absence of change in the spatial frequency and contrast sensitivity.

II.4.5 Contribution of the muscarinic receptors to the cholinergic innervation of V1

The analysis of the cholinergic innervation of V1 in the different groups of mice was performed to determine possible changes induced by mAChRs deficit on cholinergic input to V1. As already reported, ChAT-stained fibres appeared as fine lines (axons) of varying length

and thickness endowed with varicosities - ellipsoid or round shaped dark swellings (puncta) present along the fibres (Fig. 6). The cholinergic innervation was more dense in the layer IV compared to layers I or VI. The total length of fibres over V1 and density of fibres as well as the total number of puncta over V1 and density of puncta (Table 1) hinted the level of local volumetric transmission and neuronal interactions (Mechawar et al 2000). The fibre density as well as total length of fibre was significantly ($K= 0.240$, $p= 0.027$ and $K= 6.260$, $p= 0.044$, respectively) changed between M1, M1/M3 KO and their WT, with an apparent reduction of the fiber density in M1/M3 KO. This suggests that deletion of the two excitatory mAChRs lead to a slight reduction of cholinergic innervation of V1. However, the density of puncta as an absolute value or related to the fiber density was not changed between M1, M1/M3 KO and their WT counterparts ($K= 0.240$, $p= 0.887$ and $K= 2.060$, $p= 0.357$, respectively). No significant differences were observed in other measurements between M2/M4 KO and WT (fiber length: $U= 15$, $p= 0.602$; fiber density: $U= 13$, $p= 0.917$; puncta number: $U= 13$, $p= 0.917$; puncta density $U= 14$, $p= 0.754$). The comparison of the puncta density over fiber density ratios showed no significant difference (Table 1, $K= 3.140$, $p= 0.208$). Given the volume transmission mode of the cholinergic system, one may propose that the reduction of fiber density in M1 and M1/M3-KO is indicative of a reduction of the extent of the influence of the cholinergic fibers on different neuronal elements of the neuropil. However, since the limiting parameter of ACh efficacy is the number of puncta, which release ACh, along the axons (Zhang et al 2011) and that puncta density and distribution along the fiber was not reduced in mAChR KO mice, it is likely that the influence of the cholinergic fibers on V1 in mAChRs-KO and WT mice is equivalent. This suggests that the cholinergic input of V1 was barely affected by the absence of mAChR.

II.5 Discussion

Our results indicate that the subtypes of mAChRs play distinct roles in the intrinsic organization of V1 and selective properties of V1 neurons, but not in the size of the area dedicated to primary visual processing. M1, M2 and M4 mAChRs influence the representation of the peripheral visual field with opposite effects. M2 and M4 mAChRs are involved in the

smoothness of the retinotopic organization whereas, M1 and M3 modulate the size of the pRFs - as estimated over an ensemble of neurons - and fine tuning of spatial frequency and contrast properties of neurons. All these effects suggest a strong involvement of mAChRs in the detectability of visual stimuli, an influence of the mAChR deletion in the maturation of V1 and, probably, an adaptation or compensation of the neural tissue lacking mAChRs during development or maturation. Finally, these functional changes are not correlated with changes in the anatomical features of the cholinergic innervation of V1.

II.5.1 Muscarinic receptors influence on the cortical representation of the visual field

In the present study, surface and shape of V1 maps were not affected by mAChRs deletion thus, the portion of the cortex devoted to the representation of the visual world was preserved. The retinotopic maps were considered as V1 maps assuming that only V1 was activated - V2 map would have been observed as a mirror image of V1 activation immediately lateral to V1 (Kalatsky 2009) which was not detected in the present study. However, the possibility that neuronal activity could be really low at the edge of V1 and then not detected by the indirect measurement has to be considered as a possibility of underestimation of the size and shape of V1. Although the size and shape of V1 was not changed amongst the different groups, the extent of the visual field represented in V1 was decreased in M1-KO along elevation and increased in M2/M4-KO along elevation and azimuth. The projections from the retinal ganglion cells are formed along anteroposterior and mediolateral axes and differences between the representation of the visual field along these two axes in V1 have already been reported in mutant mice (Cang et al 2008). The mAChR deletion-induced changes observed in the present study do not dramatically alter the representation of the visual field and corresponds to an increase in peripheral vision of approximately 10%. By contradistinction, some mutations as the ephrin deletion have been shown to completely disorganize the retinotopic map of V1 (Cang et al 2008, Willshaw 2006). Our findings could indicate a poor versus strong processing of the peripheral vision in M1-KO and M2/M4-KO, respectively. In wild-type animals, the peripheral vision is mostly modulated by suppression of the peripheral inputs within the cortex (Palmer & Rosa 2006, Rosa & Tweedale 2004), although filtering of central versus peripheral inputs might also be exerted to a certain extent at the level of the retina or geniculate body. M1 mAChRs are

involved in the facilitation of thalamic inputs (Amar et al 2010, Soma et al 2012), thus their deletion can result in increasing the suppression of thalamic inputs involved in peripheral vision in the ventrodorsal axis. The better peripheral vision in M2/M4-KO might result from an increase of the weight of peripheral visual stimuli processing due to M2/M4 mAChRs deletion-induced dysregulation of the GABAergic inhibitory drive (see below). In WT animals, stimulation of M2 muscarinic transmission would thus reduce peripheral vision, which supports a role of ACh in focussed attention, in which central vision is prioritized. The lack of involvement of M3 mAChR in central vs. peripheral vision processing could arise from the fact that M3 is less abundant than M1 in V1 (Levey et al 1991a) and also from compensation mechanisms. When M1 is deleted, ACh seems to have more affinity for M2 and M4 than M3 (Lazareno & Birdsall 1995) but the deletion of a particular mAChR does not have an important impact over the expression of the other mAChRs (for review, see Wess 2004).

II.5.2 Muscarinic receptors influence on the neuronal connectivity of V1

The principal effect of M2 and M4 mAChRs deletion is an increase of the scatter dispersion of the retinotopic maps, which indicates an involvement of these receptors in the neuronal connectivity within V1 or in the retinothalamic connections. A strong scatter thus indicates a relative overlap between cortical neurons receptive field or a bad transition between the retinotopic specific population of cells and thus an imprecision of the retinotopy (Cang et al 2008). The size of the population receptive field of V1 neurons does not appear to be changed by M2/M4 deletion, thus the imprecision of the retinotopy is likely related to changes in the synaptic contacts within intracortical circuitry. The response of a V1 neuron to a stimulus in the surround of its receptive field might be due to (1) the divergence of projections of the thalamocortical inputs, which can account for stimuli up to 2 mm away from the receptor field, (2) long-range horizontal connections within layer 2/3, via both excitatory and inhibitory cells and (3) feedback control from higher cortical areas which would mediate modulation from the far surround (Series et al 2003). Thus, the overlap of receptive field as suggested by our results could be due to the action of the M2 or M4 mAChRs on divergent thalamocortical inputs or on intracortical horizontal connections.

Two mechanisms of action mediated by M2 or M4 mAChRs might be involved in these processes: the control of ACh release or of the GABAergic inhibitory drive. Vesicular ACh release is decreased by M2 mAChRs (Rouse et al 1999) located on cholinergic axons (Disney et al 2006b, Mrzljak et al 1996, Zhang et al 2002). To the other hand M4 mAChRs generally reduces the excitatory drive through a presynaptic mechanism (Kimura & Baughman 1997). In consequence, M2/M4 deletion most probably produces a prolonged cortical ACh release resulting in increased activation of V1 pyramidal neurons or stellate cells and increased excitatory drive. In disagreement with increased release of ACh in M2/M4-KO inducing an overlap of the RFs, high level of ACh is usually associated with (1) suppression of the spread of thalamocortical activation in rats (Kimura et al 1999) and human (Silver et al 2008b), probably mediated by M1 mAChR on intracortical connections and (2) reduction of RFs in V1 (Roberts et al 2005). Thus, the above-mentioned studies suggest that M2 and M4 receptors might rather be involved in the modulation of RFs through other pathways than the regulation of ACh extracellular levels. GABAergic neurons have been shown to exert a strong regulation of neuronal activity, lateral connectivity within V1 (Chattopadhyaya et al 2007, Hagihara & Ohki 2013, Series et al 2003, Sillito 1975, Sillito 1977, Yazaki-Sugiyama et al 2009). M2 and M4 receptors have been evidenced on certain types of GABAergic neurons and terminals in V1 (Disney & Aoki 2008, Disney et al 2006b, Levey et al 1991a) and induce the decrease of the GABA release (Erisir et al 2001, Salgado et al 2007b) and of the inhibitory drive (Disney et al 2006b, Thiele 2013). M2 and M4 mAChR absence in M2/M4-KO could thus increase the weight of the lateral propagation of the thalamic inputs by relief of the GABAergic inhibitory drive.

II.5.3 Muscarinic receptors influence on the function of the V1 neurons

M2 mAChR deletion had no impact on the extent of V1 neurons RFs, whereas M1 and M3 mAChRs deletion caused an increase in pRF size. This is in agreement with a study showing that ACh is involved in modification and organization of the RFs in the somatosensory cortex (Delacour et al 1990). Moreover, the local administration of ACh or mAChRs agonists modifies RF properties of V1 neurons (Greuel et al 1988). Cortical RFs are formed by precise thalamocortical projections (Buonomano & Merzenich 1998) and are modulated by intracortical

connections (Series et al 2003). It has been demonstrated that pre-synaptic activation of M1 mAChR reduces inhibitory lateral connections in the visual cortex (Kimura & Baughman 1997). The properties of V1 neurons - contrast function and optimal spatial frequency - are altered in M1- and M1/M3-KO mice, indicating that these receptors play an important role in visual stimulus detectability. Our findings corroborate previous studies showing modulation of neuronal properties in V1 by ACh as recently reviewed (Soma et al 2013a, Thiele 2013). Contribution of the mAChR on contrast sensitivity has been shown in adult tree shrew, where administration of a muscarinic agonist produced an increase of the contrast response (Bhattacharyya et al 2012). Contrast adaptation has been reported in neurons of V1 (Movshon & Lennie 1979) and stimulation of the basal forebrain produces a decrease of contrast sensitivity in V1 (Bhattacharyya et al 2013) suggesting that contrast sensitivity changes seen in the M1/M3 mAChRs KO mice could be due to mechanisms in V1 rather than other levels of the visual hierarchy. However, as the retina expresses the five subtypes of mAChRs (Gericke et al 2011) and is strongly involved in contrast adaptation, one could not exclude that contrast adaptation could also be regulated at this first level of the visual pathway (Baccus & Meister 2002). In V1, the reduction of the contrast sensitivity could be related to the inhibitory function of M1/M3 mAChRs in corticocortical connections and the propagation of thalamocortical inputs through lateral connexions in V1 (Kimura and Baughman, 1997, Kimura et al., 1999, Soma et al., 2013). As previously mentioned, the reduction of the optimal spatial frequency in KO mice might also be due to V1 mechanisms and a larger overlap of the receptive fields, decreasing the fine discrimination of high spatial frequency stimuli. This modulation of the spatial frequency discrimination corroborates a previous study showing a contribution of the cholinergic system in visual discrimination capacity (Kang et al 2013).

II.5.4 Muscarinic receptors influence on the development and maturation of V1

The neuromodulatory effects observed in the present study are not solely due to the acute effects of mAChRs inhibition as a selective pharmacological antagonist would do, but most probably to adaptation or compensation of the neural tissue devoid of a specific mAChRs subtype during embryogenesis or maturation. The establishment of V1 retinotopy – axons

growth and neuronal migration - seems relatively preserved throughout the visual pathway since the volume and shape of V1 are constant in the different lines of mice. In contrast, mAChRs seems involved in fine tuning of the visual function, i.e. optimal spatial frequency and precision of the connectivity. Thalamocortical mapping occurs during the first post-natal week (Cang et al 2005b) and refinement and pruning of thalamocortical projections mostly occurs during maturation and critical period which starts at the third post-natal week and ends at the fifth one (Fagiolini et al 1994). The pattern of the cholinergic innervation of the occipital cortex is already established at this timing (Mechawar et al 2000) with a great density of mAChRs (Aubert et al 1996). During this period, LTP and LTD mechanisms drive the consolidation of the most used synapses (Hensch 2005a) and are altered in mAChRs KO mice (M1-KO, M1/M3-KO and M2/M4-KO) (Origlia et al 2006b). Thus, the involvement of the muscarinic modulation of the visual connectivity most probably occurs during maturation of the visual cortex, rather than during development. In support of this idea, the density of cholinergic varicosities – an index of neuronal activity (Zhang et al 2011) - in V1 was identical amongst the different groups of mice suggesting that the absence of mAChRs does not induce structural changes in cholinergic innervation patterns.

II.6 Conclusion

This study demonstrates that mAChRs are mandatory for proper functioning of the visual cortex and post-natal maturation. This involvement of the mAChRs in visual neurons properties add to the function of ACh in controlling response gain by mAChRs and in attentional or learning processes in V1. Our study suggests that M2 and M4 mAChRs influence the precision of the representation of the visual world since the visual field is increased and the scatter index is decreased. It further indicates that M1 and M3 mAChRs are involved in the basic characteristics of V1 given that the visual field, the estimated pRFs and the neuronal sensitivity are changed in M1/M3 KO mice. Thus, the present study may lead to further research on the effectiveness of cholinergic pharmacological treatment to potentiate processing of visual information in the visual cortex.

II.7 Acknowledgments

Grant sponsor: Canadian Institute for Health Research; Grant number: MOP-111003 (EV). Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada; Grant number: 238835-2011 (EV). Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada; Grant number: 194670 (CC). MG received financial support from the School of Optometry and FRSQ Vision Research Network. Authors are thankful to Dr Sébastien Thomas for providing expert advices for optical imaging data analysis and critical review of the paper.

II.8 References

- Amar M, Lucas-Meunier E, Baux G, Fossier P (2010) Blockade of different muscarinic receptor subtypes changes the equilibrium between excitation and inhibition in rat visual cortex. *Neuroscience* 169:1610-1620.
- Aubert I, Cecyre D, Gauthier S, Quirion R (1996) Comparative ontogenic profile of cholinergic markers, including nicotinic and muscarinic receptors, in the rat brain. *J Comp Neurol* 369:31-55.
- Baccus SA, Meister M (2002) Fast and slow contrast adaptation in retinal circuitry. *Neuron* 36:909-919.
- Bear MF, Singer W (1986) Modulation of visual cortical plasticity by acetylcholine and noradrenaline. *Nature* 320:172-176.
- Bhattacharyya A, Biessmann F, Veit J, Kretz R, Rainer G (2012) Functional and laminar dissociations between muscarinic and nicotinic cholinergic neuromodulation in the tree shrew primary visual cortex. *The European journal of neuroscience* 35:1270-1280.
- Bhattacharyya A, Veit J, Kretz R, Bondar I, Rainer G (2013) Basal forebrain activation controls contrast sensitivity in primary visual cortex. *BMC Neurosci* 14:55.
- Buonomano DV, Merzenich MM (1998) Cortical plasticity: from synapses to maps. *Annual review of neuroscience* 21:149-186.
- Cang J, Kaneko M, Yamada J, Woods G, Stryker MP, Feldheim DA (2005a) Ephrin-as guide the formation of functional maps in the visual cortex. *Neuron* 48:577-589.
- Cang J, Renteria RC, Kaneko M, Liu X, Copenhagen DR, Stryker MP (2005b) Development of precise maps in visual cortex requires patterned spontaneous activity in the retina. *Neuron* 48:797-809.
- Cang J, Wang L, Stryker MP, Feldheim DA (2008) Roles of ephrin-as and structured activity in the development of functional maps in the superior colliculus. *J Neurosci* 28:11015-11023.
- Carandini M, Sengpiel F (2004) Contrast invariance of functional maps in cat primary visual cortex. *J Vis* 4:130-143.
- Caulfield MP, Birdsall NJ (1998) International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol Rev* 50:279-290.

- Chattopadhyaya B, Di Cristo G, Wu CZ, Knott G, Kuhlman S, Fu Y, Palmiter RD, Huang ZJ (2007) GAD67-mediated GABA synthesis and signaling regulate inhibitory synaptic innervation in the visual cortex. *Neuron* 54:889-903.
- Collier B, Mitchell JF (1966) The central release of acetylcholine during stimulation of the visual pathway. *J Physiol* 184:239-254.
- Delacour J, Houcine O, Costa JC (1990) Evidence for a cholinergic mechanism of "learned" changes in the responses of barrel field neurons of the awake and undrugged rat. *Neuroscience* 34:1-8.
- Disney AA, Aoki C (2008) Muscarinic acetylcholine receptors in macaque V1 are most frequently expressed by parvalbumin-immunoreactive neurons. *The Journal of comparative neurology* 507:1748-1762.
- Disney AA, Domakonda KV, Aoki C (2006) Differential expression of muscarinic acetylcholine receptors across excitatory and inhibitory cells in visual cortical areas V1 and V2 of the macaque monkey. *The Journal of comparative neurology* 499:49-63.
- Dotigny F, Ben Amor AY, Burke M, Vaucher E (2008) Neuromodulatory role of acetylcholine in visually-induced cortical activation: behavioral and neuroanatomical correlates. *Neuroscience* 154:1607-1618.
- Drager UC (1975) Receptive fields of single cells and topography in mouse visual cortex. *The Journal of comparative neurology* 160:269-290.
- Dringenberg HC, Hamze B, Wilson A, Speechley W, Kuo MC (2007) Heterosynaptic facilitation of in vivo thalamocortical long-term potentiation in the adult rat visual cortex by acetylcholine. *Cerebral cortex* 17:839-848.
- Duttaroy A, Gomeza J, Gan JW, Siddiqui N, Basile AS, Harman WD, Smith PL, Felder CC, Levey AI, Wess J (2002) Evaluation of muscarinic agonist-induced analgesia in muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Molecular pharmacology* 62:1084-1093.
- Elhousseiny A, Cohen Z, Olivier A, Stanimirovic DB, Hamel E (1999) Functional acetylcholine muscarinic receptor subtypes in human brain microcirculation: identification and cellular localization. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 19:794-802.
- Erisir A, Levey AI, Aoki C (2001) Muscarinic receptor M(2) in cat visual cortex: laminar distribution, relationship to gamma-aminobutyric acidergic neurons, and effect of cingulate lesions. *J Comp Neurol* 441:168-185.
- Fagiolini M, Pizzorusso T, Berardi N, Domenici L, Maffei L (1994) Functional postnatal development of the rat primary visual cortex and the role of visual experience: dark rearing and monocular deprivation. *Vision Res* 34:709-720.
- Frostig RD, Lieke EE, Ts'o DY, Grinvald A (1990) Cortical functional architecture and local coupling between neuronal activity and the microcirculation revealed by in vivo high-resolution optical imaging of intrinsic signals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:6082-6086.
- Gericke A, Sniatecki JJ, Goloborodko E, Steege A, Zavaritskaya O, Vetter JM, Grus FH, Patzak A, Wess J, Pfeiffer N (2011) Identification of the muscarinic acetylcholine receptor subtype mediating cholinergic vasodilation in murine retinal arterioles. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52:7479-7484.
- Gil Z, Connors BW, Amitai Y (1997) Differential regulation of neocortical synapses by neuromodulators and activity. *Neuron* 19:679-686.

- Greuel JM, Luhmann HJ, Singer W (1988) Pharmacological induction of use-dependent receptive field modifications in the visual cortex. *Science* 242:74-77.
- Grinvald A, Lieke E, Frostig RD, Gilbert CD, Wiesel TN (1986) Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals. *Nature* 324:361-364.
- Gundersen HJ, Jensen EB, Kieu K, Nielsen J (1999) The efficiency of systematic sampling in stereology--reconsidered. *J Microsc* 193:199-211.
- Hagihara KM, Ohki K (2013) Long-term down-regulation of GABA decreases orientation selectivity without affecting direction selectivity in mouse primary visual cortex. *Frontiers in neural circuits* 7:28.
- Hamel E (2004) Cholinergic modulation of the cortical microvascular bed. *Prog Brain Res* 145:171-178.
- Hensch TK (2005) Critical period mechanisms in developing visual cortex. *Current topics in developmental biology* 69:215-237.
- Herrero JL, Roberts MJ, Delicato LS, Gieselmann MA, Dayan P, Thiele A (2008) Acetylcholine contributes through muscarinic receptors to attentional modulation in V1. *Nature* 454:1110-1114.
- Heynen AJ, Bear MF (2001) Long-term potentiation of thalamocortical transmission in the adult visual cortex in vivo. *J Neurosci* 21:9801-9813.
- Hillman EM, Devor A, Bouchard MB, Dunn AK, Krauss GW, Skoch J, Bacskai BJ, Dale AM, Boas DA (2007) Depth-resolved optical imaging and microscopy of vascular compartment dynamics during somatosensory stimulation. *Neuroimage* 35:89-104.
- Kalatsky VA (2009) Fourier Approach for Functional Imaging. In: Frostig RD, editor. *In Vivo Optical Imaging of Brain Function*. 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press. Chapter 10.
- Kalatsky VA, Stryker MP (2003) New paradigm for optical imaging: temporally encoded maps of intrinsic signal. *Neuron* 38:529-545.
- Kang JI, Groleau M, Dotigny F, Giguere H, Vaucher E (2013) Visual training paired with electrical stimulation of the basal forebrain improves orientation-selective visual acuity in the rat. *Brain Struct Funct*.
- Kang JI, Vaucher E (2009) Cholinergic pairing with visual activation results in long-term enhancement of visual evoked potentials. *PLoS ONE* 4:e5995.
- Kimura F, Baughman RW (1997) Distinct muscarinic receptor subtypes suppress excitatory and inhibitory synaptic responses in cortical neurons. *Journal of neurophysiology* 77:709-716.
- Kimura F, Fukuda M, Tsumoto T (1999) Acetylcholine suppresses the spread of excitation in the visual cortex revealed by optical recording: possible differential effect depending on the source of input. *The European journal of neuroscience* 11:3597-3609.
- Laplante F, Morin Y, Quirion R, Vaucher E (2005) Acetylcholine release is elicited in the visual cortex, but not in the prefrontal cortex, by patterned visual stimulation: a dual in vivo microdialysis study with functional correlates in the rat brain. *Neuroscience* 132:501-510.
- Lawrence JJ (2008) Cholinergic control of GABA release: emerging parallels between neocortex and hippocampus. *Trends Neurosci* 31:317-327.
- Lazareno S, Birdsall NJ (1995) Detection, quantitation, and verification of allosteric interactions of agents with labeled and unlabeled ligands at G protein-coupled receptors: interactions

- of strychnine and acetylcholine at muscarinic receptors. *Molecular pharmacology* 48:362-378.
- Lecrux C, Toussay X, Kocharyan A, Fernandes P, Neupane S, Levesque M, Plaisier F, Shmuel A, Cauli B, Hamel E (2011) Pyramidal neurons are "neurogenic hubs" in the neurovascular coupling response to whisker stimulation. *J Neurosci* 31:9836-9847.
- Levey AI, Kitt CA, Simonds WF, Price DL, Brann MR (1991) Identification and localization of muscarinic acetylcholine receptor proteins in brain with subtype-specific antibodies. *J Neurosci* 11:3218-3226.
- McCormick DA, Prince DA (1985) Two types of muscarinic response to acetylcholine in mammalian cortical neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82:6344-6348.
- Mechawar N, Cozzari C, Descarries L (2000) Cholinergic innervation in adult rat cerebral cortex: a quantitative immunocytochemical description. *The Journal of comparative neurology* 428:305-318.
- Mouton PR, Gokhale AM, Ward NL, West MJ (2002) Stereological length estimation using spherical probes. *Journal of microscopy* 206:54-64.
- Movshon JA, Lennie P (1979) Pattern-selective adaptation in visual cortical neurones. *Nature* 278:850-852.
- Mrzljak L, Levey AI, Rakic P (1996) Selective expression of m2 muscarinic receptor in the parvocellular channel of the primate visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93:7337-7340.
- Murphy PC, Sillito AM (1991) Cholinergic enhancement of direction selectivity in the visual cortex of the cat. *Neuroscience* 40:13-20.
- Origlia N, Kuczewski N, Aztiria E, Gautam D, Wess J, Domenici L (2006) Muscarinic acetylcholine receptor knockout mice show distinct synaptic plasticity impairments in the visual cortex. *The Journal of physiology* 577:829-840.
- Palmer SM, Rosa MG (2006) A distinct anatomical network of cortical areas for analysis of motion in far peripheral vision. *Eur J Neurosci* 24:2389-2405.
- Paxinos, Franklin (2012) *Paxinos and Franklin's the Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*, 4th Edition: Academic Press.
- Prusky GT, Shaw C, Cynader MS (1987) Nicotine receptors are located on lateral geniculate nucleus terminals in cat visual cortex. *Brain Res* 412:131-138.
- Roberson ED, English JD, Adams JP, Selcher JC, Kondratieff C, Sweatt JD (1999) The mitogen-activated protein kinase cascade couples PKA and PKC to cAMP response element binding protein phosphorylation in area CA1 of hippocampus. *J Neurosci* 19:4337-4348.
- Roberts MJ, Zinke W, Guo K, Robertson R, McDonald JS, Thiele A (2005) Acetylcholine dynamically controls spatial integration in marmoset primary visual cortex. *Journal of neurophysiology* 93:2062-2072.
- Rosa MGP, Tweedale R (2004) Maps of the visual field in the cerebral cortex of primates: Functional organization and significance. . In: *The Primate Visual System*(Kaas, J. H. C., C.E., ed), pp 261–288: CRC Press.
- Rouse ST, Marino MJ, Potter LT, Conn PJ, Levey AI (1999) Muscarinic receptor subtypes involved in hippocampal circuits. *Life sciences* 64:501-509.
- Salgado H, Bellay T, Nichols JA, Bose M, Martinolich L, Perrotti L, Atzori M (2007) Muscarinic M2 and M1 receptors reduce GABA release by Ca²⁺ channel modulation through activation of PI3K/Ca²⁺ -independent and PLC/Ca²⁺ -dependent PKC. *Journal of neurophysiology* 98:952-965.

- Sato H, Hata Y, Masui H, Tsumoto T (1987) A functional role of cholinergic innervation to neurons in the cat visual cortex. *Journal of neurophysiology* 58:765-780.
- Schuett S, Bonhoeffer T, Hubener M (2002) Mapping retinotopic structure in mouse visual cortex with optical imaging. *J Neurosci* 22:6549-6559.
- Series P, Lorenceau J, Fregnac Y (2003) The "silent" surround of V1 receptive fields: theory and experiments. *J Physiol Paris* 97:453-474.
- Sillito AM (1975) The contribution of inhibitory mechanisms to the receptive field properties of neurones in the striate cortex of the cat. *J Physiol* 250:305-329.
- Sillito AM (1977) The spatial extent of excitatory and inhibitory zones in the receptive field of superficial layer hypercomplex cells. *J Physiol* 273:791-803.
- Silver MA, Shenhav A, D'Esposito M (2008) Cholinergic Enhancement Reduces Spatial Spread of Visual Responses in Human Early Visual Cortex. *Neuron* 60:904-914.
- Soma S, Shimegi S, Osaki H, Sato H (2012) Cholinergic modulation of response gain in the primary visual cortex of the macaque. *J Neurophysiol* 107:283-291.
- Soma S, Shimegi S, Suematsu N, Sato H (2013) Cholinergic modulation of response gain in the rat primary visual cortex. *Scientific reports* 3:1138.
- Thiele A (2013) Muscarinic signaling in the brain. *Annual review of neuroscience* 36:271-294.
- Ts'o DY, Frostig RD, Lieke EE, Grinvald A (1990) Functional organization of primate visual cortex revealed by high resolution optical imaging. *Science* 249:417-420.
- Vanni MP, Provost J, Lesage F, Casanova C (2010) Evaluation of receptive field size from higher harmonics in visuotopic mapping using continuous stimulation optical imaging. *J Neurosci Methods* 189:138-150.
- Vanzetta I, Grinvald A (1999) Increased cortical oxidative metabolism due to sensory stimulation: implications for functional brain imaging. *Science* 286:1555-1558.
- Vanzetta I, Grinvald A (2008) Coupling between neuronal activity and microcirculation: implications for functional brain imaging. *HFSP journal* 2:79-98.
- Volpicelli LA, Levey AI (2004) Muscarinic acetylcholine receptor subtypes in cerebral cortex and hippocampus. *Prog Brain Res* 145:59-66.
- Wess J (2004) Muscarinic acetylcholine receptor knockout mice: novel phenotypes and clinical implications. *Annual review of pharmacology and toxicology* 44:423-450.
- West MJ, Slomianka L, Gundersen HJ (1991) Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat Rec* 231:482-497.
- Willshaw D (2006) Analysis of mouse EphA knockins and knockouts suggests that retinal axons programme target cells to form ordered retinotopic maps. *Development* 133:2705-2717.
- Wong AA, Brown RE (2006) Visual detection, pattern discrimination and visual acuity in 14 strains of mice. *Genes Brain Behav* 5:389-403.
- Yamada M, Lamping KG, Duttaroy A, Zhang W, Cui Y, Bymaster FP, McKinzie DL, Felder CC, Deng CX, Faraci FM, Wess J (2001) Cholinergic dilation of cerebral blood vessels is abolished in M(5) muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:14096-14101.
- Yazaki-Sugiyama Y, Kang S, Cateau H, Fukai T, Hensch TK (2009) Bidirectional plasticity in fast-spiking GABA circuits by visual experience. *Nature* 462:218-221.
- Zhang W, Basile AS, Gomez J, Volpicelli LA, Levey AI, Wess J (2002) Characterization of central inhibitory muscarinic autoreceptors by the use of muscarinic acetylcholine receptor knock-out mice. *J Neurosci* 22:1709-1717.

- Zhang ZW, Kang JI, Vaucher E (2011) Axonal varicosity density as an index of local neuronal interactions. PLoS One 6:e22543.
- Zinke W, Roberts MJ, Guo K, McDonald JS, Robertson R, Thiele A (2006) Cholinergic modulation of response properties and orientation tuning of neurons in primary visual cortex of anaesthetized Marmoset monkeys. The European journal of neuroscience 24:314-328.

II.9 Figures

Figure II.1 Topographic maps and functional organization of V1 using optical intrinsic signal imaging.

A. For OIS assessment, an imaging chamber is placed over the skull of the animal. B. Vasculature pattern of the brain as assessed with 545 nm illumination. V1 is represented (ovals). C. Schematic representation of continuous paradigm of visual stimulation: a bar was shifted along elevation and azimuth at 0.1 or 0.2 Hz. The pseudocolor scale represents the degree of visual field stimulated (π to 2π) D. Schematic representation of episodic full-field sine wave gratings stimulation. The screen was placed in front of the animal. E. Representative maps obtained using OIS. Top panel: “neuronal activation” map along elevation (left) and azimuth (right). Middle panel: color-coded “visual field position” map along elevation (left) and azimuth (right). Bottom panel: “retinotopic” map along elevation (left) and azimuth (right). The retinotopic map is the combination of the grey scale color coded responses magnitude map (top) and color-coded phase map (middle). See text for details. Scale bar = 50 pixels. A: Anterior, P: Posterior, M: Medial, L: Lateral.

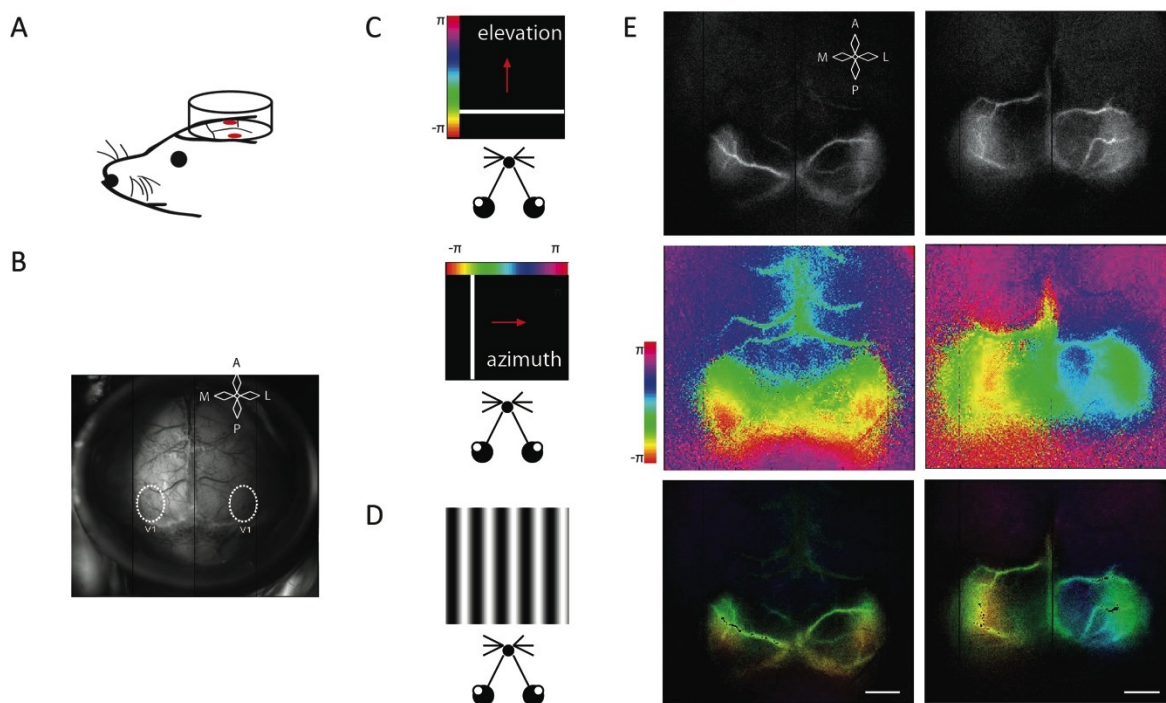


Figure II.2 Surface and shape of the visual cortex in mAChR-KO and wild type mice.

A. Left. Responsive visual area fitted with an ellipse. **Right.** Graphical representation of different values of the ovality index of V1. The two main axes were measured on the delimited V1. The ovality index was calculated from the ratio height/width (H/W). **B.** Histograms of the surface of V1 (mm²) in the different groups. The surface was not statistically changed between the mAChR-KO compared to their wild type mice. **C.** Ovality index measurement. No statistical changes were seen between the mAChR-KO compared to their controls. Error bars represent \pm s.e.m.

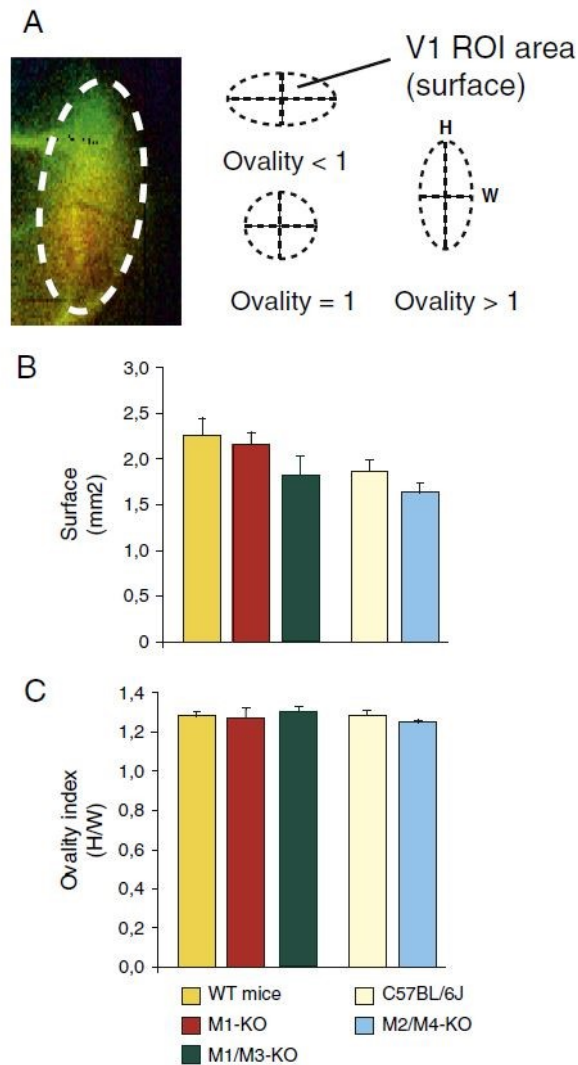


Figure II.3 Evaluation of the scatter index.

A. Representative visual field position map of C57BL/6J (left) and M2/M4-KO (right) showing the increased scatter in V1 of M2/M4-KO, which corresponds to a larger overlap between LGN projections. Bottom: representation of the overlap of the color-coded projections of the LGN of a low scatter index vs. a high scatter index. **B.** Histograms of the scatter index values of V1 in the different groups (deg) along the elevation axis. No statistical changes occurred between M1/M3-KO, M1-KO or M2/M4-KO mice compared to their wild type mice. **C.** Histograms of the scatter index of V1 along the azimuth axis. M2/M4- KO mice showed an increase of the scatter index compared to their wild type but no statistical changes occurred between M1/M3-KO or M1-KO compared to their wild type. Error bars represent \pm s.e.m.

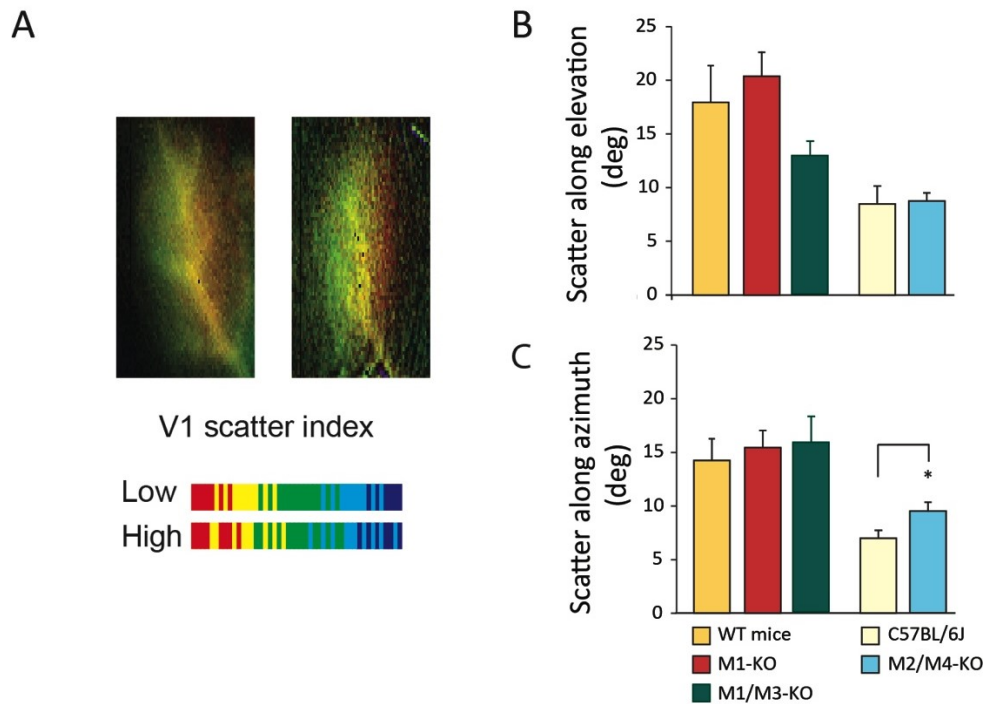


Figure II.4 Sensitive properties of V1 and apparent visual field.

A. Graphical representation of the apparent visual field of V1 in the different groups along elevation. M1/M3-KO and M2/M4-KO mice showed respectively a decreased and an increase of the apparent visual field compared to their control. **B.** Representation of the apparent visual field of V1 in the different groups along azimuth. M2/M4-KO mice showed an increased apparent visual field compared to their controls. **C.** Measurement of the optimal spatial frequency. For M1/M3-KO mice, the optimal spatial frequency was decreased compared to their wild-types. No statistical changes are observed between M2/M4-KO mice and their wild-types. **D.** Measurement of the contrast sensitivity (C50). Both M1/M3-KO and M1-KO mice showed an increased contrast evoking 50% of the maximal response. No statistical changes were seen between M2/M4-KO mice compared to their wild-types. **E.** Representation of averaged the hemodynamic responses of V1 for M1-KO, M1/M3-KO and their controls. **F.** Representation of the hemodynamic responses of V1 between M2/M4-KO mice and their controls. Error bars represent \pm s.e.m.

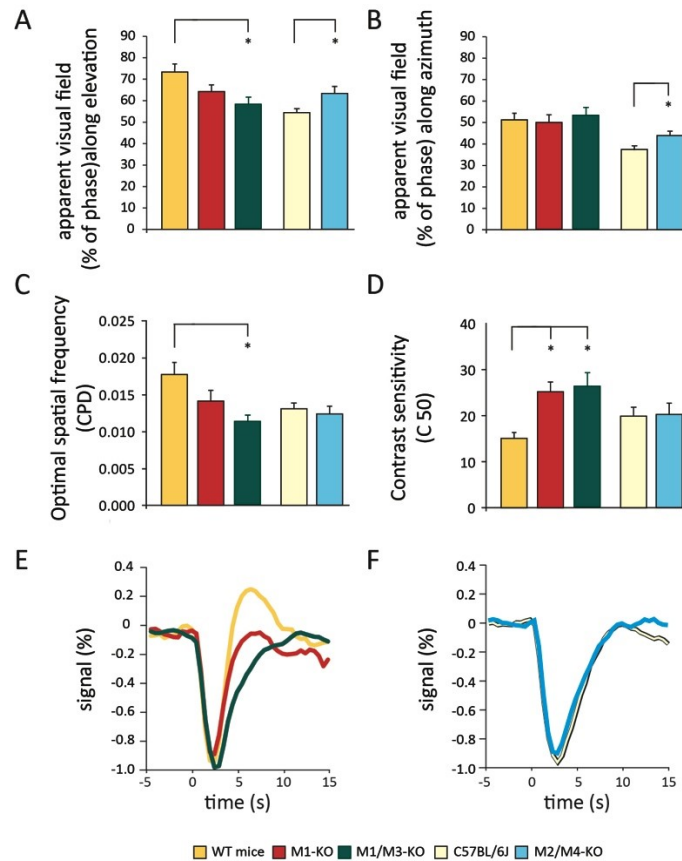


Figure II.5 Population receptive field index of mAChR-KO and wild type mice.

A. Schematic representation of the population receptive field. Fourier transform of a visual response following a 10 min continuous stimulation of a drifting bar where the first (H1) and second (H2) harmonic are visible. The index of receptive field is the measure of the ratio of the second over the first harmonic of the signal. It is inversely proportional to the size of pRF (see text for details). **B.** Graphic representation of the index of the pRF size along elevation in the different groups. The ratio H2/H1 is decreased between the M1/M3-KO compared to their wild type mice. **C.** Graphic representation of the index of the pRF size along azimuth. The ratio H2/H1 is decreased in both M1-KO and M1/M3-KO compared to their wild types. This suggests that the size of pRF is increased in M1-KO and M1/M3-KO. Error bars represent \pm s.e.m.

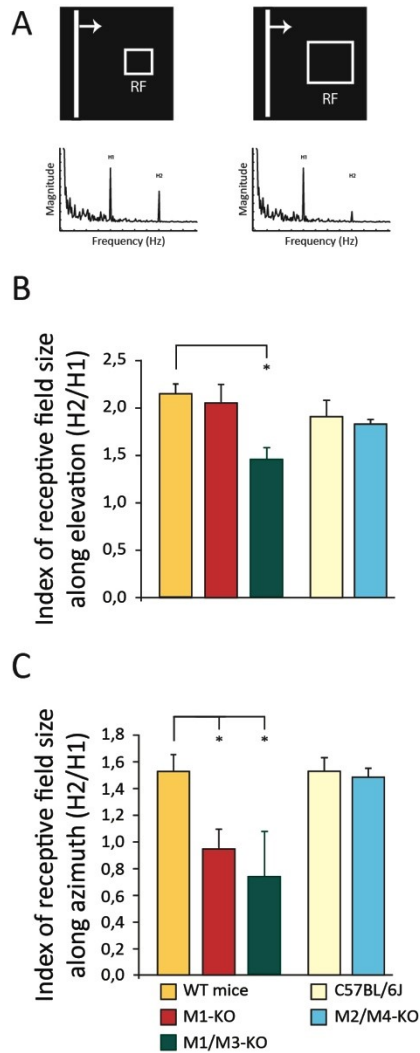
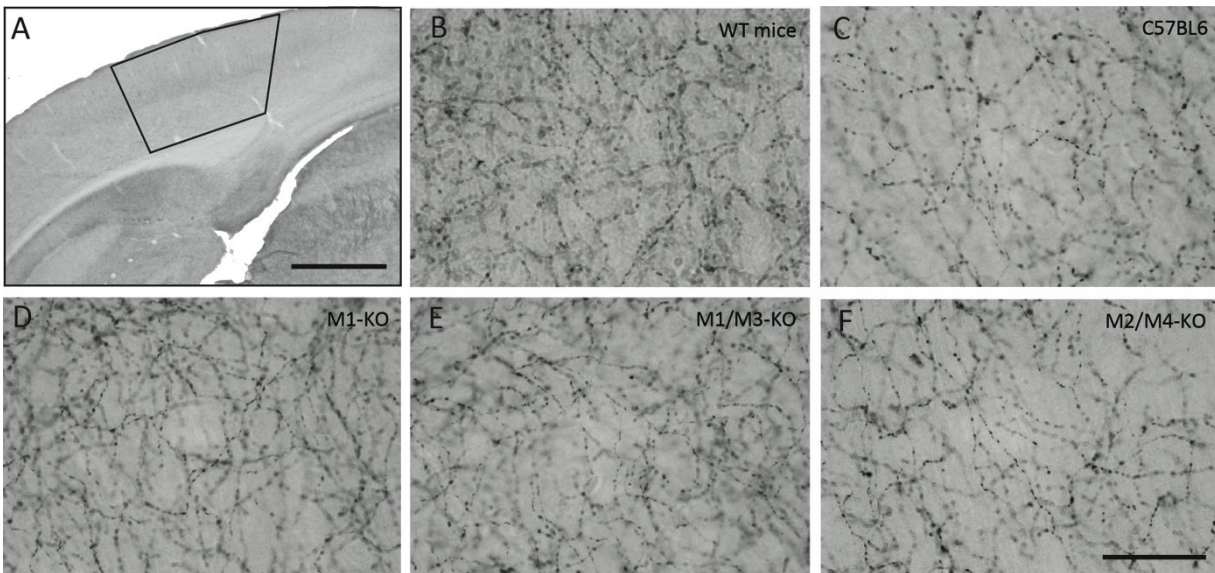


Figure II.6 Microphotographs of cholinergic fibres and varicosities in V1 of the different mice.

A. 10 x photograph of the selected region encompassing V1M and V1B. Anteriority - 3.80 mm from Bregma. **B-F.** Representative ChAT-immunostained microphotographs of layer IV taken at 100 x. The cholinergic pattern of innervation as well as the morphology and quantity of cholinergic fibres and varicosities are visible. **B.** WT mice group **C.** C57BL/6J group **D.** M1-KO group **E.** M1/M3-KO group **F.** M2/M3-KO group. Scale bar = 300 μ m (A) 30 μ m (F).



II. 10 Table

Table II.1 Cholinergic fibres and varicosities density in the primary visual cortex of mAChR-KO and wild type mice

	Total punctae (x10 ⁵)	Total fibres (m)	Puncta density (10 ⁶ /mm ³)	Fibre density (m/mm ³)	Ratio Puncta/fibre
WT mice	4.85 ± 1.74	1.50 ± 0.26*	3.22 ± 0.85	10.12 ± 1.85**	0.32 ± 0.07
M1/M3-KO	5.84 ± 1.32	1.23 ± 0.16*	3.37 ± 0.75	7.10 ± 0.37**	0.49 ± 0.14
M1-KO	6.58 ± 2.32	1.63 ± 0.24*	3.37 ± 0.84	8.60 ± 1.85**	0.41 ± 0.16
C57BL6	5.01 ± 1.41	1.30 ± 0.34	2.69 ± 0.52	7.07 ± 1.44	0.39 ± 0.06
M2/M4-KO	4.66 ± 1.24	1.25 ± 0.13	2.54 ± 0.63	6.83 ± 0.64	0.38 ± 0.11

Values are mean ± SD. The first two columns (light grey) represent an estimation of the number of puncta and fibre length in the entire primary visual cortex ('total values' as stereological data). The two next columns (medium grey) represent the number of puncta and fibre length corrected for the volume of V1 ('density values'). The last column (dark grey) is the ratio of the puncta over the fiber length calculated for each animal, i.e. the distribution of the puncta along the fiber. See text for details.

*Kruskal-Wallis K=6.260, p=0.044.

**Kruskal-Wallis K=0.240, p=0.027.

Chapitre III : Deuxième article

Publié dans

Journal of Physiology, Paris. 110 (2016) 65-74

PMID: 27913166

Dose-dependent effect of donepezil administration on long-term enhancement of visually evoked potentials and cholinergic receptor overexpression in rat visual cortex.

Mira Chamoun*, **Marianne Groleau***, Menakshi Bhat and Elvire Vaucher[†]

*** MC and MG contributed equally to the work**

Laboratoire de Neurobiologie de la Cognition Visuelle, École d'optométrie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Contributions :

Marianne Groleau, Mira Chamoun et Elvire Vaucher ont conçu les expériences et ont interprété les résultats

Marianne Groleau et Mira Chamoun ont effectué les expériences

Marianne Groleau, Mira Chamoun ont analysé les résultats

Marianne Groleau, Mira Chamoun et Elvire Vaucher ont écrit le manuscrit

III.1 Abstract

Stimulation of the cholinergic system tightly coupled with periods of visual stimulation boosts the processing of specific visual stimuli via muscarinic and nicotinic receptors in terms of intensity, priority and long-term effect. However, it is not known whether more diffuse pharmacological stimulation with donepezil, a cholinesterase inhibitor, is an efficient tool for enhancing visual processing and perception. The goal of the present study was to potentiate cholinergic transmission with donepezil treatment (0.5 and 1 mg/kg) during a 2-week visual training to examine the effect on visually evoked potentials and to profile the expression of cholinergic receptor subtypes. The visual training was performed daily, 10 min a day, for 2 weeks. One week after the last training session, visual evoked potentials were recorded, or the mRNA expression level of muscarinic (M1-5) and nicotinic (α/β) receptors subunits was determined by quantitative RT-PCR. The visual stimulation coupled with any of the two doses of donepezil produced significant amplitude enhancement of cortical evoked potentials compared to pre-training values. The enhancement induced by the 1 mg/kg dose of donepezil was spread to neighboring spatial frequencies, suggesting a better sensitivity near the visual detection threshold. The M3, M4, M5 and $\alpha7$ receptors mRNA were upregulated in the visual cortex for the higher dose of donepezil but not the lower one, and the receptors expression was stable in the somatosensory (non-visual control) cortex. Therefore, higher levels of acetylcholine within the cortex sustain the increased intensity of the cortical response and trigger the upregulation of cholinergic receptors.

III.2 Introduction

Acetylcholine (ACh) influences visual processing as early as in the primary visual cortex (V1) through muscarinic (mAChRs) and nicotinic (nAChRs) ACh receptors (Kirkwood et al., 1999; Zinke et al., 2006; Disney et al., 2007; Bhattacharyya et al., 2012; Chubykin et al., 2013; Groleau et al., 2015). The different AChR subtypes induce a variety of effects that determine the weight of the visual stimulus for further processing to high-level visual areas. Thus, early ACh modulation of visual responses shapes conscious visual perception.

ACh is spontaneously released in V1 by visual stimulation (Collier and Mitchell, 1966b; Fournier et al., 2004; Laplante et al., 2005), but ACh release might be evoked by pharmacological treatment or electrical stimulation of the basalo-cortical cholinergic projections. Recent studies showed that electrically boosting the ACh release synchronized with visual stimulation enhanced visual responses (Kang and Vaucher, 2009; Bhattacharyya et al., 2013; Pinto et al., 2013). Moreover, the repeated cholinergic potentiation of visual training by electrical stimulation induced long-term changes in behaviorally assessed visual perception (Kang et al., 2014a). However, boosting the cholinergic system by pharmacological means is less invasive than electrical stimulation and could be better translated to clinics as a novel approach for vision rehabilitation, for example. Therefore, combining the pharmacological cholinergic potentiation with visual training would be an interesting avenue toward improving vision. Pharmacological stimulation has, however, a more diffuse spatiotemporal distribution than the timely synchronized visual/electrical stimulation coupling and it is not known if it would be as efficient in enhancing the visual responses.

Acetylcholinesterase inhibitors (AChEIs), such as donepezil (DPZ), have been demonstrated to enhance visual memory performance in rats in radial water maze and visuospatial recognition tasks (Cutuli et al., 2008) and to increase contrast sensitivity to a grating stimulus in a two-alternative forced choice-task (Wise et al., 2007; Soma et al., 2013b). These effects are also observed in rats with a cholinergic deficit where AChEIs improve cognitive performance on an avoidance task, therefore decreasing learning impairments on procedural abilities in the water maze (Cutuli et al., 2008) and working memory (Itoh et al., 1997; Wang and Tang, 1998; Ogura et al., 2000; Cutuli et al., 2009). AChEIs also change evoked potentials in humans (Leroy et al., 2015) and rats (Bringmann, 1994; Lewandowski and Zmuda, 1995), but it is not known by which mechanism V1 reactivity is affected.

Thus, the aim of the present study was to determine whether DPZ administration during repeated visual stimulation in rats could enhance visual evoked potentials (VEPs). DPZ was chosen because it is the most current and efficient AChEI drug used in clinics (Cacabelos, 2007). Two different doses of DPZ were tested, 0.5 and 1 mg/kg, to estimate a possible effect of different ACh extracellular concentrations, which might differentially alter cortical responses (Hasselmo and McGaughy, 2004) and determine the most efficient dose for future studies. We used a

paradigm similar to our previous studies (Kang et al., 2014a), i.e., a 2-week daily visual stimulation with a specific patterned stimulus paired with DPZ i.p. administration. The VEPs were recorded before and one week after the 2-week training. Moreover, we were interested to know whether the expression of the cholinergic receptor subtypes was differentially affected by DPZ treatment. The expression of the five mAChR subtypes and 4 of the main nAChR subunits were investigated because their contribution to different aspects of the modulation of the V1 neurons has been demonstrated (for review see (Disney et al., 2007; Thiele, 2013; Groleau et al., 2015)). The cholinergic receptor subtypes expression profile was evaluated by RT-PCR and compared to the basal mRNA expression of naïve animals. The results show a dose-dependent long-term enhancement of the visual cortical activity after the training and an upregulation of M3, M4 mAChR and $\alpha 7$ nAChR subtypes at the higher dose of DPZ.

III.3 Materials and methods

III.3.1 Animal preparation

All procedures were performed in accordance with the guidelines of the Canadian Council for the Protection of Animals and were accepted by the Ethics Committee of the Université de Montréal (#14–164). A total of 49 adult male Long Evans rats (200–225 g) were used in this study. The male rats were used in order to avoid any impact of estrogen on cholinergic activity. The animals were maintained in a 12 h light/dark normal daylight cycle with ad libitum access to food and water. The animals were separated in groups; visual stimulation with vehicle injection, saline i.p. (VS, n = 7 (VEP), n = 7 (PCR)), visual stimulation with 0.5 mg/kg DPZ i.p. injection (DPZ0.5/Vs, n = 6 (VEP), n = 6 (PCR)) and visual stimulation with 1 mg/kg DPZ i.p. injection (DPZ1/Vs, n = 7 (VEP), n = 10 (PCR)). Previous experiments did not show any effect of handling the animals (i.e., possible stress) during the sham visual training (Kang et al., 2014a, 2015) on VEPs, thus a sham-VS group was not added. VEP and PCR experiments were performed in different sets of animals, the cortical sampling being compromised by the electrophysiological recording in V1. In addition, naive animals (no

treatment, no visual stimulation; n = 6) were used in RT-PCR experiments to determine the basal level of expression of the cholinergic receptors genes at rest.

III.3.2 Donepezil treatment

DPZ (Sigma Aldrich, St-Louis, MO, USA) was dissolved in a sterile 0.9% NaCl solution. The drug was administered i.p. from a stock solution, daily for two weeks starting on the first day of visual training. The two doses tested, 0.5 mg/kg or 1 mg/kg, are commonly used for behavioral and physiological experiments and were chosen based on previous studies (Cutuli et al., 2008; Soma et al., 2013b) and on pilot experiments. DPZ was injected 30 min before the beginning of the exposure to the visual stimulus to reach the maximum effect of the drug (Soma et al., 2013a) during the stimulation. Control animals received the same treatment with saline injections.

III.3.3 Visual evoked potential recording procedures

Visual evoked potential (VEP) were recorded as described (Cooke and Bear, 2010; Kang et al., 2015) before and one week after the last visual training session in the same location (although the electrode was not chronically implanted, it was inserted at the same coordinates). Briefly, animals were anesthetized with isoflurane (induction 5%, maintenance 1.5%) and placed in a stereotaxic apparatus. Core body temperature was maintained at 37 °C using a thermostatic controlled heating pad (FHC, Bowdoinham, ME, USA). A hole adjusted to the diameter of the electrode was made in the skull with a dental drill to access V1 and a recording tungsten-electrode (FHC, <1 MOhm) was acutely inserted into the left hemisphere (mm from Bregma AP -7.5, ML +4.0, DV -0.5) (Paxinos et al., 1980). Rats were then maintained in the dark for the rest of the procedure. Eight different spatial frequencies (0.08, 0.12, 0.3, 0.5, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0 CPD) at two different orientations, 30° (the visual training orientation) and 120° (the orthogonal orientation) were presented in the right hemifield. Evoked responses were amplified (5000×), filtered at 3 Hz ~ 1 kHz (Grass Inc., West Warwick, RI, USA) and collected with the MP100 data acquisition system and Acqknowledge software (v 3.8; Biopac system Inc., Goleta, CA, USA). Signal amplitude was calculated by measuring peak-to-peak differences

between 0 and 500 ms after the stimulus onset. The baseline amplitude was measured during grey screen display. VEPs were expressed as the change from baseline (%) using the following equation

$$\text{Signal to baseline (percentage)} = \frac{(\text{signal amplitude} - \text{baseline amplitude})}{\text{baseline amplitude}} \times 100$$

VEP amplitudes were calculated by averaging change from baseline (%) of 40 repetitions of each orientation (30° and 120°) and the eight spatial frequencies. Cortical activation after 2 weeks of visual training was measured by comparing pre-training and post-training VEPs.

III.3.4 Visual training procedure

The same visual training as described previously (Kang et al., 2014a, 2015) was used in this study for comparison purposes. Briefly, awake rats were restrained and surrounded by three monitors at a distance of 21 cm: one frontal and two lateral (LG, luminance 37 cd/m²). The visual stimulus was chosen to examine the improvement of response to an orientation of poor saliency. Consequently, the optimal spatial frequency of this stimulus was voluntarily chosen to spare attentional resources for orientation detection. The stimulus consisted of a sine-wave grating of 0.12 cycle/degree, orientation 30°, phase converting at 1 Hz (Vpixx software, v 2.79, Vpixx technologies Inc., Saint-Bruno, QC, Canada). Rats were trained daily for 10 min for 14 consecutive days (Table 1). Each training session was performed at the same time of day for each rat.

III.3.5 Tissue sampling

One week after the last training session, which coincided with the day following the post-training VEP recording, rats were deeply anesthetized with isoflurane and sacrificed by decapitation. The brain was rapidly collected on a cold plate and a 2 mm² piece of the visual or somatosensory cortex (approximately Bregma AP -7 and -3 mm, respectively, and

ML \pm 2 mm) were dissected within 60 s with the help of a millimeter graduated ruler and put in RNAlater stabilization reagent (QIAGEN, Valencia, CA, USA) for 24–48 h. The somatosensory cortex was chosen as a control region of cortex since it is a sensory area with a similar cytoarchitecture, cholinergic innervation and identical cholinergic receptors (Aubert et al., 1996) but should not be affected by the visual training. Subsequently, supernatant was removed and samples were stored at -80°C until assayed.

III.3.6 Primer designing

The following reference genes representing different functional classes were selected: mAChR (M1-M5) and nAChR ($\alpha 4$, $\alpha 7$ and $\beta 2$). Primer design was performed with PRIMER3 (www.genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi) and VectorNTI software based on the NCBI (National Centre for Biotechnology Information) BLAST database (Table 2). Forward and reverse primers were positioned in different exons to reduce the chance of amplifying genomic DNA.

III.3.7 Measurement of cholinergic receptor expression by quantitative RT-PCR

Total RNA was extracted from the RNA later fixed visual cortex samples using Qiazol reagent and RNeasy®Lipid Tissue Mini Kit (QIAGEN, Valencia, CA, USA) according to manufacturer's protocol. RNA consistency was determined using a Nanodrop (ND-1000) measuring 260/280 and 260/230 ratios, respectively. A single-strand cDNA was synthesized with 250 ng of total RNA in a total reaction volume of 20 μl using the QuantiTect Rev Transcription Kit (Qiagen Toronto, On, Canada). After cDNA synthesis, a tenfold-diluted cDNA was used for the SYBR Green based real-time quantitative PCR reaction. The reaction contained 12.5 μl of 2 \times IQ Biotool SYBR Green (Biotool, Cedarlane, Montreal, QC, Canada), 200 nM of each primer (Table 2), 1 μl cDNA template and ultrapure water to a reaction volume of 25 μl . The qPCR reaction was performed on a Mx3000P Q-PCR System (Stratagene, La Jolla, CA, USA) with cycling conditions of 3 min at 95°C , followed by 45 cycles with denaturing template for 30 s at 95°C , followed by 1 min at melting temperature (T_m), and elongation at 72°C for 30 s. Both targeted and referenced genes were amplified in duplicate in

the same run. The relative quantification of target genes was determined using the MxPro™ Q-PCR software version 3.00 (Stratagene, La Jolla, CA, USA) where mRNA levels were normalized to 18S housekeeping gene expression levels. Briefly, the cycle threshold (Ct) average of each duplicate was calculated for each gene and 18S and the ΔCt (Ct_{gene}-Ct_{18S}) was determined. The relative quantification of gene expression was analyzed by the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method and normalized by respective 18S values (Livak and Schmittgen, 2001; Pouliot et al., 2012).

III.3.8 Statistical analyses

Non-parametric statistical analyses were calculated using SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The intragroup differences of pre-training and post-training visual cortical activity were determined by using the Wilcoxon Signed-Rank test. VEP amplitude (Post-Pre) comparisons between groups—VS, DPZ0.5/Vs and DPZ1/Vs—were performed using Kruskal-Wallis tests and post-hoc pairwise comparisons. For the PCR parameters, the comparison of the gene expression of the mAChR and nAChR (fold change) between the basal level (naive group) and VS, DPZ0.5/Vs or DPZ1/Vs were performed individually using the Kruskal-Wallis test and pairwise comparison was applied to compensate for multiple testing conditions. Although non-parametric statistics were used, bars graph representing mean \pm S.E.M. were used for clarity.

III.4 Results

III.4.1 Visual exposure without cholinergic enhancement does not alter the cortical responsiveness or the expression of cholinergic receptors

The averaged VEP amplitude was not altered by two weeks of visual exposure without pharmacological treatment (VS group) compared to pre-training data for any spatial frequency at 30° or 120° orientation (Fig. 1A). The expression of mAChR subtypes (M1-M5) or any nAChR subunits measured ($\alpha 4$, $\alpha 7$ and $\beta 2$) mRNA was not significantly changed in the VS

group compared to naive animals (Kruskal-Wallis, Fig. 2, see Table 3 for the significance p values) in both the visual and the somatosensory cortices. These results suggest that 2 weeks of repeated visual exposure (and animal handling) is not associated with a significant change in the cholinergic receptor expression and cortical reactivity.

III.4.2 Combined visual exposure and 0.5 mg/kg dose of donepezil increases the cortical visual response without any cholinergic receptor expression change

Two weeks of visual exposure combined with daily injection of 0.5 mg/kg DPZ, significantly increased VEP amplitude compared to pre-training for the trained orientation at 0.08 and 0.12 CPD spatial frequencies (Fig. 1B, Wilcoxon, $p = 0.028$). This effect was also observed for the 120° orientation for both 0.08 and 0.12 CPD (Fig. 1B, Wilcoxon, $p = 0.028$). The VEP amplitude at other spatial frequencies was not affected by the training. The VEP increase was not associated with a change in the expression of mAChR nor the nAChR mRNAs compared to the naive group or to the VS group (Fig. 2 and Table 3).

III.4.3 Combined visual exposure and 1 mg/kg dose of donepezil induces broader VEP effect and alters both muscarinic and nicotinic receptor expression

Two weeks of visual exposure combined with a daily injection of 1 mg/kg DPZ, significantly increased VEP amplitude compared to pre-training at 30° orientation not only for the trained spatial frequency 0.08 CPD and 0.12 CPD (Fig. 1C, Wilcoxon, $p = 0.028$ but also for higher spatial frequencies (0.3, 0.5 CPD) (Wilcoxon, $p = 0.018$, $p = 0.018$). In addition, at 120° orientation the DPZ1/VS group showed an increase in cortical activity for the trained frequency (Fig. 1C, Wilcoxon, $p = 0.018$), as well as higher frequencies (0.3, 0.5, 0.9 and 1 CPD), compared to pre-training recordings (Wilcoxon, $p = 0.018$, $p = 0.018$, $p = 0.043$, $p = 0.018$, respectively). Moreover, two weeks of visual training paired with 1 mg/kg of DPZ produced a significant increase in the expression of M3, M5 and $\alpha 7$ compared to naive animals (Fig. 2, Table 3) but not M1, M2, M4, $\alpha 4$ and $\beta 2$. Additionally, the expression of mRNA for all the cholinergic receptors at 1 mg/kg of DPZ was not different from the VS only group. The change in cholinergic receptor expression upon visual

training coupled to DPZ (1 mg/kg) was also evaluated in a non-visual area (somatosensory cortex) to assess the specificity of the changes observed. The expression of mAChR or nAChR subtypes was not significantly altered in this structure: M1 ($p = 0.872$); M2 ($p = 0.430$); M3 ($p = 0.570$); M4 ($p = 0.308$); M5 ($p = 0.061$); $\alpha 4$ ($p = 0.705$); $\alpha 7$ ($p = 0.702$) and $\beta 2$ ($p = 0.501$) (Fig. 2).

Intergroup comparisons demonstrated that the only significant change induced by 0.5 mg/kg DPZ in post-pre variation of VEP amplitude compared to VS group was seen for the trained orientation (30°) and the lowest spatial frequency of the stimulus (0.08 CPD) (Fig. 3, Kruskal-Wallis, $p = 0.020$). However, 1 mg/kg DPZ induced a significant increase of the VEP amplitude for 0.08, 0.12, 0.3 and 0.5 CPD, 30° orientation (Kruskal-Wallis: $p = 0.025$, $p = 0.015$, $p = 0.019$, $p = 0.015$, respectively) and for 0.08 and 0.12 CPD, 120° orientation (Kruskal-Wallis: $p = 0.003$, $p = 0.004$, respectively) compared to VS counterparts. This suggests that a higher dose of DPZ induces a spreading of the enhancement of cortical activity. In addition, the comparison of the treatments indicated a significant increase in the mRNA expression of mAChRs M3 and M4 in DPZ1/VS compared to DPZ0.5/VS as well as the $\alpha 7$ nAChR subunits (Fig. 2, Table 3). No significant differences between DPZ0.5/VS and DPZ1/VS were observed for M1, M2, M5, $\alpha 4$, $\beta 2$ mRNA expression. This suggests that the two doses of DPZ modulate the cholinergic receptor expression differently.

III.5 Discussion

In this study, we used DPZ administration combined with 2 weeks of daily visual training to improve long-term V1 reactivity. The profile of the mAChRs and nAChRs expression in V1 was also examined by measuring mRNA by RT-PCR at the end of the experiment. Doses of 0.5 or 1 mg/kg of DPZ induced a long-term increase of cortical VEPs compared to pre-training values which were not observed when the visual stimulation was performed without cholinergic enhancement. This increase was spread to neighboring spatial frequencies for the 1 mg/kg DPZ group. Additionally, an upregulation of M3, M4, M5 and $\alpha 7$ expression was observed in the DPZ1/VS group selectively in V1 (not in the somatosensory cortex, taken as a non-visual control sensory area). Together these results

indicate that the higher extracellular concentration of ACh induces long-term cortical hyper-reactivity and cholinergic receptors overexpression in V1 whereas the lower ACh concentration induces a more limited increase in the cortical responsiveness without any subsequent cholinergic receptor mRNA variation.

III.5.1 Dose-dependent effect of repetitive visual exposure combined with DPZ on functional activity

Two weeks of visual exposure alone was not sufficient to induce an increase in cortical reactivity to any of the tested spatial frequencies or orientations. This is consistent with previous studies showing no change of VEPs in the VS group in a similar visual training paradigm (Kang et al., 2014b, 2015) but not with other studies showing gradual increases in VEP amplitudes to a 5-day trained visual stimulus (Cooke and Bear, 2010). These discrepancies could be due to the regimen of the visual stimulation used by Cooke and collaborators which consisted of a wide array of spatial frequencies and orientation which stimulated a larger amount of visual cells compared to our training focussed on one spatial frequency and one orientation. These discrepancies might also be due to recording procedures, since Cooke and Bear recorded VEP in awake rats resulting in increased amplitude of VEPs and increased levels of attention. In our study, the repeated visual exposure using one spatial frequency and one orientation was not sufficient to change the expression of the mAChR or nAChR receptors. This suggests that the natural release of ACh occurring during visual stimulation (Collier and Mitchell, 1966a; Laplante et al., 2005) or the feedforward visual input itself is not sufficient to increase persistent cortical activity and regulation of the AChR expression.

A dose of 0.5 mg/kg of DPZ induced an enhancement of the trained stimulus that was transferred to the orthogonal orientation (120°) for 0.08 and 0.12 CPD but no spreading of the enhancement effect was observed to the higher spatial frequencies. When a higher dose of DPZ administration (1 mg/kg) was combined with visual training, a significant increase in cortical response that spread beyond the trained spatial frequency for both tested orientations was observed. Orientation tuning depends mostly on thalamocortical inputs and horizontal local connections whereas spatial frequency changes results from thalamocortical but also corticocortical

connections including long-range feedback connections (Angelucci et al., 2002). The spreading of VEP enhancement in spatial frequency seen in the rat due to the training-induced strengthening of the cortical connections could be due to the salt and pepper organization of V1 in rodents and the small distance of the lateral and feedback connections compared to other species. It can also be due to an effect of the DPZ on higher cognitive areas, facilitating feedback top-down mechanisms. The transfer of increased sensitivity for the orthogonal orientation observed in this study is consistent with a previous study (Cooke and Bear, 2010; Kang et al., 2015). However, a 2-week cholinergic/visual stimulation selectively improved the visual acuity for a 30° pattern but no other orientations, as measured behaviorally (Kang et al., 2014a). The discrepancy between behavioral or electrophysiological studies related to orientation selectivity of the effect may depict (1) an increased number of cells changing or enlarging their orientation selectivity or (1) an enhanced response for cells selective for 30° and 120° patterns induced by ACh transmission (see Kang and Vaucher, 2009; Kang et al., 2014a for further discussion). Moreover, tetanic burst stimulation of the lateral dorsal geniculate nucleus also induces enhancement of VEPs to generalize to other orientation or spatial frequencies (Cooke and Bear, 2010). As cholinergic potentiation induces long-term potentiation-like mechanisms in V1 (Brocher et al., 1992; Kirkwood et al., 1995; Kang and Vaucher, 2009), these broad effects of cholinergic potentiation of the visual training effects could indicate plasticity or reinforcement mechanisms in V1 induced by increased levels of ACh. The enhancement of VEP amplitude on neighboring spatial frequencies is also consistent with previous studies using electrical stimulation to potentiate cholinergic transmission (Kang et al., 2015). Thus, even if the cholinergic transmission is more diffusely potentiated by DPZ treatment that is not restricted to periods of pattern visual stimulation compared to timely coupled electrical stimulation, the effect of the two treatments on the potentiation of the cortical responses is similar and of equivalent strength.

The DPZ dose-dependence of the evoked V1 responses obtained are consistent with previous studies in a mouse model that showed a dose-dependent DPZ effect (0.3 mg/kg and 1.0 mg/kg) on the relief of cognitive rigidity. In this study, 1 mg/kg DPZ showed greater cognitive enhancement compared to the 0.3 mg/kg dose (Karvat and Kimchi, 2014). Additionally, a higher dose of DPZ (3 mg/kg) was proven to antagonize the scopolamine-induced performance deficit

in mice, which was not the case with a lower dose of DPZ (0.75 mg/kg) (Spowart-Manning and van der Staay, 2004). In our study, the dose-dependent effect could arise from increased levels of extracellular ACh in the cortex, as these levels seem to double with a 1 mg/kg compared to 0.5 mg/kg dose measured in the hippocampus and prefrontal cortex (Hatip-Al-Khatib et al., 2004; Naik et al., 2009). The dose-dependent effect seems to affect the sensitivity of the cortex to detect high spatial frequency visual stimuli and elaborate a stronger response which could, in turn, induce a stronger feedforward processing, as already suggested in other cortical areas (Hasselmo, 2006; Giocomo and Hasselmo, 2007).

III.5.2 Repetitive visual exposure combined with 1 mg/kg DPZ induces long-term changes in cholinergic receptor expression

The lower dose of DPZ combined with visual stimulation did not induce changes in the synthesis of new mRNA, i.e., either the intrinsic quantity of receptors was sufficient to support this strong cholinergic activity or the receptors mRNA expression was changed at other time points of the stimulation (or in other brain regions).

The 1 mg/kg dose of DPZ induced an increase in V1 cholinergic receptors mRNA expression compared to basal levels in naive animals. The regulation of mRNA expression was selective for the stimulated cortical area (V1) compared to the non-visual area. The receptors overexpressed were $\alpha 7$, M3 and M5. In addition, the M4 receptor was overexpressed in DPZ1/VS compared to DPZ0.5/VS.

Because the mRNA expression was measured one week after the last training session to allow a partial drug washout, we considered that the change in mRNA expression at this time point reflects an involvement of these receptors in long-term effects of visual/cholinergic training rather than in an acute effect such as a change in ionic channel conductance. It can also reflect the return of ACh concentrations to pre-DPZ levels because of DPZ washout, but the stability of the mRNAs expression in the control cortex suggests that DPZ has no effect on cholinergic receptor expression without sensory challenge. It has to be noted that the mRNA located in the cell bodies that showed increased expression detected in the present study is related to local neurons in the sampled areas, i.e. cortical cells. Thus possible changes at the pre-synaptic level

(thalamocortical, corticocortical or cholinergic basalocortical fibers) were not assessed, although they might play a role in the process. The results are consequently discussed in terms of involvement of the V1 cholinergic receptors in V1 functioning. VEP changes were compared with mRNA level changes although not measured in the same animals, considering that the VEP changes could also result from DPZ-induced changes at the level of the lateral geniculate nucleus or retina.

The $\alpha 7$ receptor, present on pyramidal cells (Aramakis and Metherate, 1998; Aztiria et al., 2004), is usually associated with long-term cortical plasticity and attention (Young et al., 2004). Moreover, it has been demonstrated that this receptor is present on GABAergic neurons from Layer I and could induce disinhibition of pyramidal cells (Christophe et al., 2002). The lack of the $\alpha 7$ nAChR subunit in rodents alters the visual cortex synaptic plasticity (Criscuolo et al., 2015) and reduces visual acuity (Origlia et al., 2012). Knowing that the $\alpha 7$ subunit is involved in visual cortical synaptic plasticity (Criscuolo et al., 2015), the increase in its expression observed in the 1 mg/kg dose of DPZ group may be involved in long-term changes of plasticity in V1. Moreover, this expression was not related to visual experience (Origlia et al., 2012).

The excitatory M3 mAChR subtype role in visual processing is not clear. M3 is present on GABAergic interneurons (Amar et al., 2010), even if a previous report suggests a scarce presence of the M3 subtype in the rodent's visual cortex (Levey et al., 1994). Since the activation of M3 by ACh on GABA cells expands the inhibitory conductance, an increase in its mRNA could indicate an intensification of the release of GABA, whose receptor is involved in cortical plasticity (Yazaki-Sugiyama et al., 2009). M3 has also an influence on cortical properties such as contrast sensitivity or spatial frequency (Groleau et al., 2014) and long-term depression (Origlia et al., 2006) in V1. Moreover, in adult mice, the absence of M1 and M3 produces an increase in the size of the visual cortical receptive field population (Groleau et al., 2014). Therefore, the changes observed in M3 mAChR mRNA expression could also be associated with the broader cortical responsiveness at 1 mg/kg.

An increase in M5 expression was observed in the 1 mg/kg dose of DPZ group. This subtype is mainly found on endothelial cells resulting in vasodilation of the vessels (Elhusseiny and Hamel, 2000). The M5 overexpression may thus be involved in regulation of cerebral perfusion and oxygenation upon repetitive transient visual activity. However, some studies showed a

neuronal rather than vascular effect of acetylcholinesterase inhibitors (Silver et al., 2008; Ricciardi et al., 2013).

The increase in M4 mRNA expression observed at the higher dose of DPZ could indicate an inhibitory effect of ACh in the layer IV, as observed in the somatosensory cortex (Eggermann and Feldmeyer, 2009). This would lead to filter weak sensory inputs in this layer. Consistently, an increased cortical ACh level by DPZ has been shown to decrease the propagation of the excitatory response following a visual stimulation in rats (Kimura et al., 1999) and in humans (Silver et al., 2008), inducing a reduction in excitatory activity by an increased intracortical inhibition. The increase in M4 obtained with a higher concentration of ACh could thus favor geniculocortical inputs. This shift from cortico-cortical to thalamo-cortical inputs matches previous studies suggesting that low cortical ACh concentration is related to cortical circuits dominated by local cortical recurrent activity whereas high ACh is related to cortical circuits dependent on thalamic inputs (Oldford and Castro-Alamancos, 2003; Hasselmo and Giocomo, 2006; Giocomo and Hasselmo, 2007; Wester and Contreras, 2013; Shah et al., 2015). Therefore, the upregulation of M3 and M4 mAChR mRNA receptors in addition to an overexpression of nAChR subunit $\alpha 7$ obtained suggests a greater effect of a high dose of DPZ on cortical activity.

Unexpectedly, the mRNA expression of M1, M2 and $\alpha 4\beta 2$, which are the main AChRs present in the cerebral cortex, was not regulated by visual stimulation combined with cholinergic enhancement. Either these receptors do not contribute to long-term changes following our type of stimulation or their basal expression in V1 is so strong (Krejci and Tucek, 2002) that there is no need to synthesize new receptors upon intensive use. This absence of regulation of M1 receptor upon cholinergic stimulation is, however, also observed in vitro (Cabadak et al., 2011). In addition, the M1 mAChR do not appear to be involved in the visually increased VEP amplitude since M1 mAChR blockade during the cholinergic/visual training did not abolish the potentiation of VEP (Groleau et al., 2015). The M1 subtype is found on postsynaptic pyramidal cells (Mrzljak et al., 1993; Gu, 2003; Gullledge et al., 2009). Moreover, the absence of regulation of the M2 mRNA expression after 14 days of training could be linked to the stability of the inhibitory system as the inhibitory M2 subtype is largely present on GABAergic neurons (reviewed by Groleau et al. (2015)). The $\alpha 4\beta 2$ is also found on GABAergic neurons (Lucas-Meunier et al., 2009) and on thalamocortical terminals. Therefore, it is possible that these

receptors could modulate the cortical activity even if their expression is not altered in the visual cortex.

III.6 Conclusions

A 1 mg/kg dose of DPZ induced a greater cortical enhancement, diffusing to other spatial frequencies and orientations, than did a lower dose. The DPZ cholinergic potentiation of the visual training induced a change in the mRNA expression of the M3, M4, M5 mAChRs and the $\alpha 7$ nAChR subunit. Two weeks of visual exposure alone did not result in long-term functional or structural changes. Therefore, these results suggest that coupling of both visual training and a sufficient dose of cholinergic enhancer would be beneficial for visual processing efficiency.

III.7 Acknowledgments

We are profoundly grateful to Frédéric Huppé-Gourgues and Jun Il Kang for their help with the technical and theoretical aspects of this project.

Grant sponsor: Canadian Institute of Health Research; Grant number: MOP-111003 (EV). Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada; Grant number: 238835-2011 (EV). MC and MG received financial support from the School of Optometry.

III.8 References

- Amar M, Lucas-Meunier E, Baux G, Fossier P (2010) Blockade of different muscarinic receptor subtypes changes the equilibrium between excitation and inhibition in rat visual cortex. *Neuroscience* 169:1610-1620.
- Aramakis VB, Metherate R (1998) Nicotine selectively enhances NMDA receptor-mediated synaptic transmission during postnatal development in sensory neocortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 18:8485-8495.

- Aubert I, Cecyre D, Gauthier S, Quirion R (1996) Comparative ontogenic profile of cholinergic markers, including nicotinic and muscarinic receptors, in the rat brain. *The Journal of comparative neurology* 369:31-55.
- Aztiria E, Gotti C, Domenici L (2004) Alpha7 but not alpha4 AChR subunit expression is regulated by light in developing primary visual cortex. *The Journal of comparative neurology* 480:378-391.
- Bhattacharyya A, Biessmann F, Veit J, Kretz R, Rainer G (2012) Functional and laminar dissociations between muscarinic and nicotinic cholinergic neuromodulation in the tree shrew primary visual cortex. *The European journal of neuroscience* 35:1270-1280.
- Bhattacharyya A, Veit J, Kretz R, Bondar I, Rainer G (2013) Basal forebrain activation controls contrast sensitivity in primary visual cortex. *BMC neuroscience* 14:55.
- Bringmann A (1994) Behaviour-related effects of physostigmine on the rat visual evoked potential. *Acta Neurobiol Exp (Warsz)* 54:355-363.
- Brocher S, Artola A, Singer W (1992) Agonists of cholinergic and noradrenergic receptors facilitate synergistically the induction of long-term potentiation in slices of rat visual cortex. *Brain Res* 573:27-36.
- Cabadak H, Aydin B, Kan B (2011) Regulation of M2, M3, and M4 muscarinic receptor expression in K562 chronic myelogenous leukemic cells by carbachol. *J Recept Signal Transduct Res* 31:26-32.
- Cacabelos R (2007) Donepezil in Alzheimer's disease: From conventional trials to pharmacogenetics. *Neuropsychiatric disease and treatment* 3:303-333.
- Christophe E, Roebuck A, Staiger JF, Lavery DJ, Charpak S, Audinat E (2002) Two types of nicotinic receptors mediate an excitation of neocortical layer I interneurons. *Journal of neurophysiology* 88:1318-1327.
- Chubykin AA, Roach EB, Bear MF, Shuler MG (2013) A cholinergic mechanism for reward timing within primary visual cortex. *Neuron* 77:723-735.
- Collier B, Mitchell JF (1966a) The central release of acetylcholine during stimulation of the visual pathway. *J Physiol* 184:239-254.
- Collier B, Mitchell JF (1966b) Release of acetylcholine from the cerebral cortex during stimulation of the optic pathway. *Nature* 210:424-425.
- Cooke SF, Bear MF (2010) Visual experience induces long-term potentiation in the primary visual cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 30:16304-16313.
- Criscuolo C, Accorroni A, Domenici L, Origlia N (2015) Impaired synaptic plasticity in the visual cortex of mice lacking alpha7-nicotinic receptor subunit. *Neuroscience* 294:166-171.
- Cutuli D, Foti F, Mandolesi L, De Bartolo P, Gelfo F, Federico F, Petrosini L (2008) Cognitive performance of healthy young rats following chronic donepezil administration. *Psychopharmacology* 197:661-673.
- Cutuli D, Foti F, Mandolesi L, De Bartolo P, Gelfo F, Federico F, Petrosini L (2009) Cognitive performances of cholinergically depleted rats following chronic donepezil administration. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 17:161-176.
- Disney AA, Aoki C, Hawken MJ (2007) Gain Modulation by Nicotine in Macaque V1. *Neuron* 56:701-713.
- Eggermann E, Feldmeyer D (2009) Cholinergic filtering in the recurrent excitatory microcircuit of cortical layer 4. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:11753-11758.

- Elhusseiny A, Hamel E (2000) Muscarinic--but not nicotinic--acetylcholine receptors mediate a nitric oxide-dependent dilation in brain cortical arterioles: a possible role for the M5 receptor subtype. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 20:298-305.
- Fournier GN, Semba K, Rasmusson DD (2004) Modality- and region-specific acetylcholine release in the rat neocortex. *Neuroscience* 126:257-262.
- Giocomo LM, Hasselmo ME (2007) Neuromodulation by glutamate and acetylcholine can change circuit dynamics by regulating the relative influence of afferent input and excitatory feedback. *Mol Neurobiol* 36:184-200.
- Groleau M, Kang JI, Huppe-Gourgues F, Vaucher E (2015) Distribution and effects of the muscarinic receptor subtypes in the primary visual cortex. *Front Synaptic Neurosci* 7:10.
- Groleau M, Nguyen HN, Vanni M, Huppe-Gourgues F, Casanova C, Vaucher E (2014a) Impaired functional organization in the visual cortex of muscarinic receptors knock-out mice. p Under revision *Neuroimage*.
- Groleau M, Nguyen HN, Vanni MP, Huppe-Gourgues F, Casanova C, Vaucher E (2014) Impaired functional organization in the visual cortex of muscarinic receptor knock-out mice. *NeuroImage* 98:233-242.
- Gu Q (2003) Contribution of acetylcholine to visual cortex plasticity. *Neurobiology of learning and memory* 80:291-301.
- Gulledge AT, Bucci DJ, Zhang SS, Matsui M, Yeh HH (2009) M1 receptors mediate cholinergic modulation of excitability in neocortical pyramidal neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29:9888-9902.
- Hasselmo ME (2006) The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol* 16:710-715.
- Hasselmo ME, Giocomo LM (2006) Cholinergic modulation of cortical function. *J Mol Neurosci* 30:133-135.
- Hasselmo ME, McGaughy J (2004) High acetylcholine levels set circuit dynamics for attention and encoding and low acetylcholine levels set dynamics for consolidation. *Prog Brain Res* 145:207-231.
- Hatip-Al-Khatib I, Takashi A, Egashira N, Iwasaki K, Fujiwara M (2004) Comparison of the effect of TAK-147 (zanapezil) and E-2020 (donepezil) on extracellular acetylcholine level and blood flow in the ventral hippocampus of freely moving rats. *Brain Res* 1012:169-176.
- Itoh A, Nitta A, Hirose M, Hasegawa T, Nabeshima T (1997) Effects of metrifonate on impairment of learning and dysfunction of cholinergic neuronal system in basal forebrain-lesioned rats. *Behavioural brain research* 83:165-167.
- Kang JI, Groleau M, Dotigny F, Giguere H, Vaucher E (2014a) Visual training paired with electrical stimulation of the basal forebrain improves orientation-selective visual acuity in the rat. *Brain structure & function* 219:1493-1507.
- Kang JI, Huppe-Gourgues F, Vaucher E (2014b) Boosting visual cortex function and plasticity with acetylcholine to enhance visual perception. *Frontiers in systems neuroscience* 8:172.
- Kang JI, Huppe-Gourgues F, Vaucher E (2015a) Pharmacological Mechanisms of Cortical Enhancement Induced by the Repetitive Pairing of Visual/Cholinergic Stimulation. *PLoS One* 10:e0141663.

- Kang JI, Huppé-Gourgues F, Vaucher E (2015b) Pharmacological mechanisms of cortical enhancement induced by repetitive pairing of visual/cholinergic stimulation. *PlosOne* DOI:10.1371/journal.pone.0141663:1-18.
- Kang JI, Vaucher E (2009) Cholinergic pairing with visual activation results in long-term enhancement of visual evoked potentials. *PLoS ONE* 4:e5995.
- Karvat G, Kimchi T (2014) Acetylcholine elevation relieves cognitive rigidity and social deficiency in a mouse model of autism. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 39:831-840.
- Kimura F, Fukuda M, Tsumoto T (1999) Acetylcholine suppresses the spread of excitation in the visual cortex revealed by optical recording: possible differential effect depending on the source of input. *EurJNeurosci* 11:3597-3609.
- Kirkwood A, Lee HK, Bear MF (1995) Co-regulation of long-term potentiation and experience-dependent synaptic plasticity in visual cortex by age and experience. *Nature* 375:328-331.
- Kirkwood A, Rozas C, Kirkwood J, Perez F, Bear MF (1999) Modulation of long-term synaptic depression in visual cortex by acetylcholine and norepinephrine. *JNeurosci* 19:1599-1609.
- Krejci A, Tucek S (2002) Quantitation of mRNAs for M(1) to M(5) subtypes of muscarinic receptors in rat heart and brain cortex. *Molecular pharmacology* 61:1267-1272.
- Laplante F, Morin Y, Quirion R, Vaucher E (2005) Acetylcholine release is elicited in the visual cortex, but not in the prefrontal cortex, by patterned visual stimulation: A dual microdialysis study with functional correlates in the rat brain. *Neuroscience* 132:501-510.
- Leroy C, Bourriez JL, Dujardin K, Molaee-Ardekani B, Babiloni C, Deplanque D, Ponchel A, Hennion S, Plomhause L, Devanne H, Deguil J, Payoux P, Blin O, Meline D, Micallef J, Chauveau N, Lanteaume L, Vervueren C, Guimont F, Thalamas C, Casse-Perrot C, Rouby F, Bordet R, Derambure P, PharmaCog C (2015) A 15-day course of donepezil modulates spectral EEG dynamics related to target auditory stimuli in young, healthy adult volunteers. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* 10.1016/j.clinph.2015.11.018.
- Levey AI, Edmunds SM, Heilman CJ, Desmond TJ, Frey KA (1994) Localization of muscarinic m3 receptor protein and M3 receptor binding in rat brain. *Neuroscience* 63:207-221.
- Lewandowski MH, Zmuda L (1995) Effect of the cholinesterase-inhibiting substance galanthamine on evoked visual potentials in rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 55:141-145.
- Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 25:402-408.
- Lucas-Meunier E, Monier C, Amar M, Baux G, Fregnac Y, Fossier P (2009) Involvement of nicotinic and muscarinic receptors in the endogenous cholinergic modulation of the balance between excitation and inhibition in the young rat visual cortex. *Cereb Cortex* 19:2411-2427.
- Mrzljak L, Levey AI, Goldman-Rakic PS (1993) Association of m1 and m2 muscarinic receptor proteins with asymmetric synapses in the primate cerebral cortex: morphological evidence for cholinergic modulation of excitatory neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:5194-5198.

- Naik RS, Hartmann J, Kiewert C, Duysen EG, Lockridge O, Klein J (2009) Effects of rivastigmine and donepezil on brain acetylcholine levels in acetylcholinesterase-deficient mice. *J Pharm Pharm Sci* 12:79-85.
- Ogura H, Kosasa T, Kuriya Y, Yamanishi Y (2000) Donepezil, a centrally acting acetylcholinesterase inhibitor, alleviates learning deficits in hypocholinergic models in rats. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology* 22:89-95.
- Oldford E, Castroalamos M (2003) Input-specific effects of acetylcholine on sensory and intracortical evoked responses in the “barrel cortex” in vivo. *Neuroscience* 117:769-778.
- Origlia N, Kuczewski N, Aztiria E, Gautam D, Wess J, Domenici L (2006) Muscarinic acetylcholine receptor knockout mice show distinct synaptic plasticity impairments in the visual cortex. *The Journal of Physiology* 577:829-840.
- Origlia N, Valenzano DR, Moretti M, Gotti C, Domenici L (2012) Visual acuity is reduced in alpha 7 nicotinic receptor knockout mice. *Investigative ophthalmology & visual science* 53:1211-1218.
- Paxinos G, Watson CR, Emson PC (1980) AChE-stained horizontal sections of the rat brain in stereotaxic coordinates. *JNeurosciMethods* 3:129-149.
- Pinto L, Goard MJ, Estandian D, Xu M, Kwan AC, Lee SH, Harrison TC, Feng G, Dan Y (2013) Fast modulation of visual perception by basal forebrain cholinergic neurons. *Nature neuroscience* 16:1857-1863.
- Pouliot M, Talbot S, Sénécal J, Dotigny F, Vaucher E, Couture R (2012) Ocular Application of the Kinin B1 Receptor Antagonist LF22-0542 Inhibits Retinal Inflammation and Oxidative Stress in Streptozotocin-Diabetic Rats. *PLoS ONE*.
- Ricciardi E, Handjaras G, Bernardi G, Pietrini P, Furey ML (2013) Cholinergic enhancement reduces functional connectivity and BOLD variability in visual extrastriate cortex during selective attention. *Neuropharmacology* 64:305-313.
- Shah D, Blockx I, Guns PJ, De Deyn PP, Van Dam D, Jonckers E, Delgado YPR, Verhoye M, Van der Linden A (2015) Acute modulation of the cholinergic system in the mouse brain detected by pharmacological resting-state functional MRI. *NeuroImage* 109C:151-159.
- Silver MA, Shenhav A, D'Esposito M (2008) Cholinergic Enhancement Reduces Spatial Spread of Visual Responses in Human Early Visual Cortex. *Neuron* 60:904-914.
- Soma S, Shimegi S, Suematsu N, Tamura H, Sato H (2013a) Modulation-specific and laminar-dependent effects of acetylcholine on visual responses in the rat primary visual cortex. *PLoS One* 8:e68430.
- Soma S, Suematsu N, Shimegi S (2013b) Cholinesterase inhibitor, donepezil, improves visual contrast detectability in freely behaving rats. *Behavioural brain research* 256:362-367.
- Spowart-Manning L, van der Staay FJ (2004) The T-maze continuous alternation task for assessing the effects of putative cognition enhancers in the mouse. *Behavioural brain research* 151:37-46.
- Thiele A (2013) Muscarinic signaling in the brain. *Annual review of neuroscience* 36:271-294.
- Wang T, Tang XC (1998) Reversal of scopolamine-induced deficits in radial maze performance by (-)-huperzine A: comparison with E2020 and tacrine. *European journal of pharmacology* 349:137-142.
- Wester JC, Contreras D (2013) Differential modulation of spontaneous and evoked thalamocortical network activity by acetylcholine level in vitro. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 33:17951-17966.

- Wise LE, Iredale PA, Stokes RJ, Lichtman AH (2007) Combination of rimonabant and donepezil prolongs spatial memory duration. *Neuropsychopharmacology* : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology 32:1805-1812.
- Yazaki-Sugiyama Y, Kang S, Cateau H, Fukai T, Hensch TK (2009) Bidirectional plasticity in fast-spiking GABA circuits by visual experience. *Nature* 462:218-221.
- Young JW, Finlayson K, Spratt C, Marston HM, Crawford N, Kelly JS, Sharkey J (2004) Nicotine improves sustained attention in mice: evidence for involvement of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor. *Neuropsychopharmacology* : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology 29:891-900.
- Zinke W, Roberts MJ, Guo K, McDonald JS, Robertson R, Thiele A (2006) Cholinergic modulation of response properties and orientation tuning of neurons in primary visual cortex of anaesthetized Marmoset monkeys. *European Journal of Neuroscience* 24:314-328.

III.9 Figures

Figure III.1 VEP amplitude before and 2 weeks after daily exposure to a 30 and 0.12 CPD sinusoidal grating with donepezil administration.

(A) VEP examples from the VS (red), DPZ0.5/VS (turquoise) and the DPZ1/VS group (blue) after visual training. Peak-to-Peak measures were extracted between 0 and 500 ms after the stimulus onset. (B) VEP amplitude, change from baseline (%) were recorded in V1 in response to a 30 (trained orientation) sinusoidal grating of different spatial frequencies. There was no significant difference between the pre- and post-values of the VEP amplitude after VS alone (red). However, there was an increase in VEPs in response to the trained spatial frequency (0.12 CPD, arrow head) and the one lower (0.08 CPD) after VS paired to 0.5 mg/kg DPZ (DPZ0.5/VS, turquoise) or 1 mg/kg DPZ (DPZ1/VS, blue) and for higher spatial frequencies (0.3 CPD and 0.5 CPD) for the latest condition. (C) VEP amplitude, change to baseline (%) were recorded in response to a 120 (untrained orientation) sinusoidal grating of different spatial frequencies. The results were similar to the trained orientation. In addition, there was an increase in VEPs in response to the 0.9 CPD and 1 CPD spatial frequency after VS paired to 1 mg/kg DPZ.

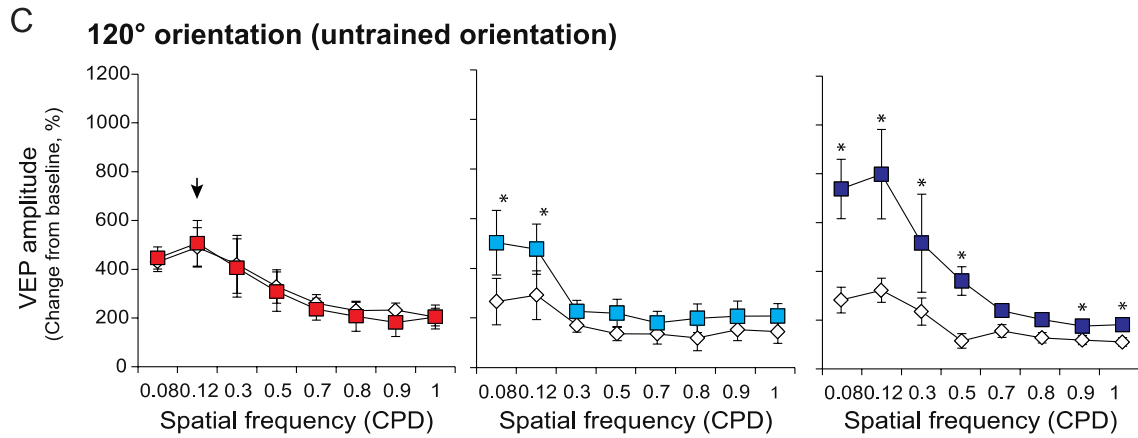
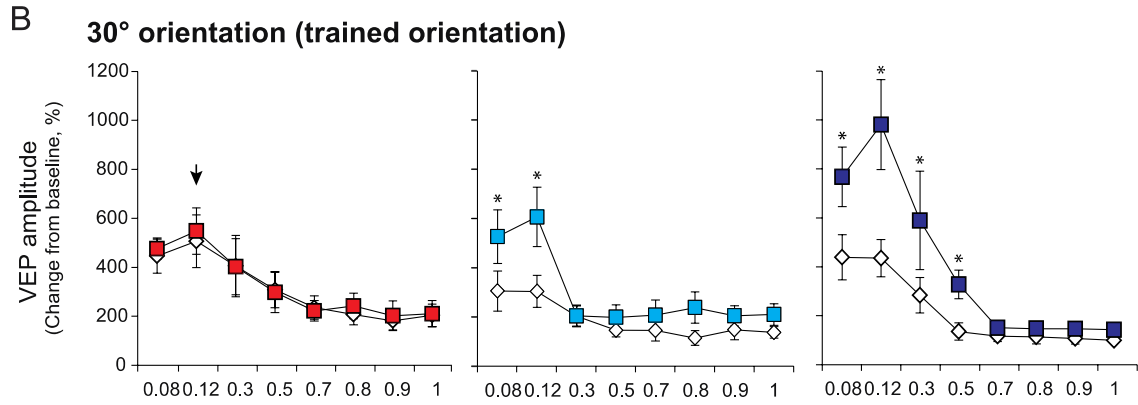
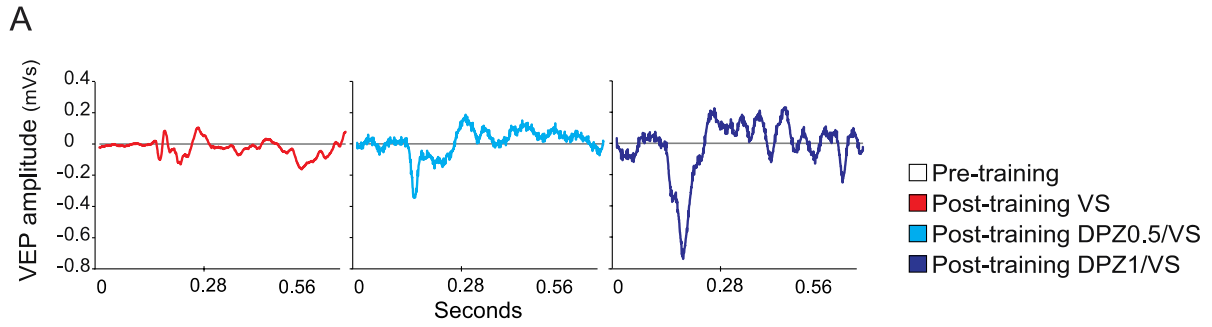


Figure III.2 Effect of visual training and donepezil treatment on cholinergic receptors mRNA expression.

(A) Two weeks of visual exposure alone (VS, red) or paired to 0.5 mg/kg DPZ (DPZ0.5/Vs, turquoise) does not alter the cholinergic mRNA receptor expression (M1-M5 mAChR receptors subtypes and $\alpha 4$, $\alpha 7$ and $\beta 2$ nAChR receptors subunits) in the visual cortex. A 1 mg/kg of donepezil combined with visual exposure (DPZ1/Vs, blue) increases mRNA expression for M3, M5 and $\alpha 7$ compared to naive and M4 and $\alpha 7$ compared to the DPZ05/Vs group. (B) Two weeks of visual exposure paired or not (red) to 1 mg/kg DPZ (DPZ1/Vs, blue) does not alter the mRNA expression in a non-visual area for either the mAChRs or the nAChRs. As the results were not significant in V1 for the 0.5 mg/kg DPZ, the somatosensory cortex mRNA were not analyzed for this dose. All the test values were normalized with respect to 18S values.

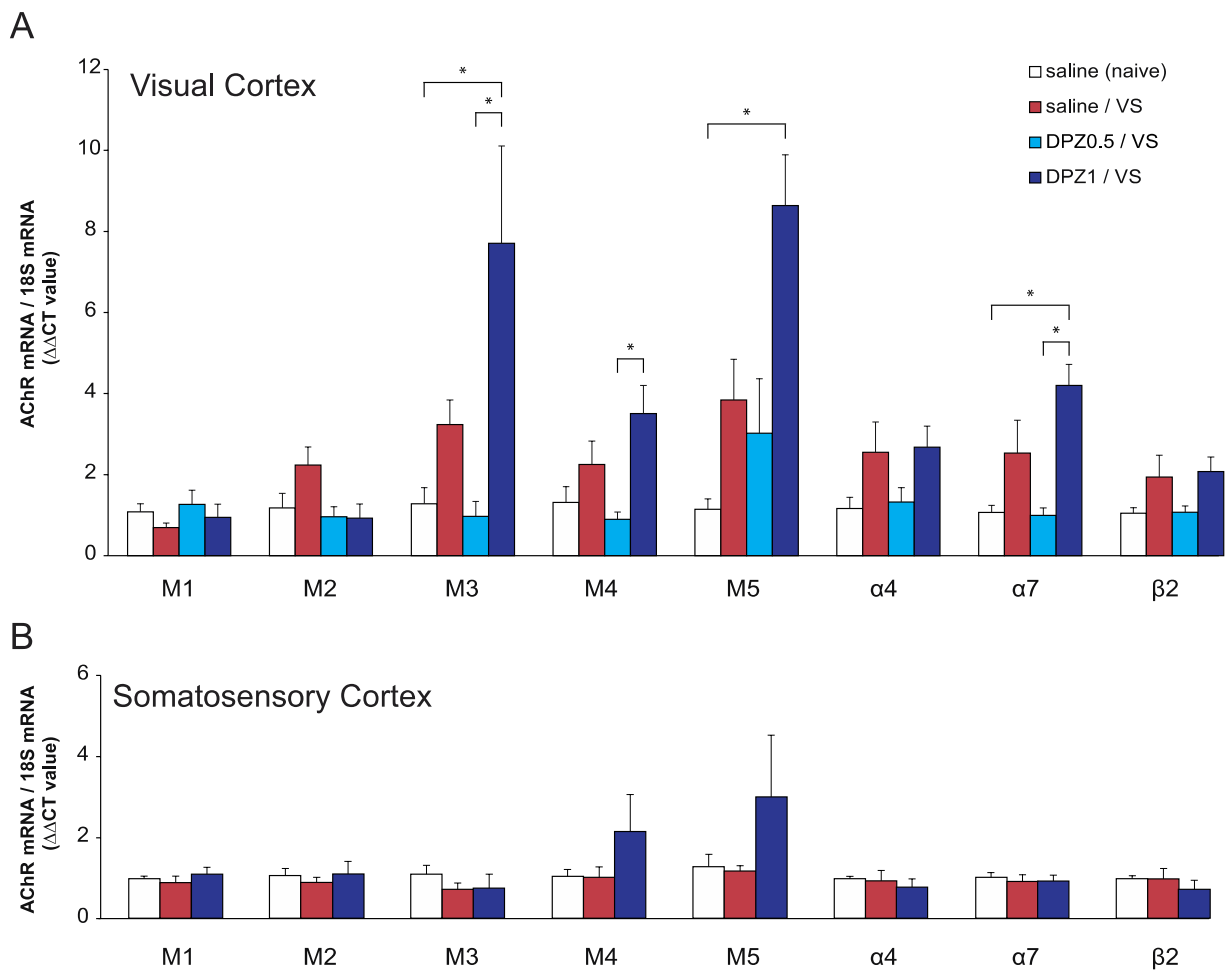
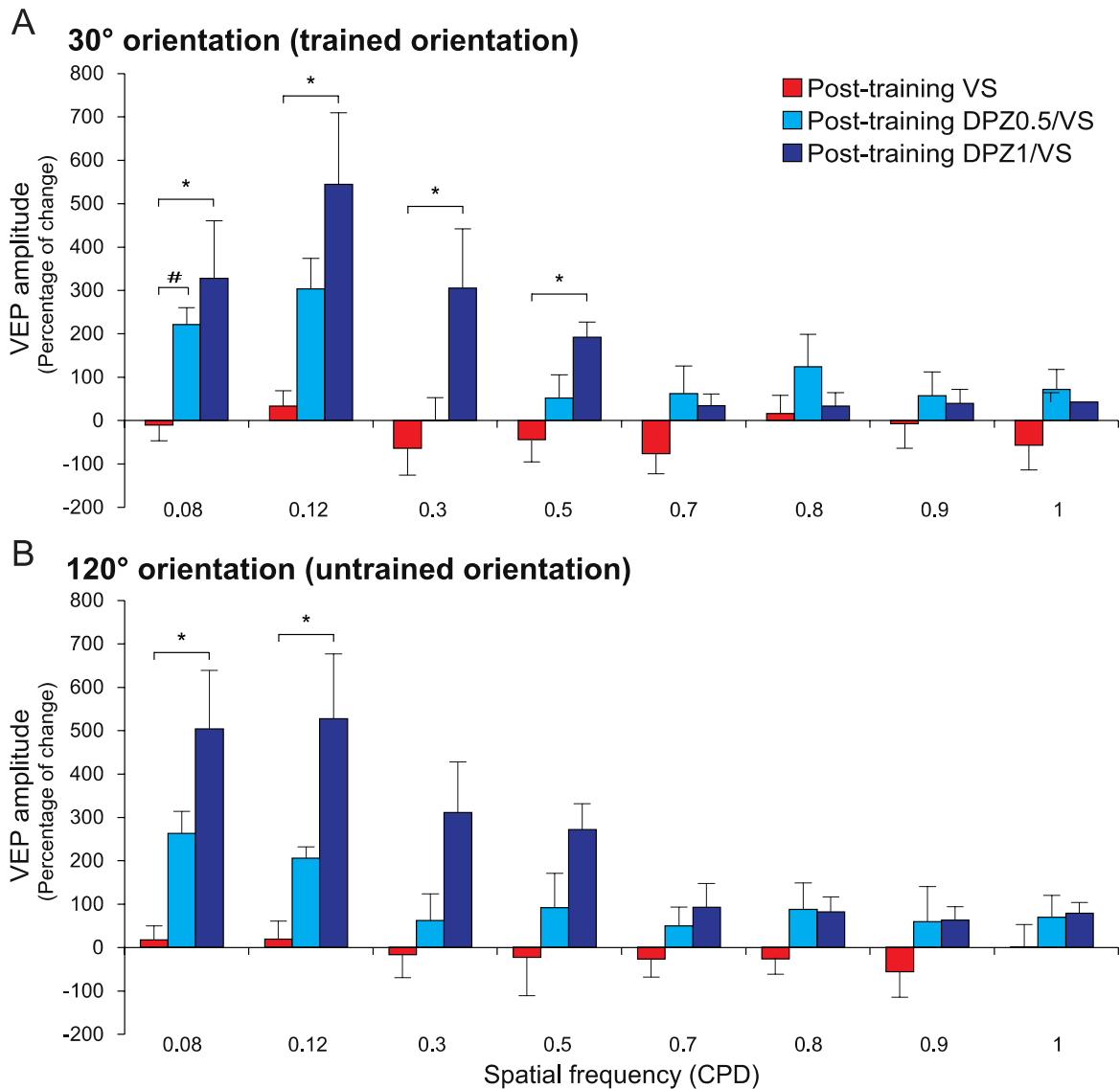


Figure III.3 Effect of visual training and donepezil treatment on VEP amplitude (percentage of change) for the different treatments.

Post-training/Pre-training ratio of VEP amplitude was determined for each tested group for the different spatial frequencies (0.08–1 CPD) 30 orientation (A) and 120 orientation (B). VEP amplitude was significantly enhanced for the 0.08 CPD between VS-DPZ0.5/VS (#) and VS- DPZ1/VS (∧) for both orientations. The VEP amplitudes were also significantly enhanced for 0.12 CPD, 0.3 CPD and 0.5 CPD for the 30 orientation and for 0.12 CPD for the 120 orientation in the DPZ1/VS group.



III.10 Tables

Table III.1 Experimental procedures.

Experimental steps	Description	Days (timeline)
1. VEP pre-training	Assessment of the VEPs in naive animals: baseline measurements	Day 1
2. Training sessions	Visual training paired or not with donepezil injection	Days 2-15
3. Resting week	Donepezil washout period (no handling)	Days 16-23
4. VEP post-training	Assessment of the VEPs after training: long-term influence of the training	Day 24
5. PCR	The visual cortex is processed	Day 25

Table III.2 Primer list.

		Sequence		
18S	Forward	5'	TCA ACT TTC GAT GGT AGT CGC CGT	3'
	Reverse	5'	TCC TTG GAT GTG GTA GCC GTT TCT	3'
M1	Forward	5'	AGC TCA GAG AGG TCA CAG CCA	3'
	Reverse	5'	GGG CCT CTT GAC TGT ATT TGG GGA	3'
M2	Forward	5'	CAA GAC CCA GTA TCT CCG AGT CTG	3'
	Reverse	5'	CGA CGA CCC AAC TAG TTC TAC AGT	3'
M3	Forward	5'	ACA GAA GCG GAG GCA GAA AAC TTT	3'
	Reverse	5'	CTT GAA GGA CAG TAG AGT AGC	3'
M4	Forward	5'	AAG GAG AAG AAG GCC AAG ACT CTG	3'
	Reverse	5'	GCG AGC AAT GCT GGC AAA CTT TCG	3'
M5	Forward	5'	TGT AGC AGC TAC CCC TCT TCA GAG	3'
	Reverse	5'	AGC AGC AGC TGG AGA CAG AAA GTA	3'
$\alpha 4$	Forward	5'	GAC CAC CTC AAG GCA GAA GA	3'
	Reverse	5'	CCC AGA AGG CAG ACA ATG AT	3'
$\alpha 7$	Forward	5'	TAT CAC CAC CAT GAC CCT GA	3'
	Reverse	5'	CAG AAA CCATGC ACA CCA GT	3'
$\beta 2$	Forward	5'	TGC GAA GTG AGG ATG ATG AC	3'
	Reverse	5'	ACG GTC CCA AAG ACA CAG AC	3'

Table III.3 Significance table.

Receptor	Kruskal-Wallis	Pairwise Comparison					
		Naïve-VS	Naïve-DPZ05VS	Naïve-DPZ1VS	VS-DPZ05VS	VS-DPZ1VS	DPZ05VS-DPZ1VS
		M1	0.317				
M2	0.088						
M3	0.002*	0.498	1.000	0.032*	0.189	1.000	0.060
M4	0.012*	1.000	1.000	0.111	0.503	1.000	0.016*
M5	0.003*	0.545	1.000	0.002*	1.000	0.785	0.057
α4	0.090						
α7	0.002*	0.702	1.000	0.007*	0.752	1.000	0.009*
β2	0.062						

p values for Kruskal-Wallis and Pairwise Comparison tests

Chapitre IV : Troisième article

Publié dans

Neuroscience. 2018 Jun 26

PMID: 29958942

Stimulation of acetylcholine release and pharmacological potentiation of cholinergic transmission affect cholinergic receptor expression differently during visual conditioning

Marianne Groleau, Mira Chamoun and Elvire Vaucher[†]

Laboratoire de Neurobiologie de la Cognition Visuelle, École d'optométrie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Contributions :

Marianne Groleau et Elvire Vaucher ont conçu les expériences et ont interprété les résultats

Marianne Groleau et Mira Chamoun ont effectué les expériences

Marianne Groleau a analysé les résultats

Marianne Groleau et Elvire Vaucher ont écrit le manuscrit

IV.1 Abstract

Cholinergic stimulation coupled with visual conditioning enhances the visual acuity and cortical responses in the primary visual cortex. To determine which cholinergic receptors are involved in these processes, qRT-PCR was used. Two modes of cholinergic enhancement were tested: a phasic increase of acetylcholine release by an electrical stimulation of the basal forebrain cholinergic nucleus projecting to the visual cortex, or a tonic pharmacological potentiation of the cholinergic transmission by the acetylcholine esterase inhibitor, donepezil. A daily visual exposure to sine-wave gratings (training) was paired with the cholinergic enhancement, up to 14 days. qRT-PCR was performed at rest, 10 minutes, one week or two weeks of visual/cholinergic training with samples of the visual and somatosensory cortices, and the BF for determining mRNA expression of muscarinic receptor subtypes (m1, m2, m3, m4, m5), nicotinic receptor subunits (α 3, α 4, α 7, β 2, β 4), and NMDA receptors, GAD65 and ChAT, as indexes of cortical plasticity. A Kruskal-Wallis test showed a modulation of the expression in the visual cortex of m2, m3, m4, m5, α 7, β 4, NMDA and GAD65, but few markers within the basal forebrain and none within the somatosensory cortex. The two modes of cholinergic enhancement induced different effects on mRNA expression, related to the number of visual conditioning sessions and receptor specificity. This study suggests that the combination of cholinergic enhancement and visual conditioning is specific to the visual cortex and varies between phasic or tonic manipulation of acetylcholine levels.

IV.2 Introduction

Acetylcholine (ACh) modulates the functioning of the visual cortex (V1) through muscarinic (mAChRs) and nicotinic (nAChRs) cholinergic receptors with regards to attention, learning, and memory processes. It particularly sustains the tuning of visual processing and building long-term cortical responses in the visual cortex of rodents and primates (Coppola et al 2016, Groleau et al 2015, Herrero et al 2017). This contributes to the improvement of visual capacities such as visual acuity and contrast sensitivity, and behavioural guidance (Gritton et al

2016, Kang et al 2014b). Moreover, the consistent electrical or pharmacological activation of the cholinergic projections to V1 during visual training in the rat increases i) the amplitude of visual evoked potentials in response to the stimulus (Bhattacharyya et al 2013, Chamoun et al 2016, Kang et al 2015, Kang & Vaucher 2009), ii) the behavioural visual discrimination (Aggelopoulos et al 2011, Kang et al 2014a, Soma et al 2013a), iii) the recovery of visual function after an optic nerve crush (Chamoun et al 2017a). This effect is obtained whenever the activation is provided by phasic - electrical - (Kang et al 2015) or tonic stimulation, using the acetylcholinesterase inhibitor donepezil (DPZ), that builds up extracellular ACh (Chamoun et al 2016), which is administered during the visual training.

The cholinergic receptor subtypes, located on different neuronal elements in the visual cortex, mediate distinct and sometimes opposing roles in the modulation of V1 neurons (Groleau et al 2015, Kang et al 2015, Thiele 2013). The metabotropic mAChRs m1 and m2 are the subtypes most abundantly found in the visual cortex of the rodent (Levey et al 1991b). M1 has been shown involved in the facilitation of feed-forward processing, reducing the thalamic suppression within V1 (Gil et al 1997, Krnjevic 2004, Levey et al 1991b, Thiele 2013, Wess 2003). Moreover, it has been associated with long-term potentiation effects (Origlia et al 2006a, Wess 2004), in coordination with NMDA receptors (Kang & Vaucher 2009, Kirkwood et al 1999) in V1. M2, mostly present on the presynaptic cell, has been shown to increase cortical activity during visual processing (Kang et al 2015), possibly through the disinhibition of pyramidal cells by GABAergic cell inhibition. The GABAergic neurons are highly associated with cortical plasticity mechanisms (Iwai et al 2003, Jiao et al 2006), with the GABA synthesizing enzyme GAD65 expression being linked to plasticity of the visual cortex (Hensch et al 1998). Although less present in the rodent's visual cortex, the m3 subtype has been demonstrated to control V1 sensitivity (Groleau et al 2014) and plasticity (Origlia et al 2006a). On the other hand, the ionotropic pentameric nAChRs have been associated with attentional processes (reviewed by Metherate 2004). The $\alpha 4\beta 2$ receptors, the main nAChRs in the visual cortex, enhance thalamo-cortical transmission, likely through its location on presynaptic terminals of the thalamic fibres (Lavine et al 1997), and is distributed throughout all of the cortical layers (Aztiria et al 2004, reviewed by Lucas-Meunier et al 2003a). The $\alpha 7$ receptor is also abundant in the cortex (reviewed by Metherate 2004), and seems to be involved in visual acuity (Origlia

et al 2012) and more generally, in neuronal plasticity (Nordman & Kabbani 2012, Sadahiro et al 2016).

In an attempt to isolate the involvement of specific AChRs in visual processing and plasticity, we previously demonstrated that 1 mg/kg DPZ administered during a 2 week visual training produced an upregulation of the cholinergic receptors m3, m4, m5 and $\alpha 7$ at the end of the experiment, but not of the other subunits, including m1, m2 and $\alpha 4\beta 2$ (Chamoun et al 2016). We have also pharmacologically shown that M2 and the nAChRs contributed to enhance the cortical response to visual stimulation by blocking this response using antagonists injected within V1 during a 1 week visual training (Kang et al 2015). The expression for these receptors at this time point was not measured. In the present study, we dissected the expression of the different AChRs in the cholinergic enhancement of visual training at four time points. This was performed in the visual cortex and somatosensory cortex (taken as a control), as well as in the basal forebrain (BF) which contains the cellular body of cholinergic neurons projecting to V1. Moreover, we wanted to see whether plasticity makers—NMDA receptors and GAD65—were also regulated during the training. In addition, the expression of the ACh synthesizing enzyme, choline acetyltransferase (ChAT), was examined as an index of the ACh yield. We examined the effect of the two different paradigms of cholinergic enhancement previously used: electrical (Kang et al 2014a) and DPZ (Chamoun et al 2016) potentiation of the cholinergic neurons, paired to a daily (up to 14 days) exposure of the rat to a 3D visual stimulation. The electrical stimulation was located in the horizontal limb of the diagonal band of Broca (HDB), the BF nucleus that projects to V1. The identification of the cholinergic receptor subtypes expressed at the 4 different time points of the stimulation (at rest, once, 7, 14 days) was performed by the quantitative real-time polymerase chain reaction technique (qRT-PCR). The results show that consistent coupling of visual training with cholinergic enhancement regulates the expression of mAChRs and nAChRs mainly within V1, and is specific to the mode of cholinergic stimulation.

IV.3 Experimental procedures

IV.3.1 Animal preparation

All procedures were carried out in accordance with the guidelines of the Canadian Council for the Protection of Animals, and were accepted by the Ethics Committee of the Université de Montréal. A total of 75 adult male Long Evans rats (200–225 g) were separated into 12 groups (Fig. 1). The animals were maintained in a 12 h light/dark normal daylight cycle with *ad libitum* access to food and water.

IV.3.2 Electrode implantation for HDB stimulation

Animals from the groups that received the HDB electrical stimulation were unilaterally implanted with a tungsten-stimulating electrode. Animals were anesthetized with isoflurane (induction 5%, maintain 3%), and placed in a stereotaxic apparatus. Core body temperature was maintained at 37 °C using a thermostatically controlled heating pad (FHC, Bowdoinham, ME, USA). A hole in the skull was created with a dental drill to access HDB (mm from Bregma: AP –0.3, ML +2.0, DV –9.0), and two stainless steel screws were installed adjacent to the insertion site to help secure the implanted electrode with dental cement. The skin was then sutured, and local anesthesia (2%, Astra Zeneca, Mississauga, Canada) was topically administered. Carprofen (Rimadyl 5 mg/kg) was injected s.c. (anti-inflammation agent) after the surgery and injected again 24h later.

IV.3.3 Visual exposure procedure

Visual exposure consisted of a sine wave grating (0.12 cycle/degree, orientation 30°, phase converting at 1 Hz) displayed (Vpixx software, v 2.79, VPixx technologies Inc., Saint-Bruno, QC, Canada) on 3 monitors constituting a 3 D environment at 21 cm of the animal's head (one computer in front of the rat and two lateral monitors [LG], luminance 37 cd/m²). The rats were awake and restrained in a hammock. To avoid any effect of stress, all the animals were habituated to be 10 min restrained in the hammock for 3 consecutive days prior to being

stimulated or sham-stimulated. The training sessions consisted of 10 min visual exposures (while the rat was restrained) presented once a day at the same time for 1, 7 or 14 days.

IV.3.4 HDB electrical stimulation

The electrical stimulation of the HDB was performed during the 10 min visual stimulation session (Kang et al 2014a, Kang et al 2015) (train of pulses 100 Hz, 0.5 ms, 50 μ A, 1 s on/1 s off, Pulsemaster A300, WPI, Sarasota, FL, USA).

IV.3.5 Donepezil treatment

DPZ (Sigma Aldrich, St-Louis, MO, USA) was used at a dose of 1 mg/kg in a sterile 0.9% NaCl solution (Chamoun et al 2016, Soma et al 2013b). It was administered i.p. 30 min daily before the visual exposure or the sacrifice, to reach the maximum effect of the drug (Soma et al 2013b). Animals that did not receive DPZ injections received a vehicle injection (saline).

IV.3.6 Measurement of cholinergic receptors expression by quantitative RT-PCR

qRT-PCR has been described previously (Chamoun et al 2016, Pouliot et al 2012). Briefly, rats were heavily anesthetized with isoflurane and sacrificed by decapitation immediately after the last training session. 1 mm³ of the visual cortex (Bregma AP -7, ML \pm 2 mm), somatosensory cortex (Bregma AP -3, ML \pm 2 mm) and BF (AP — 0.3 mm ML + 2 mm, DV – 9 mm) were dissected within 1 min on a cold plate and put in RNAlater stabilization reagent (QIAGEN, Valencia, CA, USA). The primer pairs (mAChR [m1-m5], nAChR [α 3, α 4, α 7, β 2, β 4] plus NMDA, GAD65 and ChAT) were designed by VectorNTI software, based on the NCBI (National Centre for Biotechnology Information) BLAST database (Chamoun et al 2016) (Appendix A, Table A.1). A commercial kit (RNeasy[®]Lipid Tissue, QIAGEN, Valencia, CA, USA) was used to extract total RNA from the cortices. Rat 18 S ribosomal RNA was used as a housekeeping control and cDNA was synthesized from 250 ng of total ARN in a total reaction volume of 20 μ l (QunatiTect Rev. Transcription Kit, Qiagen Toronto, On, Canada). SYBR Green-based qRT-PCR using Mx3000P Q-PCR System (Stratagene, La Jolla, CA, USA)

was performed. Target genes and reference genes were amplified and duplicated in the same run. The relative quantification of gene expression was determined using the MxPro™ Q-PCR software version 3.00 (Stratagene, La Jolla, CA, USA). The quantification was analyzed by the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method, and normalized by respective 18 S values (Chamoun et al 2016, Livak & Schmittgen 2001, Pouliot et al 2012).

IV.3.7 Statistical analysis

Statistical analyses were calculated using SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The comparison of the receptors expression was assessed using the non-parametric Kruskal-Wallis test with a significance level of $p < 0.05$. The statistical analysis was not corrected for multiple comparisons since this correction may lead to under-evaluation of changes for large number of comparisons (Rothman 1990), as required to compare an array of mRNA. All the data and statistical results are presented instead. The data sets generated and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request.

IV.4 Results

Change of expression in the AChRs was virtually exclusive to the visual cortex (Fig. 2, 3, Appendix B, Tables B.1, B.2, B.3). There was no change in the somatosensory cortex. Only $\beta 4$ subunit was upregulated in the BF. The expression of each mRNA examined did not differ from basal levels measured in saline conditions without any visual stimulation at any time point in the control condition (without cholinergic potentiation). The global pattern of changes elicited by the HDB electrical stimulation was different compared to DPZ stimulation. The electrical stimulation elicited a strong increase in receptor expression when it was administered without visual training, but the receptors were expressed at basal levels in consecutive HDB stimulation coupled with visual stimulation. The DPZ stimulation elicited a late increase in receptor expression. These two global pictures were independent of the receptor subtypes.

IV.4.1 The muscarinic receptors expression changes in the primary visual cortex according to the stimulation type and the timing

There is a significant difference depending on the stimulation type and timing of sampling for some muscarinic receptors tested in the visual cortex (Fig. 2 A-D, Table B.1). The muscarinic receptors m2 ($H(11) = 21.160$, $p = 0.032$), m3 ($H(11) = 25.394$, $p = 0.008$), m4 ($H(11) = 22.127$, $p = 0.023$) and m5 ($H(11) = 23.025$, $p = 0.018$) subtypes, but not m1 ($H(11) = 18.299$, $p = 0.075$) show a significant difference in expression in function of the timing. Electrical stimulation without visual stimulation increases the level of the m4 mRNA expressions, but these levels were decreased below basal level when combined with visual training, and reached a maximum decrease at 7 days of training. No changes were seen for the m3 concerning the electrical stimulation, however, the m3 mRNA expression was increased after 14 days of training combined with DPZ administration. No significant changes were seen within the somatosensory cortex (Table B.2) for any of the mAChRs: m1 ($H(11) = 7.282$, $p = 0.776$), m2 ($H(11) = 11.112$, $p = 0.434$), m3 ($H(11) = 14.776$, $p = 0.193$), m4 ($H(11) = 8.480$, $p = 0.670$), and m5 ($H(11) = 11.956$, $p = 0.367$). Within the BF (Fig. 3, Table B.3), no change is observed for the mAChR for any of the subtypes: m1 ($H(11) = 17.890$, $p = 0.084$), m2 ($H(11) = 10.486$, $p = 0.487$), m3 ($H(11) = 13.728$, $p = 0.248$), m4 ($H(11) = 9.458$, $p = 0.580$) or m5 ($H(11) = 14.800$, $p = 0.192$).

IV.4.2 The nicotinic receptor expression changes in the primary visual cortex according to the stimulation type and the timing for the the $\alpha 7$ and $\beta 4$ subunit

There is an altered nicotinic receptor mRNA expression for the $\alpha 7$ ($H(11) = 24.938$, $p = 0.009$) and $\beta 4$ nAChR subunit ($H(11) = 31.699$, $p = 0.001$) within V1 (Fig. 2 E-F, Table B.1), where the electrical stimulation of the HDB without any visual exposure increases the receptor expression. No significant changes are seen for $\alpha 3$ ($H(11) = 12.000$, $p = 0.364$), $\alpha 4$ ($H(11) = 17.203$, $p = 0.102$), and $\beta 2$ ($H(11) = 18.452$, $p = 0.072$) subtypes over time. In the somatosensory cortex, no changes are seen for $\alpha 3$ subunit ($H(11) = 17.615$, $p = 0.091$), $\alpha 4$ ($H(11) = 10.319$, $p = 0.502$), $\alpha 7$ ($H(11) = 8.348$, $p = 0.682$), $\beta 2$ ($H(11) = 11.680$, $p = 0.388$), and $\beta 4$ ($H(11) = 10.825$, $p = 0.458$) subtypes (Table B.2). Within the BF, an alteration is also observed with the $\beta 4$

subunit ($H(11) = 20.463$, $p = 0.039$), where the DPZ-treated group presents a high expression of the receptor with no visual exposure, that is not observed following repetitive visual exposure (Fig. 3, Table B.3). No changes are seen for $\alpha 3$ ($H(11) = 14.826$, $p = 0.191$), $\alpha 4$ ($H(11) = 14.060$, $p = 0.230$), $\alpha 7$ ($H(11) = 9.286$, $p = 0.596$), and $\beta 2$ ($H(11) = 8.340$, $p = 0.683$) subtypes.

IV.4.3 The plasticity marker expression changes in the primary visual cortex according to the stimulation type and the timing, but not the synthetic enzyme of ACh

In V1 (Fig. 2 G-H, Table B.1), for the expression of some plasticity markers is changed; NMDAR ($H(11) = 25.900$, $p = 0.007$) and GAD65 ($H(11) = 27.329$, $p = 0.004$), but not the ChAT ($H(11) = 17.497$, $p = 0.094$). For the NMDAR and GAD 65, the expression of their mRNA is increased by electrical stimulation of HDB without visual exposure, and reduced upon combination with visual exposure that peaks at 7 days of visual exposure. Within the somatosensory cortex (Table B.2), there is no change in the plasticity markers expression (NMDAR ($H(11) = 14.692$, $p = 0.197$), GAD65 ($H(11) = 10.669$, $p = 0.471$) and ChAT ($H(11) = 9.840$, $p = 0.545$). Finally, in the BF (Fig. 3, Table B.3), there is no change observed for the NMDAR ($H(11) = 9.529$, $p = 0.573$), GAD65 ($H(11) = 6.935$, $p = 0.804$) or the ChAT ($H(11) = 9.007$, $p = 0.621$).

IV.5 Discussion

In this study, we administered 1 mg/kg DPZ or HDB electrical stimulation at rest or combined with daily visual exposure for 1, 7 or 14 days. At each of these time points, the pattern of cholinergic receptors mRNA expression was assessed by qRT-PCR in V1, the somatosensory cortex, and the BF. The main change in the expression of cholinergic receptors and plasticity markers occurred in V1. This confirms the effect of combining cholinergic enhancement with visual exposure is predominant in V1 for both tonic and phasic conditions. While the same long-lasting, physiological effect was seen for HDB electrical stimulation (Kang et al 2014a) and DPZ injection (Chamoun et al 2016), the receptor expression pattern over time differs between HDB electrical stimulation and DPZ administration.

IV.5.1 The main changes are seen in the visual cortex, while other regions investigated are scarcely affected

The main result of this study underlines that changes in receptors mRNA are observed mostly in V1, whereas discrete changes were seen in the other regions investigated. The somatosensory region was used as a control for cortical activation as it is not related to vision, but receives cholinergic projections from other BF subpopulations. It did not show any alteration of the cholinergic receptors or plasticity markers following the visual exposure combined with electrical stimulation of the HDB, or DPZ treatment. This confirms that changes are mostly elicited in the visual cortex, which is activated by both the cholinergic and thalamo-cortical projections, and represents the first cortical structure for visual processing. This finding does not exclude that changes could be seen in additional cortical areas that were not investigated.

The BF was examined because this area contains cholinergic neurons, as well as GABAergic and glutamatergic neurons (review by (Brashear et al 1986, Gritti et al 1997)), projecting to the cortex. Thus, changes occurring at the terminals of presynaptic basalo-cortical fibres could be detected within the BF (as the mRNA are located within the cell nucleus, and only the proteins migrate to the axon terminals). The expression of $\beta 4$ subunit was altered in this structure, though not the m2 which is supposed to be located on the presynaptic cholinergic fibres. The expression of the plasticity markers was also not affected. The $\beta 4$ subunit was increased with one acute

administration of DPZ without visual exposure. The increase in $\beta 4$ observed in the cholinergic nucleus could have been elicited by the use of the receptor at a presynaptic level in the cortex, or a use of receptors at the surface of the perikarya of cholinceptive BF neurons. The precise cellular location of this receptor subtype has not yet been identified, so both alternatives are possible. The BF interneurons established a complex crossed innervation (Zaborszky & Duque 2000), therefore this change in $\beta 4$ expression could indicate a strong activation of the BF by the visual training or the attention load related to it. The $\alpha 3\beta 4$ is also located at a postsynaptic level, so this receptor might be activated by a cholinergic activation of cholinceptive BF neurons. It was surprising that the m2 mRNA was not increased in the BF, since this receptor is known as the principal presynaptic muscarinic receptor in the cortex, modulating the cortical ACh release. Moreover, m2 has been pharmacologically demonstrated to participate in the enhancement effect of electrical HDB stimulation coupled with visual exposure (Kang et al 2015). It is possible that the change in this receptor was not detected because only a subset of the BF neurons project to V1 (although data from the whole BF was collected for experimental reasons).

IV.5.2 Changes of Expression in the Visual Cortex

The main change in mRNA expression occurred in the visual cortex where m2–m5 mAChRs, as well as $\alpha 7$ and $\beta 4$ nAChR subunits and plasticity markers were increased by the electrical stimulation of the HDB at rest, and reduced after 7 days of the combination of electrical stimulation with visual training. This confirm previous pharmacological results showing m2-m4 receptors involvement in the enhancement of the electrophysiological response by HDB stimulation coupled to VS (Kang et al 2015). m3 and m5 were increased at the end of the visual training when coupled with DPZ administration. Thus, intra-cortical cells adapted the expression of these receptors in response to the increased cholinergic transmission, as well as visual experience.

The $\beta 4$ subunit, usually associated with $\alpha 3$ to form the $\alpha 3\beta 4$ nAChR, was upregulated by an electrical stimulation, followed by a down-regulation along with HDB electrical stimulation and visual training. This receptor is identified as an excitatory receptor, mostly present on the

pyramidal cells (Lucas-Meunier et al 2009). The $\alpha 7$ receptor mRNA variation in our paradigm is not surprising, given that $\alpha 7$ is involved in the cholinergic enhancement processes, and more generally in plasticity mechanisms (Sadahiro et al 2016). The inhibitory m2 subtype is largely present on GABAergic neurons (reviewed by (Groleau et al 2015)) or presynaptic basalo-cortical fibres, and it can work as a suppressor of GABA release (Nunez et al 2012, Salgado et al 2007a). The variation of this subtype indicates a modulation in the functions of the inhibitory system. The m4, even if it has a low prevalence in the visual cortex (Flynn et al 1995, Zhang et al 2002), is an inhibitory receptor present on GABAergic cells (Volpicelli & Levey 2004). Its activation could thus produce the disinhibition of the pyramidal cells, as shown in the somatosensory cortex (Eggermann et al 2014). Therefore, the regulation of all of these receptors indicates a strong excitation of the cortex elicited by the electrical stimulation of the HDB. However, the decrease in the expression of these receptors in function of timing and visual experience suggests an adaptation and a reduction of the effect of the electrical stimulation with time, or with glutamatergic thalamo-cortical excitation. Alternatively, other mediation pathways might be triggered by this first stimulation, such as the Hebb-like long-term potentiation changes in the intracellular compartment. Such LTP-like changes have been evidenced in the visual cortex (Origlia et al., 2006) during HDB and visual stimulation (Kang & Vaucher 2009, Origlia et al 2006a). On the other hand, the expression of the m3 and m5 mAChR is upregulated at the end of the 2-week training when coupled with DPZ. This excitatory receptor might rather be involved in long-term or after-effects of this potent double stimulation. The m3 mAChR is present on GABAergic interneurons (Amar et al 2010), and it appears to modulate the inhibitory drive. The m5 subtype is mainly found on endothelial cells (Elhousseiny & Hamel 2000), and controls the cortical perfusion and oxygenation. Therefore, it seems that the treatments performed may have influenced the regulation of blood flow. However, it was shown that the cholinesterase inhibitors enhance the neuronal efficiency rather than having a vascular effect (Ricciardi et al 2013, Silver et al 2008b).

The m1 receptor mRNA stability in our paradigm is also surprising, given that m1 is widely found in V1. However, this is consistent with previous results showing that pharmacologically blocking M1 transmission during coupled visual/cholinergic stimulation had no impact on the visually evoked-potential potentiation (Kang et al 2015). Moreover, the stability of this subtype

is also observed when the cholinergic system is activated in vitro (Cabadak et al 2011). This could result from their specific low-rate turnover or high concentration in endogeneous pools. The $\alpha 4\beta 2$ receptors expression not detected in this study, which may indicate that the cell bodies expressing this receptor are located in other brain areas not targeted by our sampling. The $\alpha 4\beta 2$ receptor is mainly located on GABAergic neurons (Lucas-Meunier et al 2009) and on thalamo-cortical terminals. We did not examined thalamus or other feedback cortical areas, and change at the level of GABAergic perikarya might be too faint to be detectable by the sampling method. Therefore, the absence of the regulation of $\alpha 4\beta 2$ does not necessarily indicate an absence of activity. The expression of ChAT mRNA is also not affected. Therefore, the synthesis of ACh seems to remain constant even in the case of cholinergic activation.

IV.5.3 Comparison of the electrical and pharmacological activation of the cholinergic system

The electrical stimulation seems to elicit strong changes when displayed alone, but not with concomitant visual stimulation. On the other hand, DPZ administration seems to induce changes at the end of the experiment, suggesting long-term changes or a late restoration effect. The two modes evoked different subtypes of receptors.

The electrical stimulation of BF neurons directly induced the post-synaptic overexpression of the cholinergic receptors in V1, without visual stimulation. On the contrary, DPZ must be combined with visual processing in order to alter expression of the receptors. Therefore the electrical effect could be rapidly down-regulated, whereas DPZ induces sustained effects which are more constant, but do not required high turnover rates of receptors. These differential effects could be elicited by the levels of ACh release evoked by the 2 modes of stimulation: a short and intense transient release with electrical stimulation, and a supposedly minor release of ACh with spontaneous activation of the cholinergic fibres due to visual stimulation, but prolonged action due to DPZ. The rapid and strong electrical release of ACh in the cortex could induce a fast response at the level of the mRNA receptor expression. Variations occurring later, at 1 or 2 weeks, could therefore correspond to involvement of the receptors in plasticity mechanisms, such as with the m3. It is known that ACh has a dose-dependent effect on the neocortex, eliciting

either excitation or depression of neuronal activity (Oldford & Castroalamancos 2003). Moreover, it has been shown that high levels of ACh could favor afferent thalamocortical input to the visual cortex sustaining encoding of sensory information while low levels of ACh would favor strong cortico-cortical feedback and cortical consolidation (Hasselmo & McGaughy 2004). Thus, electrical vs pharmacological stimulation of the cholinergic fibers might differently set circuits dynamics. Our study support this proposition by showing involvement of distinct receptors in the two stimulation paradigms, although the gross long-lasting physiological effect observed with those two means of cholinergic potentiation is a similar enhancement of visually-evoked potentials and behaviorally assessed visual acuity (Chamoun et al 2016, Kang et al 2014a).

In addition, the different pattern of mRNA expression during DPZ systemic administration might be due to the involvement of other brain structures or neuromodulatory systems that might influence the mRNA expression within V1. For example, the dorsolateral geniculate nucleus is sensitive to ACh (McCormick 1992) and its function and output to cortex might have been affected. Also, the interaction between the cholinergic system and other modulatory systems is somehow complex (Shimegi et al 2016). More specifically, the serotonin and noradrenaline systems have diffuse projections to V1 and interact with the cholinergic system. Both locus coeruleus and raphe dorsalis are innervated by cholinergic fibers (Shute & Lewis 1967) and AChEI might have also influence this cholinergic activity. In turn, both serotonin and noradrenalin can affect the glutamatergic or GABAergic signaling in the cortex (Hasselmo & Bower 1992). Moreover, the serotonin have been proposed to inhibit the release of ACh in the cortex (Maura et al 1989). However, since the ChAT was not affected in our samples, even if an indirect effect of the serotonergic or noradrenergic system exists, the impact of the AChEI seems to target principally the cholinergic receptors in the visual cortex.

Since the overall physiological and behavioural enhancement induced by two weeks of combined visual exposure and HDB stimulation (Kang et al 2014a) or DPZ (Chamoun et al 2016) is similar, the difference between the differential expressions in the mRNA of these cholinergic receptors and plasticity markers does not seem to play a critical role at the integrated functional level. It is therefore possible to assume that the cortical circuit involved in visual

information integration compensates for punctual discrete variations in the mRNA of cholinergic receptors and plasticity markers.

In conclusion, we showed that the consistent coupling of visual training with cholinergic enhancements regulates the expression of mAChRs and nAChRs specifically within V1. The electrical stimulation seems more potent in terms of mRNA changes for m2-5, $\alpha 7$ and $\beta 4$, and the visual exposure coupled to DPZ induces late m3 mRNA regulation. Since the cholinergic receptors are usually associated with long-term changes related to plasticity processes, these alterations could sustain perceptual learning as seen in previous studies.

IV.6 Acknowledgments

We are profoundly grateful to Frédéric Huppé-Gourgues for his help with the statistical analyses. We would like to thank the Centre for Interdisciplinary Research in Rehabilitation of Greater Montreal for their resource support.

Funding: This work was supported by the Canadian Institutes for Health Research; Grant number: MOP-111003 (EV). Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada; Grant number: 238835-2011 (E.V.). M.G. received financial support from the School of Optometry and FRSQ Vision Research Network.

IV.7 References

- Aggelopoulos N.C., Liebe S., Logothetis N.K., Rainer G. (2011) Cholinergic control of visual categorization in macaques. *Frontiers in behavioral neuroscience* 5:73.
- Amar M., Lucas-Meunier E., Baux G., Fossier P. (2010) Blockade of different muscarinic receptor subtypes changes the equilibrium between excitation and inhibition in rat visual cortex. *Neuroscience* 169:1610-1620.
- Aztiria E., Gotti C., Domenici L. (2004) Alpha7 but not alpha4 AChR subunit expression is regulated by light in developing primary visual cortex. *J Comp Neurol* 480:378-391.
- Bhattacharyya A., Veit J., Kretz R., Bondar I., Rainer G. (2013) Basal forebrain activation controls contrast sensitivity in primary visual cortex. *BMC Neurosci* 14:55.
- Brashear H.R., Zaborszky L., Heimer L. (1986) Distribution of GABAergic and cholinergic neurons in the rat diagonal band. *Neuroscience* 17:439-451.

- Chamoun M., Groleau M., Bhat M., Vaucher E. (2016) Dose-dependent effect of donepezil administration on long-term enhancement of visually evoked potentials and cholinergic receptor overexpression in rat visual cortex. *J Physiol Paris* 110:65-74.
- Chamoun M., Sergeeva E.G., Henrich-Noack P., Jia S., Grigartzik L., Ma J., You Q., Hupp, #x00E9, -Gourgues F., #x00E9, #x00E9, ric, Sabel B.A., Vaucher E. (2017) Cholinergic Potentiation of Restoration of Visual Function after Optic Nerve Damage in Rats. *Neural plasticity* 2017:10.
- Coppola J.J., Ward N.J., Jadi M.P., Disney A.A. (2016) Modulatory compartments in cortex and local regulation of cholinergic tone. *J Physiol Paris* 110:3-9.
- Disney A.A., Aoki C., Hawken M.J. (2012) Cholinergic suppression of visual responses in primate V1 is mediated by GABAergic inhibition. *J Neurophysiol* 108:1907-1923.
- Eggermann E., Kremer Y., Crochet S., Petersen C.C. (2014) Cholinergic signals in mouse barrel cortex during active whisker sensing. *Cell reports* 9:1654-1660.
- Flynn D.D., Ferrari-DiLeo G., Mash D.C., Levey A.I. (1995) Differential regulation of molecular subtypes of muscarinic receptors in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 64:1888-1891.
- Gil Z., Connors B.W., Amitai Y. (1997) Differential regulation of neocortical synapses by neuromodulators and activity. *Neuron* 19:679-686.
- Gritti I., Mainville L., Mancina M., Jones B.E. (1997) GABAergic and other noncholinergic basal forebrain neurons, together with cholinergic neurons, project to the mesocortex and isocortex in the rat. *J Comp Neurol* 383:163-177.
- Gritton H.J., Howe W.M., Mallory C.S., Hetrick V.L., Berke J.D., Sarter M. (2016) Cortical cholinergic signaling controls the detection of cues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113:E1089-1097.
- Groleau M., Kang J.I., Huppe-Gourgues F., Vaucher E. (2015) Distribution and effects of the muscarinic receptor subtypes in the primary visual cortex. *Front Synaptic Neurosci* 7:10.
- Groleau M., Nguyen H.N., Vanni M.P., Huppe-Gourgues F., Casanova C., Vaucher E. (2014) Impaired functional organization in the visual cortex of muscarinic receptor knock-out mice. *Neuroimage* 98:233-242.
- Herrero J.L., Gieselmann M.A., Thiele A. (2017) Muscarinic and Nicotinic Contribution to Contrast Sensitivity of Macaque Area V1 Neurons. *Frontiers in neural circuits* 11:106.
- Iwai Y., Fagiolini M., Obata K., Hensch T.K. (2003) Rapid critical period induction by tonic inhibition in visual cortex. *J Neurosci* 23:6695-6702.
- Jiao Y., Zhang C., Yanagawa Y., Sun Q.Q. (2006) Major effects of sensory experiences on the neocortical inhibitory circuits. *J Neurosci* 26:8691-8701.
- Kang J.I., Groleau M., Dotigny F., Giguere H., Vaucher E. (2014a) Visual training paired with electrical stimulation of the basal forebrain improves orientation-selective visual acuity in the rat. *Brain Struct Funct* 219:1493-1507.
- Kang J.I., Huppe-Gourgues F., Vaucher E. (2014b) Boosting visual cortex function and plasticity with acetylcholine to enhance visual perception. *Frontiers in systems neuroscience* 8:172.
- Kang J.I., Huppe-Gourgues F., Vaucher E. (2015) Pharmacological Mechanisms of Cortical Enhancement Induced by the Repetitive Pairing of Visual/Cholinergic Stimulation. *PLoS One* 10:e0141663.
- Kang J.I., Vaucher E. (2009) Cholinergic pairing with visual activation results in long-term enhancement of visual evoked potentials. *PLoS ONE* 4:e5995.

- Kirkwood A., Rozas C., Kirkwood J., Perez F., Bear M.F. (1999) Modulation of long-term synaptic depression in visual cortex by acetylcholine and norepinephrine. *J Neurosci* 19:1599-1609.
- Krnjevic K. (2004) Synaptic mechanisms modulated by acetylcholine in cerebral cortex. *Prog Brain Res* 145:81-93.
- Lavine N., Reuben M., Clarke P.B. (1997) A population of nicotinic receptors is associated with thalamocortical afferents in the adult rat: laminar and areal analysis. *J Comp Neurol* 380:175-190.
- Levey A.I., Kitt C.A., Simonds W.F., Price D.L., Brann M.R. (1991) Identification and localization of muscarinic acetylcholine receptor proteins in brain with subtype-specific antibodies. *J Neurosci* 11:3218-3226.
- Livak K.J., Schmittgen T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 25:402-408.
- Lucas-Meunier E., Fossier P., Baux G., Amar M. (2003) Cholinergic modulation of the cortical neuronal network. *Pflugers Arch* 446:17-29.
- Lucas-Meunier E., Monier C., Amar M., Baux G., Fregnac Y., Fossier P. (2009) Involvement of nicotinic and muscarinic receptors in the endogenous cholinergic modulation of the balance between excitation and inhibition in the young rat visual cortex. *Cerebral cortex* 19:2411-2427.
- Metherate R. (2004) Nicotinic Acetylcholine Receptors in Sensory Cortex. *Learning & Memory* 11:50-59.
- Nordman J.C., Kabbani N. (2012) An interaction between alpha7 nicotinic receptors and a G-protein pathway complex regulates neurite growth in neural cells. *J Cell Sci* 125:5502-5513.
- Nunez A., Dominguez S., Buno W., Fernandez de Sevilla D. (2012) Cholinergic-mediated response enhancement in barrel cortex layer V pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 108:1656-1668.
- Oldford E., Castroalamancos M. (2003) Input-specific effects of acetylcholine on sensory and intracortical evoked responses in the "barrel cortex" in vivo. *Neuroscience* 117:769-778.
- Origlia N., Kuczewski N., Aztiria E., Gautam D., Wess J., Domenici L. (2006) Muscarinic acetylcholine receptor knockout mice show distinct synaptic plasticity impairments in the visual cortex. *The Journal of Physiology* 577:829-840.
- Origlia N., Valenzano D.R., Moretti M., Gotti C., Domenici L. (2012) Visual acuity is reduced in alpha 7 nicotinic receptor knockout mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53:1211-1218.
- Pouliot M., Talbot S., Senecal J., Dotigny F., Vaucher E., Couture R. (2012) Ocular application of the kinin B1 receptor antagonist LF22-0542 inhibits retinal inflammation and oxidative stress in streptozotocin-diabetic rats. *PLoS One* 7:e33864.
- Ricciardi E., Handjaras G., Bernardi G., Pietrini P., Furey M.L. (2013) Cholinergic enhancement reduces functional connectivity and BOLD variability in visual extrastriate cortex during selective attention. *Neuropharmacology* 64:305-313.
- Salgado H., Bellay T., Nichols J.A., Bose M., Martinolich L., Perrotti L., Atzori M. (2007) Muscarinic M2 and M1 receptors reduce GABA release by Ca²⁺ channel modulation through activation of PI3K/Ca²⁺ -independent and PLC/Ca²⁺ -dependent PKC. *J Neurophysiol* 98:952-965.
- Silver M.A., Shenhav A., D'Esposito M. (2008) Cholinergic Enhancement Reduces Spatial Spread of Visual Responses in Human Early Visual Cortex. *Neuron* 60:904-914.

- Soma S., Shimegi S., Suematsu N., Sato H. (2013a) Cholinergic modulation of response gain in the rat primary visual cortex. *Scientific reports* 3:1138.
- Soma S., Suematsu N., Shimegi S. (2013b) Cholinesterase inhibitor, donepezil, improves visual contrast detectability in freely behaving rats. *Behav Brain Res* 256:362-367.
- Thiele A. (2013) Muscarinic signaling in the brain. *Annual review of neuroscience* 36:271-294.
- Volpicelli L.A., Levey A.I. (2004) Muscarinic acetylcholine receptor subtypes in cerebral cortex and hippocampus. *Prog Brain Res* 145:59-66.
- Wess J. (2003) Novel insights into muscarinic acetylcholine receptor function using gene targeting technology. *Trends Pharmacol Sci* 24:414-420.
- Wess J. (2004) Muscarinic acetylcholine receptor knockout mice: novel phenotypes and clinical implications. *Annual review of pharmacology and toxicology* 44:423-450.
- Zaborszky L., Duque A. (2000) Local synaptic connections of basal forebrain neurons. *Behav Brain Res* 115:143-158.
- Zhang W., Basile A.S., Gomeza J., Volpicelli L.A., Levey A.I., Wess J. (2002) Characterization of central inhibitory muscarinic autoreceptors by the use of muscarinic acetylcholine receptor knock-out mice. *J Neurosci* 22:1709-1717.

IV.8 Figures

Figure IV.1 Experimental groups.

Experimental groups. mRNA expression measured by qRT-PCR – represented by the machine – was performed on three regions sampled in twelve experimental groups. The regions, i.e. basal forebrain (BF), somatosensory cortex (SS) and primary visual cortex (V1) are represented by coronal sections at -0.3, -3 and -7 mm from Bregma (upper panel). Three treatments were administered, i.e. saline, electrical stimulation of the basal forebrain (HDB stim), or donepezil (DPZ) during daily 10 min visual stimulation (VS). mRNA expression was performed at rest without VS or after 1, 7, 14 days of VS (blue boxes).

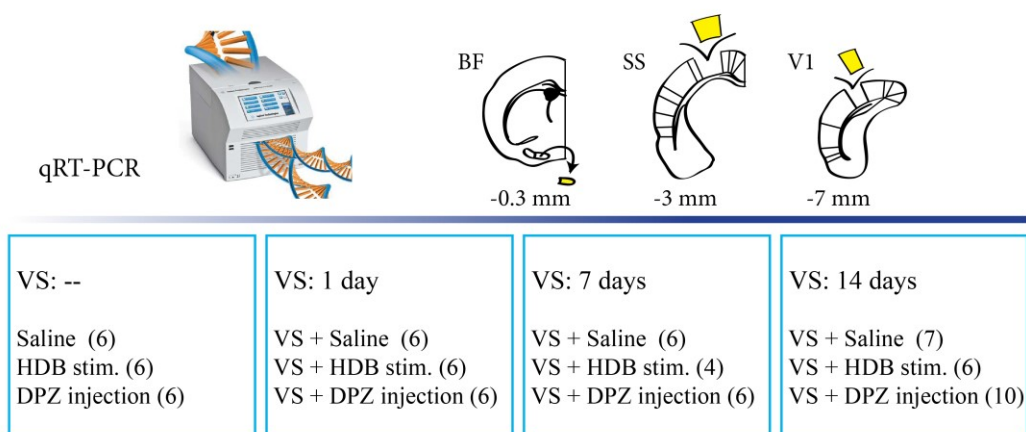


Figure IV.2 Representation of the significant changes in the mRNA expression at 0, 1, 7, 14 days of visual stimulation combined with saline or Donepezil injection and HDB electrical stimulation in the primary visual cortex.

The main change in mRNA expression occurred in (A)m2, (B) m3, (C) m4, (D)m5 mAChRs, as well as (E) $\alpha 7$ and (F) $\beta 4$ nAChR subunits and plasticity markers (G) NMDA and (H) GAD65 were increased by the electrical stimulation of the HDB, and reduced by the combination of the electrical stimulation and visual training. m3 was increased at the end of the visual training coupled with DPZ administration. (I) In the somatosensory cortex, the $\beta 4$ nAChR subunit was increased by the electrical stimulation of the HDB, but not during the subsequent combination of the electrical stimulation and visual training. Receptor expression was demonstrated as the ratio receptor mRNA / 18S mRNA $\Delta\Delta CT$ value \pm SEM; VS: --, no visual stimulation; VS: 1,7, 14 days: 10 min visual stimulation, daily, for 1, 7 or 14 days; Saline: Saline Treatment; HDB: HDB electrical stimulation; DPZ: 1mg donepezil daily i.p. administration.

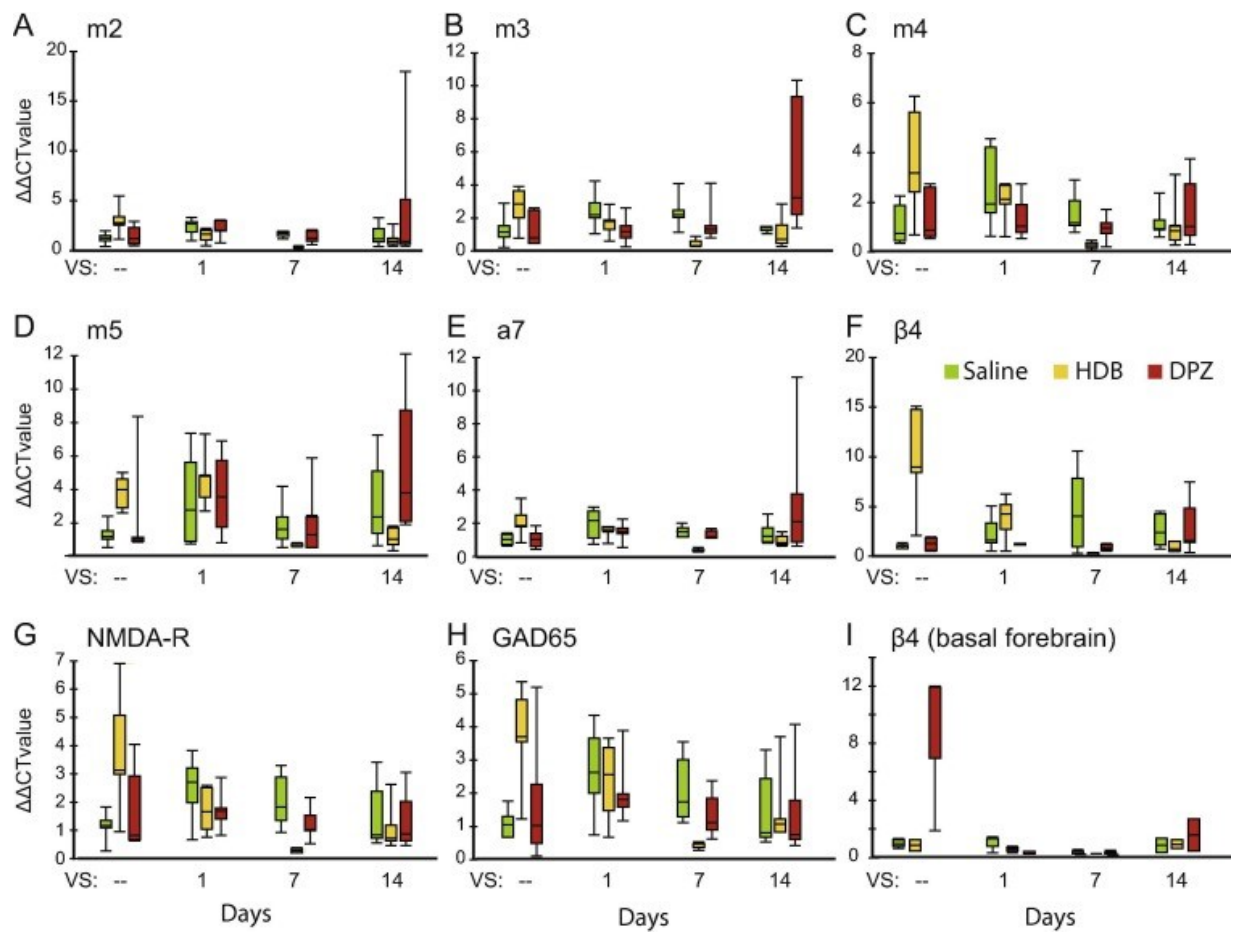
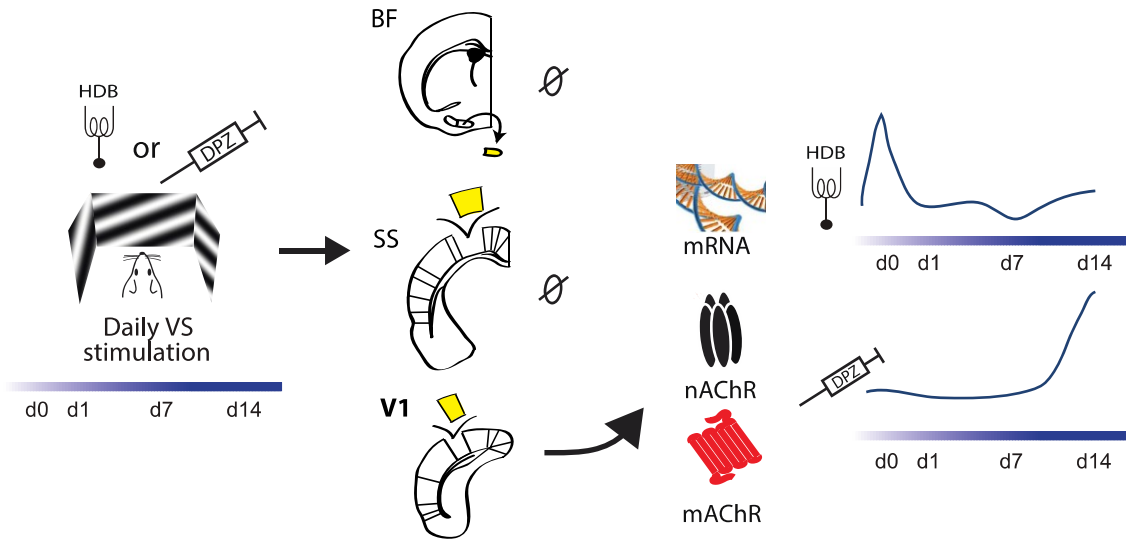


Figure IV.3 Graphical abstract



IV.9 Tables

Table IV.1 Primer list

18S	Forward	5'-TCAACTTTCGATGGTAGTCGCCGT-3'
	Reverse	5'-TCCTTGGATGTGGTAGCCGTTTCT-3'
m1	Forward	5'-AGCAGCTCAGAGAGGTCACAGGCA-3'
	Reverse	5'-GGGCCTCTTGACTGCATTTGGGGA-3'
m2	Forward	5'-CAAGACCCAGTATCTCCGAGTCTG-3'
	Reverse	5'-CGACGACCCAAGTCTTCTACAGT-3'
m3	Forward	5'-ACAGAAGCGGAGGCAGAAAACCTT-3'
	Reverse	5'-CTTGAAGGACAGTAGAGTAGC-3'
m4	Forward	5'-AAGGAGAAGAAGGCCAAGACTCTG-3'
	Reverse	5'-GCGAGCAATGCTGGCAAACCTTTCG-3'
m5	Forward	5'-TGTAGCAGCTACCCCTCTTCAGAG-3'
	Reverse	5'-AGCAGCAGCTGGAGACAGAAAGTA-3'
α 3	Forward	5'-ATTGCCGAAAACATGAAAGC-3'
	Reverse	5'-CCAGGATGAAAACCCAGAGA-3'
α 4	Forward	5'-GACCACCTCAAGGCAGAAGA-3'
	Reverse	5'-CCCAGAAGGCAGACAATGAT-3'
α 7	Forward	5'-TATCACCACCATGACCCTGA-3'
	Reverse	5'-CAGAAACCATGCACACCAGT-3'
β 2	Forward	5'-TGCGAAGTGAGGATGATGAC-3'
	Reverse	5'-ACGGTCCCAAAGACACAGAC-3'
β 4	Forward	5'-AGCGATGACCGAGATCAAAG-3'
	Reverse	5'-ACAAACACGAACACCCACAG-3'
NMDA	Forward	5'-CTGGCCT(G/C)AGTGACAAGAAGTTCC-3'
	Reverse	5'-CAGATGAAGGTGATGAGGCTGAGG-3'
GAD65	Forward	5'-TCTTTTCTCCTGGTGGTGCC-3'
	Reverse	5'-CCCCAAGCAGCATCCACAT-3'
ChAT	Forward	5'-AAAAGGCTCCCCAAAAGATG-3'
	Reverse	5'-TTCAGCCAGTATTCAGAGACCC-3'

Table IV.2 Expression of the cholinergic receptors in the primary visual cortex V1

Receptor		Visual Treatment			
		VS: --	VS: 1 day	VS: 7 days	VS: 14 days
<i>Muscarinic receptor subtype</i>					
m1	Saline	0.91 (0.61-2.00)	1.71 (0.86-2.96)	1.67 (1.46-2.03)	1.72 (0.95-2.39)
	HDB	2.26 (0.92-5.65)	1.52 (0.37-1.82)	0.49 (0.39-0.53)	1.14 (0.80-3.48)
	DPZ	1.06 (0.63-2.37)	1.91 (0.37-2.19)	1.24 (0.76-2.86)	1.75 (0.72-4.51)
m2	Saline	1.17 (0.30-1.91)	2.64 (0.94-3.28)	1.65 (1.13-1.91)	1.16 (0.36-3.29)
	HDB	2.67 (1.03-5.43)	1.57 (0.43-2.14)	0.31 (0.13-0.37)	0.91 (0.43-2.74)
	DPZ	1.18 (0.39-2.82)	1.96 (0.76-3.01)	1.18 (0.52-2.00)	0.89 (0.35-18.4)
m3	Saline	1.14 (0.23-2.87)	2.15 (1.05-4.220)	2.17 (1.20-4.19)	1.41 (1.04-1.45)
	HDB	2.87 (0.76-3.88)	1.79 (0.67-2.84)	0.28 (0.26-0.84)	0.74 (0.29-2.85)
	DPZ	1.01 (0.48-2.56)	1.13 (0.27-2.55)	1.28 (0.81-4.11)	3.20 (1.40-10.2)
m4	Saline	0.90 (0.49-2.31)	2.01 (0.76-4.53)	1.25 (0.87-2.94)	1.04 (0.69-2.48)
	HDB	3.18 (0.77-6.11)	2.16 (0.66-2.78)	0.30 (0.16-0.46)	0.93 (0.42-3.25)
	DPZ	1.04 (0.68-2.74)	1.15 (0.69-2.79)	1.04 (0.29-1.75)	1.11 (0.45-7.49)
m5	Saline	1.04 (0.38-2.13)	2.60 (0.55-7.31)	1.51 (0.39-4.11)	2.24 (0.48-7.21)
	HDB	3.86 (2.44-4.87)	4.70 (2.52-7.16)	0.45 (0.34-0.63)	0.82 (0.20-1.61)
	DPZ	0.80 (0.48-8.25)	3.45 (0.63-6.86)	1.10 (0.31-5.60)	3.66 (1.76-12.2)
<i>Nicotinic receptor subunit</i>					
$\alpha 3$	Saline	0.95 (0.70-1.54)	2.66 (0.47-7.10)	1.37 (0.10-1.66)	1.25 (0.43-7.20)
	HDB	4.45 (0.53-5.07)	1.87 (0.42-3.36)	0.27 (0.24-3.23)	0.90 (0.21-1.78)
	DPZ	0.95 (0.57-4.08)	1.09 (0.31-5.13)	0.91 (0.58-2.52)	0.80 (0.27-25.69)
$\alpha 4$	Saline	0.92 (0.63-2.26)	3.10 (1.42-5.45)	1.65 (1.15-2.19)	1.04 (0.42-4.58)
	HDB	1.61 (0.58-4.14)	1.58 (1.21-2.69)	1.15 (0.37-5.12)	1.40 (0.90-4.49)
	DPZ	0.66 (0.53-3.14)	2.65 (1.41-18.71)	1.01 (0.77-3.16)	0.83 (0.31-11.5)
$\alpha 7$	Saline	1.03 (0.68-1.40)	2.12 (0.73-2.88)	1.48 (1.18-1.94)	1.20 (0.84-2.48)
	HDB	1.79 (0.86-3.37)	1.69 (0.83-1.75)	0.36 (0.30-0.47)	0.85 (0.64-1.48)
	DPZ	0.73 (0.43-1.85)	1.44 (0.65-2.13)	1.15 (1.08-1.67)	2.08 (0.66-9.74)
$\beta 2$	Saline	0.99 (0.73-1.53)	1.67 (0.94-2.79)	1.45 (0.90-1.79)	0.60 (0.40-1.39)
	HDB	1.13 (0.79-1.97)	1.33 (0.88-1.87)	0.98 (0.43-1.72)	1.13 (0.95-1.53)
	DPZ	0.81 (0.62-2.05)	1.65 (1.27-3.00)	1.09 (0.83-1.91)	0.62 (0.34-7.76)
$\beta 4$	Saline	1.00 (0.79-1.34)	1.60 (0.49-5.07)	4.03 (0.38-10.6)	2.41 (0.77-4.47)
	HDB	9.11 (2.05-15.3)	4.25 (0.43-6.33)	0.28 (0.18-0.37)	0.70 (0.40-1.50)
	DPZ	1.04 (0.38-6.71)	1.25 (0.34-2.01)	0.85 (0.53-3.52)	1.61 (0.37-14.3)
<i>Plasticity markers</i>					
NMDA R	Saline	1.11 (0.31-0.81)	2.66 (0.68-3.78)	1.79 (0.93-3.25)	0.83 (0.58-3.35)
	HDB	3.11 (0.97-6.79)	1.67 (0.80-2.57)	0.32 (0.26-0.37)	0.72 (0.47-2.61)
	DPZ	0.97 (0.63-3.98)	1.68 (0.83-2.83)	1.04 (0.54-2.16)	0.89 (0.45-3.01)
GAD65	Saline	0.97 (0.67-1.73)	2.57 (0.74-4.34)	1.71 (1.07-3.55)	0.76 (0.54-3.32)
	HDB	3.71 (1.23-5.33)	2.56 (0.67-3.63)	0.34 (0.28-0.52)	1.07 (0.50-3.69)
	DPZ	1.24 (0.10-5.18)	1.78 (1.12-3.86)	1.14 (0.57-2.35)	0.77 (0.44-4.05)
ChAT	Saline	0.98 (0.61-1.68)	1.44 (0.53-3.93)	1.89 (0.95-3.58)	1.14 (0.65-1.78)
	HDB	3.44 (1.07-5.15)	3.29 (0.54-6.77)	0.57 (0.33-0.99)	1.09 (0.29-4.34)
	DPZ	1.09 (0.54-5.18)	1.39 (0.39-2.17)	1.14 (0.61-6.03)	1.19 (0.26-2.13)

Receptor expression (receptor mRNA / 18S mRNA) $\Delta\Delta\text{CT}$ value, expressed as median (MIN-MAX); VS: --, no visual stimulation; VS: 1, 7, 14days: 10 min visual stimulation, daily, for 1, 7 or 14 days; Saline: Saline Treatment; HDB: HDB electrical stimulation; DPZ: 1mg donepezil daily i.p. administration.

Table IV.3 Expression of the cholinergic receptors in the somatosensory cortex

Receptor		Visual Treatment			
		VS: --	VS: 1 day	VS: 7 days	VS: 14 days
<i>Muscarinic receptor subtype</i>					
m1	Saline	0.99 (0.82-1.25)	1.01 (0.04-1.92)	0.83 (0.32-1.62)	1.00 (0.27-1.32)
	HDB	1.11 (0.60-1.30)	0.76 (0.53-1.32)	0.67 (0.46-1.68)	1.00 (0.60-1.83)
	DPZ	1.10 (0.93-2.54)	0.94 (0.38-1.47)	1.16 (0.72-1.45)	1.09 (0.76-1.56)
m2	Saline	1.22 (0.46-1.60)	1.06 (0.23-1.48)	0.76 (0.42-1.46)	1.01 (0.44-1.19)
	HDB	0.79 (0.36-1.28)	0.68 (0.49-2.18)	1.09 (0.67-1.68)	1.16 (0.61-2.24)
	DPZ	1.75 (0.63-2.41)	1.39 (0.23-2.00)	1.04 (0.30-1.33)	1.37 (0.69-1.97)
m3	Saline	1.01 (0.38-1.94)	0.91 (0.18-2.50)	0.43 (0.11-1.57)	0.95 (0.18-1.03)
	HDB	0.67 (0.28-1.00)	0.44 (0.11-0.82)	0.82 (0.35-1.58)	0.54 (0.21-0.92)
	DPZ	1.10 (0.28-2.86)	1.00 (0.15-2.00)	0.63 (0.28-1.21)	0.73 (0.32-1.96)
m4	Saline	1.00 (0.58-1.80)	1.50 (0.38-3.24)	0.92 (0.57-2.41)	1.18 (0.03-1.60)
	HDB	1.52 (0.78-2.36)	1.01 (0.72-2.60)	1.64 (0.48-3.21)	1.42 (0.76-3.03)
	DPZ	1.85 (0.87-4.81)	1.09 (0.57-2.48)	1.16 (0.86-2.50)	2.42 (1.05-4.81)
m5	Saline	1.62 (0.17-1.96)	3.32 (0.68-6.01)	2.30 (1.64-3.30)	1.19 (0.83-1.67)
	HDB	2.86 (0.59-6.47)	2.04 (0.90-4.87)	1.49 (0.35-3.30)	2.29 (0.66-4.45)
	DPZ	3.91 (0.97-5.79)	1.68 (0.25-2.91)	1.23 (0.11-3.36)	2.50 (1.52-8.33)
<i>Nicotinic receptor subunit</i>					
$\alpha 3$	Saline	1.01 (0.66-1.53)	1.24 (0.64-3.75)	0.52 (0.40-0.86)	0.81 (0.16-1.06)
	HDB	0.69 (0.46-1.79)	0.81 (0.42-1.24)	0.96 (0.93-1.29)	0.71 (0.28-1.19)
	DPZ	1.76 (0.55-4.13)	0.68 (0.16-1.95)	0.77 (0.68-1.00)	1.16 (0.75-1.83)
$\alpha 4$	Saline	1.04 (0.75-1.16)	1.07 (0.35-1.84)	0.70 (0.57-1.36)	0.97 (0.13-1.80)
	HDB	0.82 (0.46-1.03)	0.73 (0.54-1.02)	0.46 (0.33-1.29)	0.74 (0.56-1.28)
	DPZ	0.92 (0.49-4.76)	0.81 (0.30-1.02)	0.87 (0.63-1.01)	0.90 (0.57-1.51)
$\alpha 7$	Saline	1.05 (0.57-1.38)	1.07 (0.48-1.57)	0.89 (0.61-0.95)	1.08 (0.29-1.22)
	HDB	0.91 (0.55-1.96)	1.01 (0.51-1.66)	1.05 (0.75-1.60)	0.83 (0.55-1.62)
	DPZ	1.12 (0.69-2.63)	0.92 (0.30-1.12)	0.92 (0.71-1.12)	1.18 (0.78-1.41)
$\beta 2$	Saline	0.98 (0.80-1.27)	1.17 (0.51-1.43)	0.78 (0.63-1.35)	1.14 (0.15-1.82)
	HDB	0.86 (0.50-1.18)	1.01 (0.77-1.26)	0.61 (0.43-1.19)	0.79 (0.69-0.96)
	DPZ	0.86 (0.70-3.52)	0.76 (0.39-0.93)	0.86 (0.66-1.17)	0.75 (0.56-1.59)
$\beta 4$	Saline	1.69 (0.11-4.10)	0.51 (0.34-1.07)	0.42 (0.10-2.64)	2.09 (0.03-4.75)
	HDB	0.77 (0.17-2.11)	1.07 (0.31-6.19)	1.87 (0.26-22.8)	1.09 (0.16-2.75)
	DPZ	0.65 (0.02-1.41)	0.54 (0.12-4.39)	0.39 (0.15-0.77)	1.09 (0.42-3.60)
<i>Plasticity markers</i>					
NMDA R	Saline	1.01 (0.43-1.75)	1.16 (0.15-2.35)	0.61 (0.25-0.94)	0.74 (0.13-1.31)
	HDB	0.63 (0.47-1.04)	0.48 (0.16-1.39)	0.91 (0.49-1.61)	0.68 (0.54-1.77)
	DPZ	1.32 (0.93-2.03)	1.31 (0.23-2.31)	0.92 (0.40-1.12)	1.00 (0.63-1.48)
GAD65	Saline	1.01 (0.36-2.00)	0.92 (0.23-1.54)	0.61 (0.30-1.09)	0.75 (0.17-0.96)
	HDB	0.59 (0.30-1.05)	0.70 (0.33-1.25)	0.92 (0.46-1.58)	0.81 (0.42-1.49)
	DPZ	1.15 (0.60-2.29)	1.44 (0.13-1.86)	0.84 (0.22-1.07)	0.97 (0.65-1.63)
ChAT	Saline	1.13 (0.44-1.92)	0.83 (0.43-2.52)	0.80 (0.41-0.96)	0.88 (0.10-1.43)
	HDB	0.60 (0.46-2.24)	0.99 (0.45-1.62)	1.65 (0.90-1.86)	0.99 (0.54-1.36)
	DPZ	1.50 (0.26-1.92)	1.38 (0.46-3.18)	1.39 (0.39-1.56)	0.98 (0.95-1.24)

Receptor expression (receptor mRNA / 18S mRNA) $\Delta\Delta\text{CT}$ value, expressed as median (MIN-MAX); VS: --, no visual stimulation; VS: 1, 7, 14days: 10 min visual stimulation, daily, for 1, 7 or 14 days; Saline: Saline Treatment; HDB: HDB electrical stimulation; DPZ: 1mg donepezil daily i.p. administration.

Table IV.4 Expression of the cholinergic receptors in the basal forebrain

Receptor		Visual Treatment			
		VS: --	VS: 1 day	VS: 7 days	VS: 14 days
<i>Muscarinic receptor subtype</i>					
m1	Saline	1.25 (0.51-1.58)	0.96 (0.44-2.22)	0.69 (0.21-1.83)	0.18 (0.28-1.89)
	HDB	0.97 (0.21-1.73)	0.32 (0.23-0.44)	0.29 (0.23-0.34)	3.17 (1.26-5.07)
	DPZ	2.38 (2.00-3.98)	1.03 (0.79-1.63)	0.71 (0.51-2.98)	0.40 (0.23-0.58)
m2	Saline	0.96 (0.85-1.23)	0.75 (0.68-2.46)	0.92 (0.40-1.35)	0.93 (0.62-1.24)
	HDB	0.89 (0.38-1.40)	0.78 (0.51-1.14)	0.57 (0.54-0.60)	0.74 (0.58-0.90)
	DPZ	0.47 (0.37-0.56)	0.82 (0.53-1.14)	0.25 (0.16-0.46)	1.24 (0.94 (1.54)
m3	Saline	1.14 (0.70-1.25)	0.74 (0.70-0.75)	0.83 (0.58-1.44)	2.13 (1.64-2.63)
	HDB	0.70 (0.55-0.86)	0.68 (0.66-0.76)	0.73 (0.45-1.01)	0.65 (0.62-0.69)
	DPZ	0.43 (0.40-0.66)	0.90 (0.60-1.10)	0.17 (0.15-0.58)	1.35 (1.09-1.61)
m4	Saline	1.19 (0.68-1.23)	1.12 (1.26-1.74)	0.73 (0.31-2.77)	1.51 (0.60-3.10)
	HDB	1.88 (0.58-3.18)	0.63 (0.36-0.69)	0.38 (0.29-0.46)	3.42 (1.24-5.59)
	DPZ	1.36 (0.39-2.00)	0.99 (0.94-1.57)	0.90 (0.60-3.10)	0.77 (0.56-0.98)
m5	Saline	1.02 (0.82-1.19)	0.63 (0.11-0.83)	0.36 (0.30-0.86)	2.16 (0.72-3.61)
	HDB	0.70 (0.57-0.83)	0.96 (0.89-1.91)	1.12 (0.69-1.55)	1.17 (1.08-1.26)
	DPZ	0.50 (0.46-0.60)	1.20 (1.00-1.21)	0.64 (0.12-1.48)	0.77 (0.20-1.34)
<i>Nicotinic receptor subunit</i>					
$\alpha 3$	Saline	0.97 (0.50-2.07)	0.84 (0.42-1.15)	0.81 (0.66-1.00)	1.81 (0.90-2.73)
	HDB	0.93 (0.92-0.93)	1.69 (1.34-2.76)	0.78 (0.28-1.29)	0.84 (0.69-0.990)
	DPZ	0.67 (0.46-0.69)	0.59 (0.55-1.02)	0.38 (0.21-1.98)	14.1 (0.53-27.6)
$\alpha 4$	Saline	0.92 (0.67-1.63)	0.49 (0.39-0.64)	1.51 (0.42-2.72)	1.37 (1.13-1.62)
	HDB	0.59 (0.50-0.69)	0.96 (0.55-1.13)	0.65 (0.35-0.96)	0.76 (0.71-0.81)
	DPZ	0.47 (0.19-1.41)	0.84 (0.46-0.87)	0.50 (0.36-0.81)	9.74 (1.08-18.4)
$\alpha 7$	Saline	1.09 (0.75-1.22)	0.84 (0.47-1.35)	1.21 (0.59-6.52)	1.84 (0.97-2.70)
	HDB	1.15 (0.90-1.39)	1.23 (1.06-1.34)	1.97 (1.66-2.27)	0.95 (0.83-1.06)
	DPZ	0.69 (0.58-1.43)	1.27 (0.92-1.38)	1.02 (0.83-1.02)	1.00 (0.50-1.49)
$\beta 2$	Saline	0.93 (0.92-1.17)	0.96 (0.93-1.47)	0.63 (0.60-1.28)	1.28 (0.73-1.84)
	HDB	0.83 (0.78-0.88)	0.87 (0.76-0.880)	0.98 (0.69-1.28)	0.79 (0.58-1.00)
	DPZ	0.78 (0.49-1.04)	0.94 (0.67-1.18)	0.69 (0.63-0.95)	1.45 (1.04-1.86)
$\beta 4$	Saline	1.06 (0.69-1.37)	1.35 (0.35-1.45)	0.33 (0.25-0.50)	0.87 (0.40-1.35)
	HDB	0.87 (0.51-1.24)	0.63 (0.33-0.82)	0.30 (0.29-0.31)	0.94 (0.64-1.23)
	DPZ	12.1 (1.92-12.2)	0.31 (0.30-0.49)	0.30 (0.18-0.50)	1.60 (0.46-2.74)
<i>Plasticity markers</i>					
NMDA R	Saline	0.92 (0.89-1.22)	0.47 (0.43-1.28)	0.79 (0.70-0.88)	1.09 (0.85-1.33)
	HDB	1.05 (0.95-1.15)	0.77 (0.73-1.04)	0.73 (0.21-1.24)	1.76 (1.30-2.21)
	DPZ	1.10 (0.68-1.55)	0.91 (0.76-0.96)	0.22 (0.15-0.68)	1.60 (0.84-2.35)
GAD65	Saline	1.02 (0.91-1.08)	0.50 (0.44-1.07)	0.53 (0.32-0.72)	1.23 (0.48-1.97)
	HDB	0.87 (0.86-0.89)	0.82 (0.12-1.16)	0.67 (0.17-1.16)	0.99 (0.80-1.18)
	DPZ	0.57 (0.47-0.96)	0.98 (0.69-1.17)	0.21 (0.17-1.00)	0.65 (0.28-1.03)
ChAT	Saline	0.92 (0.88-1.24)	2.32 (2.02-2.87)	3.71 (0.76-5.19)	0.69 (0.51-0.87)
	HDB	3.40 (0.07-6.73)	1.47 (0.13-2.39)	0.12 (0.09-0.15)	1.34 (0.96-1.71)
	DPZ	1.27 (0.08-2.15)	1.58 (0.15-2.00)	0.21 (0.21-0.24)	0.78 (0.00-1.57)

Receptor expression (receptor mRNA / 18S mRNA) $\Delta\Delta\text{CT}$ value, expressed as median (MIN-MAX); VS: --, no visual stimulation; VS: 1, 7, 14 days: 10 min visual stimulation, daily, for 1, 7 or 14 days; Saline: Saline Treatment; HDB: HDB electrical stimulation; DPZ: 1mg donepezil daily i.p. administration.

Chapitre V : Quatrième article

Publié dans

Front. Synaptic Neurosci., 19 June 2015

PMID: 26150786

Distribution and effects of the muscarinic receptor subtypes in the primary visual cortex

Marianne Groleau, Jun Il Kang, Frédéric Huppé-Gourgues and Elvire Vaucher*

Laboratoire de Neurobiologie de la Cognition Visuelle, École d'optométrie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Contributions :

Marianne Groleau et Elvire Vaucher ont rédigé le manuscrit avec l'aide de Jun Il Kang et Frédéric Huppé-Gourgues

V.1 Abstract

Muscarinic cholinergic receptors modulate the activity and plasticity of the visual cortex. Muscarinic receptors are divided into five subtypes that are not homogeneously distributed throughout the cortical layers and cells types. This distribution results in complex action of the muscarinic receptors in the integration of visual stimuli. Selective activation of the different subtypes can either strengthen or weaken cortical connectivity (e.g., thalamocortical vs. corticocortical), i.e., it can influence the processing of certain stimuli over others. Moreover, muscarinic receptors differentially modulate some functional properties of neurons during experience-dependent activity and cognitive processes and they contribute to the fine-tuning of visual processing. These functions are involved in the mechanisms of attention, maturation and learning in the visual cortex. This minireview describes the anatomo-functional aspects of muscarinic modulation of the primary visual cortex's (V1) microcircuitry.

V.2 Introduction

Acetylcholine (ACh) is released in the primary visual cortex (V1) by visual stimulation, especially by novel stimuli (Collier and Mitchell, 1966; Laplante et al., 2005) and attentional demand (Herrero et al., 2008). The cholinergic innervation of the cortex originates from the basal forebrain neurons through topographical projections. Specifically, V1 receives cholinergic projections from the horizontal limb of the diagonal band of Broca (Gaykema et al., 1990; Laplante et al., 2005). In V1, ACh modulates the responses of cortical neurons to visual or cortico-cortical inputs through two receptor families, the metabotropic muscarinic receptors (mAChRs) and the ionotropic nicotinic receptors (nAChRs; Prusky et al., 1987; Volpicelli and Levey, 2004; Disney et al., 2007; Thiele, 2013). These receptors are located on axons originating from thalamic, cortical or basalocortical fibers as well as on pyramidal excitatory neurons and inhibitory GABAergic interneurons (Zilles et al., 1989; Mrzljak et al., 1993; Hashimoto et al., 1994; Thiele, 2013). They are found in each level of the V1 cortical circuitry, i.e., the recipient layer of the thalamic projections, in layer IV neurons and their lateral

projections, and throughout the vertical intracortical connections that convey the information to supragranular (I, II/III) and infragranular (V, VI) layers (Burkhalter, 1989; Van Hooser, 2007).

The V1 microcircuitry, whose connectivity is organized vertically and horizontally, provides an anatomical substrate for the receptive field—binocularity (Dräger and Olsen, 1980; Grieve, 2005) or ocular dominance (LeVay et al., 1978; Cynader et al., 1987)—and for the selective properties of the neurons—orientation (Grinvald et al., 1986), direction (Shmuel and Grinvald, 1996; DeAngelis et al., 1999) and contrast preference (Levitt and Lund, 1997), for example. Each functional property of the neuron results from the sum and diversity of the connections it receives and might be adapted according to the strength of the inputs received. The strength of the neuronal response further determines the transmission and processing of the stimulus in higher cognitive cortical areas. V1 is thus the first cortical step of the integration of complex visual stimuli. Its modulation by ACh is then important for the selection of specific stimuli from the visual field and the elaboration of fine visual conscious perception.

In this mini review, we discuss how muscarinic transmission plays a key role in neuronal transmission, synaptic strength and the interaction between excitatory and inhibitory neurons. These mechanisms lead to the reinforcement of particular neuronal connections and contribute to the processes of memory, perceptual learning and attention but also to the maturation and the fine-tuning of the visual cortex.

V.3 Muscarinic Receptors' Organization in the Primary Visual Cortex

In the neonatal and adult cortices, the five subtypes of mAChRs (M1–M5) are present in both pre- and postsynaptic positions (Wess, 2003; Krnjević, 2004). The terms pre- and postsynaptic are used here to identify the neuronal location of the receptors even though the cholinergic system acts in the cerebral cortex mostly by diffuse transmission rather than synaptic transmission (Umbriaco et al., 1994; Descarries et al., 1997) except in layer V, where the synaptic density on cholinergic terminals is particularly rich (Avendano et al., 1996; Turrini et al., 2001). Depending on the species, the density of each subtype of mAChR differs across the

cortical layers (I–VI; Gu, 2003). The species-selective immunocytochemical detection of the different subtypes of mAChRs may, however, vary due to the poor specificity of the antibodies, especially in rodents (Jositsch et al., 2009). Many studies have thus used binding or mRNA expression of the mAChRs to localize them within the cortical microcircuitry. In the rodent's visual cortex, the subtypes M1 and M2 predominate. In humans (and primates), the subtypes M1, M2 and M4 prevail (Flynn et al., 1995).

The M1, M3 and M5 subtypes are mainly post-synaptic and lead to an increase in the intracellular Ca^{2+} concentration by activating phospholipase C (PLC; Figure 1A). These receptors are coupled with $G_{\alpha q/11}$ G-proteins. In the cerebral cortex, the M1 subtype, the main excitatory mAChR subtype (Levey et al., 1991; Caulfield and Birdsall, 1998; Lucas-Meunier et al., 2003; Wess, 2003; Krnjević, 2004; Thiele, 2013), appears to be present mainly in layers II/III and VI, but it is found in all the cortical layers (Levey et al., 1991; Aubert et al., 1996; Vaucher et al., 2002; Roberts et al., 2005). In rats, M1 mAChRs represent almost 40% of the total mAChRs (Levey et al., 1991), and in the human occipital cortex, they represent nearly 35% (Flynn et al., 1995). This subtype is found essentially on the cell bodies and dendrites of postsynaptic pyramidal cells (Mrzljak et al., 1993; Gu, 2003; Gullledge et al., 2009; Figure 2A). However, in the primate's visual cortex, the M1 mAChR seems to be largely expressed on GABAergic interneurons (Disney et al., 2006). M1 is also found on the cortico-cortical fibers, where it plays an inhibitory role by reducing excitatory transmission across horizontal as well as long-range cortico-cortical connections (Amar et al., 2010). The M3 subtype is located on the rat intracortical cell bodies and dendrites at a postsynaptic level, but it is virtually not detected in V1 by immunocytochemistry (Levey et al., 1994). In spite of this, the M3 receptor appears to be involved in several functions of the rodent's V1 (see other sections), and it is expressed in GABAergic interneurons, where it enhances the transmission of γ -Aminobutyric acid (GABA; Amar et al., 2010). The M5 subtype is found on endothelial cells and only small number is found in the rodent's (Elhusseiny and Hamel, 2000) and human's visual cortex (Flynn et al., 1995). The M5 subtype has a major function in cortical perfusion.

The M2 and M4 subtypes are found mostly at the presynaptic level, extending the opening of potassium channels by reducing the intracellular concentration of cAMP (Figure 1B). They are coupled to $G_{ai/o}$ G-protein, inhibiting adenylyl cyclase (Caulfield and Birdsall, 1998; Wess,

2003). These subtypes appear to have an inhibitory function. Among the presynaptic receptors in the rodent and human visual cortex, the M2 receptor is very abundant and the M4 subtype is less prevalent (Flynn et al., 1995; Zhang et al., 2002). The M2 subtype is mainly found in layer IV (thalamic recipient) and layer V in the rat's V1 (Zilles et al., 1989), but its distribution in the cortical layers, however, varies depending on the species (Gu, 2003). Its expression is up to 36% of the total mAChRs in the primate's V1 (Flynn et al., 1995). At the cholinergic terminals, the M2 subtype is the main inhibitory autoreceptor (Mrzljak et al., 1993; Figure 2B) and it decreases the release of ACh, thereby controlling extracellular levels of ACh by negative feedback (Rouse et al., 1999; Douglas et al., 2001; Bymaster et al., 2003). On GABAergic terminals, M2 activation inhibits the release of GABA (Salgado et al., 2007). Although predominantly presynaptic, M2 and M4 receptors are also present on the cell bodies of GABAergic interneurons in layers II/III and IV (Volpicelli and Levey, 2004)—representing 29% of the GABAergic cells in the primate (Disney and Aoki, 2008)—and on pyramidal cells (Mash and Potter, 1986; Kimura and Baughman, 1997), where its activation inhibits excitatory conductance (Amar et al., 2010).

V.4 Muscarinic Influence on Visual Processing in V1

The action of ACh on both pre- and postsynaptic mAChRs results in improved sensory coding of novel and trained visual stimuli (Kang et al., 2014). This change in neuron properties is due to improved neuronal sensitivity resulting from a change in membrane conductance, synaptic strength or connectivity with adjacent neurons and long-range cortical projections. The M1 and M3 subunits seem to have a strong influence on neuronal sensitivity because the optimal spatial frequency of the neuronal population is decreased and the contrast sensitivity is increased in M1/M3-KO mice (Groleau et al., 2014).

ACh has been shown to influence the response of V1 neurons in terms of intensity (Bröcher et al., 1992; Lewandowski et al., 1993; Gil et al., 1997; Kimura et al., 1999; Kirkwood et al., 1999; Kuczewski et al., 2005; Levy et al., 2006; Thiel, 2007; Dotigny et al., 2008; Kang and Vaucher, 2009; Pinto et al., 2013; Soma et al., 2013a,b,c), preferred responses (Murphy and Sillito, 1991; Roberts et al., 2005; Thiel, 2007) and receptive field properties (Herrero et al.,

2008; Thiel and Fink, 2008). ACh executes an action by controlling the gain of the neuron response (Soma et al., 2012,2013a). For example, ACh increases the gain of the visual response to contrast (Bhattacharyya et al., 2013; Soma et al., 2013a) or orientation selectivity (Zinke et al., 2006). These effects might be due to the facilitation of the depolarization of glutamatergic neurons in response to visual input (Figures 1, 2) due to the increased concentration of Ca²⁺ associated with NMDA receptor-gated conductance (Kirkwood et al., 1999) or the reduction of membrane K⁺ conductance (Thiele, 2013), both potentiated by the muscarinic receptors. The M1 mAChR also amplifies the spiny stellate cell/pyramidal cell response through a postsynaptic intracellular pathway (Gu, 2003), but inhibition through the M4 mAChR has also been observed on spiny neurons in the somatosensory cortex (Eggermann and Feldmeyer, 2009). M2 receptor activation of GABAergic perisomatic terminals (Figures 1, 2) inhibits the release of GABA, causing an increase in the cortical sensitivity of glutamatergic neurons (Sarter and Parikh, 2005; Sarter et al., 2005; Salgado et al., 2007). The M2 subtype, which is largely found on GABAergic cells in rodents, plays a strong role in the modulation of the intracortical GABAergic inhibitory drive.

The amplification of the neuronal response to a certain stimulus could also be due to the depression of the neural response of adjacent neurons that have distinct receptive field and selective properties. By acting on horizontal connections, ACh might thereby modulate the weight of a selective stimulus. In humans, an increase in extracellular ACh levels following the administration of donepezil (an inhibitor of the cholinesterase inhibitor) reduces the horizontal spread of the excitatory response following visual stimulation. This could result from a reduction in the size of the excitatory receptive field by ACh due to the depression of the lateral connectivity (Silver et al., 2008). The reduction of the spread of lateral excitation (Kimura et al., 1999) and neuron depression (Kimura and Baughman, 1997; Soma et al., 2013b) following ACh administration is also shown in rodents. It is, however, possible that the cholinergic system not only inhibits the lateral competition but also strengthens the connectivity for a trained orientation, thereby increasing the number of responding neurons to this trained orientation (Kang et al., 2014). In primates, it has been suggested that the lateral connections between similarly tuned neurons are reinforced by cholinergic stimulation (Ramalingam et al., 2013). Such a change increases the cortical response (Frenkel et al., 2006), enhances the sensitivity of

trained visual stimulus (Matthews et al., 1999) and thus facilitates the discrimination from the background (Jehee et al., 2012).

An alternate action of the mAChRs in the increase of the neuron sensitivity of the afferent visual inputs is the increase in the long-term responsiveness of the neuron, leading to an acquired change of its functional property. The action mechanism of ACh strongly resembles long-term potentiation (Gu, 2003; Kang and Vaucher, 2009; Rodriguez et al., 2010; Kang et al., 2014) and heterosynaptic facilitation. When repetitive visual stimulation of sub-optimal orientation is paired with the application of ACh, the responses of neurons become stronger and more long-lasting at the expense of a diminishing response to the previous optimal orientation (Greuel et al., 1988; Kang et al., 2014). Moreover, coupling visual stimulation with cholinergic stimulation induces long-lasting increases in cortical responsiveness and improved visual acuity (Dringenberg et al., 2007; Kang and Vaucher, 2009; Kang et al., 2014) relative to NMDA-dependent mechanisms. The joint action of ACh on both GABAergic and glutamatergic neurons also compromises the excitation-inhibition balance (Amar et al., 2010). This would induce cortical plasticity (Arckens et al., 2000; Hensch and Fagiolini, 2005; Benali et al., 2008; Mainardi et al., 2009; Sale et al., 2010).

V.5 Muscarinic Influence on the Development and Maturation of the Visual Cortex

The above muscarinic contribution to the tuning of the receptive field and preferred properties of V1 neurons has a potent role in the maturation and fine-tuning of the visual cortex. The retinotopic organization of V1 is established during embryogenesis, and the properties of the neurons are acquired and refined during the post-natal period with visual experience, especially during the critical period. The critical period is thus an important time in the formation of synapses and pruning (Consonni et al., 2009) and for synaptic plasticity, which strengthens and stabilizes the neural connections.

It has been shown that the cholinergic system is essential during embryogenesis, although the amount of M1, M2 and M3 receptors is very small at the end of the rat prenatal period compared

with the adult animal. The cholinergic innervation in V1 is settled at the end of the first postnatal week, and a robust cholinergic staining is visible at P8 (Mechawar and Descarries, 2001). It is similar to the adult cholinergic innervation of the cortex at the end of the second postnatal week (Mechawar and Descarries, 2001). The cholinergic receptors are present in the cortex before the beginning of the critical period, which starts at the end of the third postnatal week (Fagiolini et al., 1994). Between weeks 3 and 5, M1 and M3 levels reach the levels found in the mature animal, while it is not until week 5 that the M2 receptor level reaches that found in the adult (Aubert et al., 1996). Thus, the level of muscarinic expression fits well with the acquisition of the functional properties of the V1 neurons and the establishment of the functional maps. In agreement with a role of the mAChRs in the maturation of the visual cortex rather than development by itself, we recently showed that the gross retinotopic map was virtually unaffected by diverse mAChR subtypes' deletion (Groleau et al., 2014). However, there was altered neuronal connectivity in adult M2/M4-KO mice as visualized using intrinsic signal optical imaging. In these animals, the spatial representation of the visual field was not smooth as it was in control mice, but rather it was stepwise, suggesting a lack of fine-tuning of the retinotopic map. M1/M3 deletion resulted in an alteration of the neurons' sensitivity. Therefore, different mAChRs or combinations thereof can modulate visual properties during the establishment of visual functions (Groleau et al., 2014).

In rodents, a basal forebrain lesion during the critical period transiently affects the ocular dominance of the visual cortical neurons, i.e., the preference response of the neuron to input of one eye over the other. In basal forebrain lesioned animals, an altered ocular dominance toward the contralateral eye is observed. However, at the end of the critical period, a cholinergic deafferentation does not alter ocular dominance (Siciliano et al., 1997). Immunolesion of the cholinergic fibers affects the mRNA expression of the M1 and M2 mAChR subtypes as measured by RT-PCR in young animals (Kuczewski et al., 2005), suggesting the involvement of these mAChR subtypes in the plasticity of the developing visual cortex. At the receptor level, the M1 subtype, but not the M2 subtype, is involved in ocular dominance because its blockade prevents the shift of ocular dominance (Gu and Singer, 1993).

The stabilization of the neuronal connections during maturation happens through synaptic plasticity, i.e., long-term potentiation and long-term depression. In the cortex, long-term

potentiation is strongly active during the critical period and experience-dependent plasticity (Crair and Malenka, 1995; Kirkwood et al., 1995). The involvement of mAChRs in critical period plasticity has been demonstrated through *in vitro* electrical stimulation. Long-term depression is dependent on the M1 receptor in layers II/III of the V1 in young rats (3–4 weeks). In adults, long-term depression also depends on the M3 receptor in addition to the M1 subtype (McCoy and McMahon, 2010). When the visual cortex was stimulated through a 100 Hz tetanic stimulation, long-term potentiation was recorded in the cortex of young M1/M3-KO, but not in M2/M4-KO, mice. Conversely, low frequency stimulation produced expected long-term depression in M2/M4-KO mice while long-term potentiation was recorded in M1/M3-KO mice. Thus, it appears that various subtypes of mAChRs regulate distinct forms of long-term synaptic plasticity (Origlia et al., 2006).

V.6 Muscarinic Influence on Visual Cognition

In adults, the effect of ACh on neuron sensitivity and the long-lasting enhancement of neuronal responses contribute to the processes of attention and perceptual learning. Indeed, the intensity of the response of V1 cells to a particular stimulus as well as the number of cells responding to the stimulus determine the weight for further processing of this stimulus in higher-level cortical areas, i.e., enhanced or depressed visual processing. In learning and experience-dependent acquisition of new visual abilities, the response selectivities of V1 neurons are changed (Froemke et al., 2007), as are neural connections, with an increased number of synaptic contacts or the formation of new neurons (Majewska and Sur, 2003; Hofer et al., 2009; Yamahachi et al., 2009). The synapse strength of V1 neurons is adjusted by long-term potentiation or depression, which is dependent on N-Methyl-D-aspartate receptor (NMDAR; Quinlan et al., 2004; de Marchena et al., 2008; Kang and Vaucher, 2009) and induces a persistent increase of cortical responsiveness to a particular stimulus. The synchronization of a large number of neurons firing rises to macroscopic oscillations, which change cortical activity.

Oscillation in gamma frequency is suggested to reflect cognitive activity, such as sensory perception (Cardin et al., 2009), attention (Fries, 2009) and learning (Paik and Glaser,

2010; Headley and Weinberger, 2011). Previous studies have demonstrated that cholinergic stimulation could increase gamma band activity (Rodriguez et al., 2004), and this can enhance visual encoding (Goard and Dan, 2009) or contrast sensitivity (Bhattacharyya et al., 2013). Specifically, the muscarinic influence on gamma band activity might be due to its action on GABAergic cells, which are also involved in gamma oscillations (Bartos et al., 2007; Sohal et al., 2009).

A number of studies have shown that lesion or blockade of the cholinergic system with antagonist injection in the primary sensory cortex could significantly reduce attentional task performance (Klinkenberg and Blokland, 2010). Different studies have shown that ACh could increase either pre- or postsynaptic responses via mAChR (Gil et al., 1997; Oldford and Castro-Alamancos, 2003). Such variation enables the cholinergic system to amplify relevant information at the expense of unreliable information, which is consistent with the function of attention (Briggs et al., 2013). A voluntary focus on a stimulus observed in top down attention originates from long range cortico-cortical connections from associative areas and the prefrontal cortex compared with bottom up attention reaching layer IV from thalamic afferents. Bottom up attention does not seem to be altered by the cholinergic system (Rokem and Silver, 2010), but sustained attention is altered by it. For example, cholinergic-dependent visual attention also results in modulating the size of the cortical receptive field. Focused attention within the receptive field will result in a decrease of its size, whereas attention paid right next to the receptive field will result in an increase in its size (Anton-Erxleben et al., 2009). Scopolamine, a non-specific mAChR antagonist, has been shown to disrupt the attentional mechanism at various levels (Klinkenberg and Blokland, 2010). Similarly, in V1, voluntary visual attention is suppressed by the blockade of mAChR (Herrero et al., 2008).

Compared with attention, which emphasizes the upcoming information, perceptual learning is a long-term process that improves behavioral performance after repetitive training. Recent studies have demonstrated that cholinergic innervation in V1 facilitates perceptual learning in rodents (Kang et al., 2014) and in humans (Rokem and Silver, 2010). Cholinergic activation during a visual task seems to increase the cortical response, resulting in an enhancement of visual capacity. An increase in the cortical response to the trained stimulus suggests an increase in the number of neurons encoding stimulus properties (Frenkel et al., 2006) and the efficiency of the

neuronal transmission between neurons (Gilbert and Li, 2012). mAChR-induced long-term modulation could thus change the efficiency of selective neuronal networks for this trained stimulus through the modulation of lateral connectivity and the enhancement of some feed-forward inputs. For example, a visual stimulus with the preferred orientation presented outside of the classic receptive field normally suppresses the neuronal visual response. However, after a perceptual learning task, the neuronal response can be enhanced (Kapadia et al., 2000) by this stimulus. Overall, a long-term increase in cortical neurons' activation could be due to mAChR strengthening the lateral connectivity between similarly tuned neurons, thereby changing the orientation index or the receptive field size.

V.7 Conclusion

Muscarinic transmission influences visual processing by facilitating or depressing neuronal responses to specific stimuli and by modulating lateral connections' strength and neuronal synchronization. This effect is primarily mediated through M1 and M2 mAChRs, the predominant muscarinic subtypes in V1, at least in rodents. These effects result in fine-tuning of the neuronal and network properties during maturation, attention and perceptual learning.

V.8 Conflict of Interest Statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

V.9 Acknowledgments

The authors acknowledge the financial support of the Canadian Institutes of Health Research (CIHR, MOP-111003) and the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC, 238835–2011). MG and JIK received financial support from the School of Optometry and the FRQS Vision Research Network.

V.10 Abbreviations

ACh, acetylcholine; GABA, γ -Aminobutyric acid; KO, knock-out; mAChRs, muscarinic acetylcholine receptors; M1, M2, M3, M4, M5, muscarinic receptor subtypes 1–5; nAChRs, nicotinic acetylcholine receptors; NMDAR, N-Methyl-D-aspartate receptor; V1, primary visual cortex.

V.11 References

- Amar, M., Lucas-Meunier, E., Baux, G., and Fossier, P. (2010). Blockade of different muscarinic receptor subtypes changes the equilibrium between excitation and inhibition in rat visual cortex. *Neuroscience* 169, 1610-1620.
- Anton-Erxleben, K., Stephan, V.M., and Treue, S. (2009). Attention reshapes center-surround receptive field structure in macaque cortical area MT. *Cereb Cortex* 19, 2466-2478.
- Arckens, L., Schweigart, G., Qu, Y., Wouters, G., Pow, D.V., Vandesande, F., Eysel, U.T., and Orban, G.A. (2000). Cooperative changes in GABA, glutamate and activity levels: the missing link in cortical plasticity. *Eur J Neurosci* 12, 4222-4232.
- Aubert, I., Cecyre, D., Gauthier, S., and Quirion, R. (1996). Comparative ontogenic profile of cholinergic markers, including nicotinic and muscarinic receptors, in the rat brain. *J Comp Neurol* 369, 31-55.
- Bartos, M., Vida, I., and Jonas, P. (2007). Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks. *Nat Rev Neurosci* 8, 45-56.
- Benali, A., Weiler, E., Benali, Y., Dinse, H.R., and Eysel, U.T. (2008). Excitation and inhibition jointly regulate cortical reorganization in adult rats. *J Neurosci* 28, 12284-12293.
- Bhattacharyya, A., Veit, J., Kretz, R., Bondar, I., and Rainer, G. (2013). Basal forebrain activation controls contrast sensitivity in primary visual cortex. *BMC Neurosci* 14, 55.
- Briggs, F., Mangun, G.R., and Usrey, W.M. (2013). Attention enhances synaptic efficacy and the signal-to-noise ratio in neural circuits. *Nature* 499, 476-480.
- Brocher, S., Artola, A., and Singer, W. (1992). Agonists of cholinergic and noradrenergic receptors facilitate synergistically the induction of long-term potentiation in slices of rat visual cortex. *Brain Res* 573, 27-36.
- Burkhalter, A. (1989). Intrinsic connections of rat primary visual cortex: laminar organization of axonal projections. *J Comp Neurol* 279, 171-186.
- Bymaster, F.P., Mckinzie, D.L., Felder, C.C., and Wess, J. (2003). Use of M1-M5 muscarinic receptor knockout mice as novel tools to delineate the physiological roles of the muscarinic cholinergic system. *Neurochemical research* 28, 437-442.
- Cardin, J.A., Carlen, M., Meletis, K., Knoblich, U., Zhang, F., Deisseroth, K., Tsai, L.H., and Moore, C.I. (2009). Driving fast-spiking cells induces gamma rhythm and controls sensory responses. *Nature* 459, 663-667.
- Caulfield, M.P., and Birdsall, N.J. (1998). International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol Rev* 50, 279-290.

- Collier, B., and Mitchell, J.F. (1966). The central release of acetylcholine during stimulation of the visual pathway. *J Physiol* 184, 239-254.
- Consonni, S., Leone, S., Becchetti, A., and Amadeo, A. (2009). Developmental and neurochemical features of cholinergic neurons in the murine cerebral cortex. *BMC Neurosci* 10, 18.
- Crair, M.C., and Malenka, R.C. (1995). A critical period for long-term potentiation at thalamocortical synapses. *Nature* 375, 325-328.
- Cynader, M.S., Swindale, N.V., and Matsubara, J.A. (1987). Functional topography in cat area 18. *J Neurosci* 7, 1401-1413.
- De Marchena, J., Roberts, A.C., Middlebrooks, P.G., Valakh, V., Yashiro, K., Wilfley, L.R., and Philpot, B.D. (2008). NMDA receptor antagonists reveal age-dependent differences in the properties of visual cortical plasticity. *J Neurophysiol* 100, 1936-1948.
- Deangelis, G.C., Ghose, G.M., Ohzawa, I., and Freeman, R.D. (1999). Functional micro-organization of primary visual cortex: receptive field analysis of nearby neurons. *J Neurosci* 19, 4046-4064.
- Descarries, L., Gisiger, V., and Steriade, M. (1997). Diffuse transmission by acetylcholine in the CNS. *Prog Neurobiol* 53, 603-625.
- Disney, A.A., and Aoki, C. (2008). Muscarinic acetylcholine receptors in macaque V1 are most frequently expressed by parvalbumin-immunoreactive neurons. *J Comp Neurol* 507, 1748-1762.
- Disney, A.A., Aoki, C., and Hawken, M.J. (2007). Gain modulation by nicotine in macaque v1. *Neuron* 56, 701-713.
- Disney, A.A., Domakonda, K.V., and Aoki, C. (2006). Differential expression of muscarinic acetylcholine receptors across excitatory and inhibitory cells in visual cortical areas V1 and V2 of the macaque monkey. *J Comp Neurol* 499, 49-63.
- Dotigny, F., Ben Amor, A.Y., Burke, M., and Vaucher, E. (2008). Neuromodulatory role of acetylcholine in visually-induced cortical activation: behavioral and neuroanatomical correlates. *Neuroscience* 154, 1607-1618.
- Douglas, C.L., Baghdoyan, H.A., and Lydic, R. (2001). M2 muscarinic autoreceptors modulate acetylcholine release in prefrontal cortex of C57BL/6J mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 299, 960-966.
- Drager, U.C., and Olsen, J.F. (1980). Origins of crossed and uncrossed retinal projections in pigmented and albino mice. *J Comp Neurol* 191, 383-412.
- Dringenberg, H.C., Hamze, B., Wilson, A., Speechley, W., and Kuo, M.C. (2007). Heterosynaptic facilitation of in vivo thalamocortical long-term potentiation in the adult rat visual cortex by acetylcholine. *Cereb Cortex* 17, 839-848.
- Eggermann, E., and Feldmeyer, D. (2009). Cholinergic filtering in the recurrent excitatory microcircuit of cortical layer 4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106, 11753-11758.
- Elhousseiny, A., and Hamel, E. (2000). Muscarinic--but not nicotinic--acetylcholine receptors mediate a nitric oxide-dependent dilation in brain cortical arterioles: a possible role for the M5 receptor subtype. *J Cereb Blood Flow Metab* 20, 298-305.
- Fagiolini, M., Pizzorusso, T., Berardi, N., Domenici, L., and Maffei, L. (1994). Functional postnatal development of the rat primary visual cortex and the role of visual experience: dark rearing and monocular deprivation. *Vision Res* 34, 709-720.

- Flynn, D.D., Ferrari-Dileo, G., Mash, D.C., and Levey, A.I. (1995). Differential regulation of molecular subtypes of muscarinic receptors in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 64, 1888-1891.
- Frenkel, M.Y., Sawtell, N.B., Diogo, A.C., Yoon, B., Neve, R.L., and Bear, M.F. (2006). Instructive effect of visual experience in mouse visual cortex. *Neuron* 51, 339-349.
- Fries, P. (2009). Neuronal gamma-band synchronization as a fundamental process in cortical computation. *Annu Rev Neurosci* 32, 209-224.
- Froemke, R.C., Merzenich, M.M., and Schreiner, C.E. (2007). A synaptic memory trace for cortical receptive field plasticity. *Nature* 450, 425-429.
- Gaykema, R.P., Luiten, P.G., Nyakas, C., and Traber, J. (1990). Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. *J Comp Neurol* 293, 103-124.
- Gil, Z., Connors, B.W., and Amitai, Y. (1997). Differential regulation of neocortical synapses by neuromodulators and activity. *Neuron* 19, 679-686.
- Gilbert, C.D., and Li, W. (2012). Adult visual cortical plasticity. *Neuron* 75, 250-264.
- Goard, M., and Dan, Y. (2009). Basal forebrain activation enhances cortical coding of natural scenes. *Nat Neurosci* 12, 1444-1449.
- Greuel, J.M., Luhmann, H.J., and Singer, W. (1988). Pharmacological induction of use-dependent receptive field modifications in the visual cortex. *Science* 242, 74-77.
- Grieve, K.L. (2005). Binocular visual responses in cells of the rat dLGN. *J Physiol* 566, 119-124.
- Grinvald, A., Lieke, E., Frostig, R.D., Gilbert, C.D., and Wiesel, T.N. (1986). Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals. *Nature* 324, 361-364.
- Groleau, M., Nguyen, H.N., Vanni, M.P., Huppe-Gourgues, F., Casanova, C., and Vaucher, E. (2014). Impaired functional organization in the visual cortex of muscarinic receptor knock-out mice. *Neuroimage* 98, 233-242.
- Gu, Q. (2003). Contribution of acetylcholine to visual cortex plasticity. *Neurobiol Learn Mem* 80, 291-301.
- Gu, Q., and Singer, W. (1993). Effects of intracortical infusion of anticholinergic drugs on neuronal plasticity in kitten striate cortex. *Eur J Neurosci* 5, 475-485.
- Gulledge, A.T., Bucci, D.J., Zhang, S.S., Matsui, M., and Yeh, H.H. (2009). M1 receptors mediate cholinergic modulation of excitability in neocortical pyramidal neurons. *J Neurosci* 29, 9888-9902.
- Hashimoto, T., Shu, H., and Kuriyama, K. (1994). Muscarinic M1 receptor mediated inhibition of GABA release from rat cerebral cortex. *Neurochem Int* 24, 389-394.
- Headley, D.B., and Weinberger, N.M. (2011). Gamma-band activation predicts both associative memory and cortical plasticity. *J Neurosci* 31, 12748-12758.
- Hensch, T.K., and Fagiolini, M. (2005). Excitatory-inhibitory balance and critical period plasticity in developing visual cortex. *Prog Brain Res* 147, 115-124.
- Herrero, J.L., Roberts, M.J., Delicato, L.S., Gieselmann, M.A., Dayan, P., and Thiele, A. (2008). Acetylcholine contributes through muscarinic receptors to attentional modulation in V1. *Nature* 454, 1110-1114.
- Hofer, S.B., Mrsic-Flogel, T.D., Bonhoeffer, T., and Hubener, M. (2009). Experience leaves a lasting structural trace in cortical circuits. *Nature* 457, 313-317.

- Jehee, J.F., Ling, S., Swisher, J.D., Van Bergen, R.S., and Tong, F. (2012). Perceptual learning selectively refines orientation representations in early visual cortex. *J Neurosci* 32, 16747-16753a.
- Jositsch, G., Papadakis, T., Haberberger, R.V., Wolff, M., Wess, J., and Kummer, W. (2009). Suitability of muscarinic acetylcholine receptor antibodies for immunohistochemistry evaluated on tissue sections of receptor gene-deficient mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 379, 389-395.
- Kang, J.I., Huppe-Gourgues, F., and Vaucher, E. (2014). Boosting visual cortex function and plasticity with acetylcholine to enhance visual perception. *Front Syst Neurosci* 8, 172.
- Kang, J.I., and Vaucher, E. (2009). Cholinergic pairing with visual activation results in long-term enhancement of visual evoked potentials. *PLoS ONE* 4, e5995.
- Kapadia, M.K., Westheimer, G., and Gilbert, C.D. (2000). Spatial distribution of contextual interactions in primary visual cortex and in visual perception. *J Neurophysiol* 84, 2048-2062.
- Kimura, F., and Baughman, R.W. (1997). Distinct muscarinic receptor subtypes suppress excitatory and inhibitory synaptic responses in cortical neurons. *Journal of neurophysiology* 77, 709-716.
- Kimura, F., Fukuda, M., and Tsumoto, T. (1999). Acetylcholine suppresses the spread of excitation in the visual cortex revealed by optical recording: possible differential effect depending on the source of input. *Eur J Neurosci* 11, 3597-3609.
- Kirkwood, A., Lee, H.K., and Bear, M.F. (1995). Co-regulation of long-term potentiation and experience-dependent synaptic plasticity in visual cortex by age and experience. *Nature* 375, 328-331.
- Kirkwood, A., Rozas, C., Kirkwood, J., Perez, F., and Bear, M.F. (1999). Modulation of long-term synaptic depression in visual cortex by acetylcholine and norepinephrine. *J Neurosci* 19, 1599-1609.
- Klinkenberg, I., and Blokland, A. (2010). The validity of scopolamine as a pharmacological model for cognitive impairment: a review of animal behavioral studies. *Neurosci Biobehav Rev* 34, 1307-1350.
- Krnjevic, K. (2004). Synaptic mechanisms modulated by acetylcholine in cerebral cortex. *Prog Brain Res* 145, 81-93.
- Kuczewski, N., Aztiria, E., Leanza, G., and Domenici, L. (2005). Selective cholinergic immunolesioning affects synaptic plasticity in developing visual cortex. *Eur J Neurosci* 21, 1807-1814.
- Laplante, F., Morin, Y., Quirion, R., and Vaucher, E. (2005). Acetylcholine release is elicited in the visual cortex, but not in the prefrontal cortex, by patterned visual stimulation: a dual in vivo microdialysis study with functional correlates in the rat brain. *Neuroscience* 132, 501-510.
- Levay, S., Stryker, M.P., and Shatz, C.J. (1978). Ocular dominance columns and their development in layer IV of the cat's visual cortex: a quantitative study. *J Comp Neurol* 179, 223-244.
- Levey, A.I., Edmunds, S.M., Heilman, C.J., Desmond, T.J., and Frey, K.A. (1994). Localization of muscarinic m3 receptor protein and M3 receptor binding in rat brain. *Neuroscience* 63, 207-221.
- Levey, A.I., Kitt, C.A., Simonds, W.F., Price, D.L., and Brann, M.R. (1991). Identification and localization of muscarinic acetylcholine receptor proteins in brain with subtype-specific

- antibodies. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 11, 3218-3226.
- Levitt, J.B., and Lund, J.S. (1997). Contrast dependence of contextual effects in primate visual cortex. *Nature* 387, 73-76.
- Levy, R.B., Reyes, A.D., and Aoki, C. (2006). Nicotinic and muscarinic reduction of unitary excitatory postsynaptic potentials in sensory cortex; dual intracellular recording in vitro. *J Neurophysiol* 95, 2155-2166.
- Lewandowski, M.H., Muller, C.M., and Singer, W. (1993). Reticular facilitation of cat visual cortical responses is mediated by nicotinic and muscarinic cholinergic mechanisms. *Exp Brain Res* 96, 1-7.
- Lucas-Meunier, E., Fossier, P., Baux, G., and Amar, M. (2003). Cholinergic modulation of the cortical neuronal network. *Pflugers Arch* 446, 17-29.
- Mainardi, M., Landi, S., Berardi, N., Maffei, L., and Pizzorusso, T. (2009). Reduced responsiveness to long-term monocular deprivation of parvalbumin neurons assessed by c-Fos staining in rat visual cortex. *PLoS One* 4, e4342.
- Majewska, A., and Sur, M. (2003). Motility of dendritic spines in visual cortex in vivo: changes during the critical period and effects of visual deprivation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 16024-16029.
- Mash, D.C., and Potter, L.T. (1986). Autoradiographic localization of M1 and M2 muscarine receptors in the rat brain. *Neuroscience* 19, 551-564.
- Matthews, N., Liu, Z., Geesaman, B.J., and Qian, N. (1999). Perceptual learning on orientation and direction discrimination. *Vision Res* 39, 3692-3701.
- Mccoy, P.A., and McMahon, L.L. (2010). Sympathetic sprouting in visual cortex stimulated by cholinergic denervation rescues expression of two forms of long-term depression at layer 2/3 synapses. *Neuroscience* 168, 591-604.
- Mechawar, N., and Descarries, L. (2001). The cholinergic innervation develops early and rapidly in the rat cerebral cortex: a quantitative immunocytochemical study. *Neuroscience* 108, 555-567.
- Mrzljak, L., Levey, A.I., and Goldman-Rakic, P.S. (1993). Association of m1 and m2 muscarinic receptor proteins with asymmetric synapses in the primate cerebral cortex: morphological evidence for cholinergic modulation of excitatory neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90, 5194-5198.
- Murphy, P.C., and Sillito, A.M. (1991). Cholinergic enhancement of direction selectivity in the visual cortex of the cat. *Neuroscience* 40, 13-20.
- Oldford, E., and Castro-Alamancos, M.A. (2003). Input-specific effects of acetylcholine on sensory and intracortical evoked responses in the "barrel cortex" in vivo. *Neuroscience* 117, 769-778.
- Origlia, N., Kuczewski, N., Aztiria, E., Gautam, D., Wess, J., and Domenici, L. (2006). Muscarinic acetylcholine receptor knockout mice show distinct synaptic plasticity impairments in the visual cortex. *J Physiol* 577, 829-840.
- Paik, S.B., and Glaser, D.A. (2010). Synaptic plasticity controls sensory responses through frequency-dependent gamma oscillation resonance. *PLoS Comput Biol* 6.
- Pinto, L., Goard, M.J., Estandian, D., Xu, M., Kwan, A.C., Lee, S.H., Harrison, T.C., Feng, G., and Dan, Y. (2013). Fast modulation of visual perception by basal forebrain cholinergic neurons. *Nat Neurosci* 16, 1857-1863.

- Prusky, G.T., Shaw, C., and Cynader, M.S. (1987). Nicotine receptors are located on lateral geniculate nucleus terminals in cat visual cortex. *Brain Res* 412, 131-138.
- Quinlan, E.M., Lebel, D., Brosh, I., and Barkai, E. (2004). A molecular mechanism for stabilization of learning-induced synaptic modifications. *Neuron* 41, 185-192.
- Ramalingam, N., Mcmanus, J.N., Li, W., and Gilbert, C.D. (2013). Top-down modulation of lateral interactions in visual cortex. *J Neurosci* 33, 1773-1789.
- Roberts, M.J., Zinke, W., Guo, K., Robertson, R., McDonald, J.S., and Thiele, A. (2005). Acetylcholine dynamically controls spatial integration in marmoset primary visual cortex. *J Neurophysiol* 93, 2062-2072.
- Rodriguez, R., Kallenbach, U., Singer, W., and Munk, M.H. (2004). Short- and long-term effects of cholinergic modulation on gamma oscillations and response synchronization in the visual cortex. *J Neurosci* 24, 10369-10378.
- Rodriguez, R., Kallenbach, U., Singer, W., and Munk, M.H. (2010). Stabilization of visual responses through cholinergic activation. *Neuroscience* 165, 944-954.
- Rokem, A., and Silver, M.A. (2010). Cholinergic enhancement augments magnitude and specificity of visual perceptual learning in healthy humans. *Curr Biol* 20, 1723-1728.
- Rouse, S.T., Marino, M.J., Potter, L.T., Conn, P.J., and Levey, A.I. (1999). Muscarinic receptor subtypes involved in hippocampal circuits. *Life Sci* 64, 501-509.
- Sale, A., Berardi, N., Spolidoro, M., Baroncelli, L., and Maffei, L. (2010). GABAergic inhibition in visual cortical plasticity. *Front Cell Neurosci* 4, 10.
- Salgado, H., Bellay, T., Nichols, J.A., Bose, M., Martinolich, L., Perrotti, L., and Atzori, M. (2007). Muscarinic M2 and M1 receptors reduce GABA release by Ca²⁺ channel modulation through activation of PI3K/Ca²⁺ -independent and PLC/Ca²⁺ -dependent PKC. *J Neurophysiol* 98, 952-965.
- Sarter, M., Hasselmo, M.E., Bruno, J.P., and Givens, B. (2005). Unraveling the attentional functions of cortical cholinergic inputs: interactions between signal-driven and cognitive modulation of signal detection. *Brain Res Brain Res Rev* 48, 98-111.
- Sarter, M., and Parikh, V. (2005). Choline transporters, cholinergic transmission and cognition. *Nat Rev Neurosci* 6, 48-56.
- Shmuel, A., and Grinvald, A. (1996). Functional organization for direction of motion and its relationship to orientation maps in cat area 18. *J Neurosci* 16, 6945-6964.
- Siciliano, R., Fontanesi, G., Casamenti, F., Berardi, N., Bagnoli, P., and Domenici, L. (1997). Postnatal development of functional properties of visual cortical cells in rats with excitotoxic lesions of basal forebrain cholinergic neurons. *Vis Neurosci* 14, 111-123.
- Silver, M.A., Shenhav, A., and D'Esposito, M. (2008). Cholinergic enhancement reduces spatial spread of visual responses in human early visual cortex. *Neuron* 60, 904-914.
- Sohal, V.S., Zhang, F., Yizhar, O., and Deisseroth, K. (2009). Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature* 459, 698-702.
- Soma, S., Shimegi, S., Osaki, H., and Sato, H. (2012). Cholinergic modulation of response gain in the primary visual cortex of the macaque. *J Neurophysiol* 107, 283-291.
- Soma, S., Shimegi, S., Suematsu, N., and Sato, H. (2013a). Cholinergic modulation of response gain in the rat primary visual cortex. *Sci Rep* 3, 1138.
- Soma, S., Shimegi, S., Suematsu, N., Tamura, H., and Sato, H. (2013b). Modulation-specific and laminar-dependent effects of acetylcholine on visual responses in the rat primary visual cortex. *PLoS One* 8, e68430.

- Soma, S., Suematsu, N., and Shimegi, S. (2013c). Cholinesterase inhibitor, donepezil, improves visual contrast detectability in freely behaving rats. *Behav Brain Res* 256, 362-367.
- Thiel, C.M. (2007). Pharmacological modulation of learning-induced plasticity in human auditory cortex. *Restor Neurol Neurosci* 25, 435-443.
- Thiel, C.M., and Fink, G.R. (2008). Effects of the cholinergic agonist nicotine on reorienting of visual spatial attention and top-down attentional control. *Neuroscience* 152, 381-390.
- Thiele, A. (2013). Muscarinic signaling in the brain. *Annu Rev Neurosci* 36, 271-294.
- Turrini, P., Casu, M.A., Wong, T.P., De Koninck, Y., Ribeiro-Da-Silva, A., and Cuello, A.C. (2001). Cholinergic nerve terminals establish classical synapses in the rat cerebral cortex: synaptic pattern and age-related atrophy. *Neuroscience* 105, 277-285.
- Umbriaco, D., Watkins, K.C., Descarries, L., Cozzari, C., and Hartman, B.K. (1994). Ultrastructural and morphometric features of the acetylcholine innervation in adult rat parietal cortex: an electron microscopic study in serial sections. *J Comp Neurol* 348, 351-373.
- Van Hooser, S.D. (2007). Similarity and diversity in visual cortex: is there a unifying theory of cortical computation? *Neuroscientist* 13, 639-656.
- Vaucher, E., Reymond, I., Najaffe, R., Kar, S., Quirion, R., Miller, M.M., and Franklin, K.B. (2002). Estrogen effects on object memory and cholinergic receptors in young and old female mice. *Neurobiol Aging* 23, 87-95.
- Volpicelli, L.A., and Levey, A.I. (2004). Muscarinic acetylcholine receptor subtypes in cerebral cortex and hippocampus. *Prog Brain Res* 145, 59-66.
- Wess, J. (2003). Novel insights into muscarinic acetylcholine receptor function using gene targeting technology. *Trends Pharmacol Sci* 24, 414-420.
- Yamahachi, H., Marik, S.A., Mcmanus, J.N., Denk, W., and Gilbert, C.D. (2009). Rapid axonal sprouting and pruning accompany functional reorganization in primary visual cortex. *Neuron* 64, 719-729.
- Zhang, W., Basile, A.S., Gomeza, J., Volpicelli, L.A., Levey, A.I., and Wess, J. (2002). Characterization of central inhibitory muscarinic autoreceptors by the use of muscarinic acetylcholine receptor knock-out mice. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 22, 1709-1717.
- Zilles, K., Schroder, H., Schroder, U., Horvath, E., Werner, L., Luiten, P.G., Maelicke, A., and Strosberg, A.D. (1989). Distribution of cholinergic receptors in the rat and human neocortex. *EXS* 57, 212-228.
- Zinke, W., Roberts, M.J., Guo, K., McDonald, J.S., Robertson, R., and Thiele, A. (2006). Cholinergic modulation of response properties and orientation tuning of neurons in primary visual cortex of anaesthetized Marmoset monkeys. *Eur J Neurosci* 24, 314-328.

V.12 Figures

Figure V.1 M1 and M2 mAChRs intracellular mediation.

(A) The activation of the M1 excitatory mAChR (blue) triggers the $G_{q/11}$ G-protein, which activates phospholipase C (PLC). This induces depolarization of the neuronal element by closing different K^+ channels, including voltage-gated channels and leaky channels, and by activating calcium channels that increase the intracellular concentration of Ca^{2+} from the intracellular stores. The M1 receptor induces long-term potentiation-like effects in glutamatergic neurons through interaction with NMDA receptors (NMDARs). The M1 receptors are mainly postsynaptic, although they are also found on some glutamatergic axon terminals. (B) The activation of the M2 inhibitory mAChR (red) triggers the $G_{i/o}$ G-coupled protein, which inhibits adenylate cyclase (AC). This closes the Ca^{2+} voltage-gated channel and opens the K^+ channel to hyperpolarize the neuron. The M2 receptors are mainly presynaptic, although they are also found on some GABAergic interneurons.

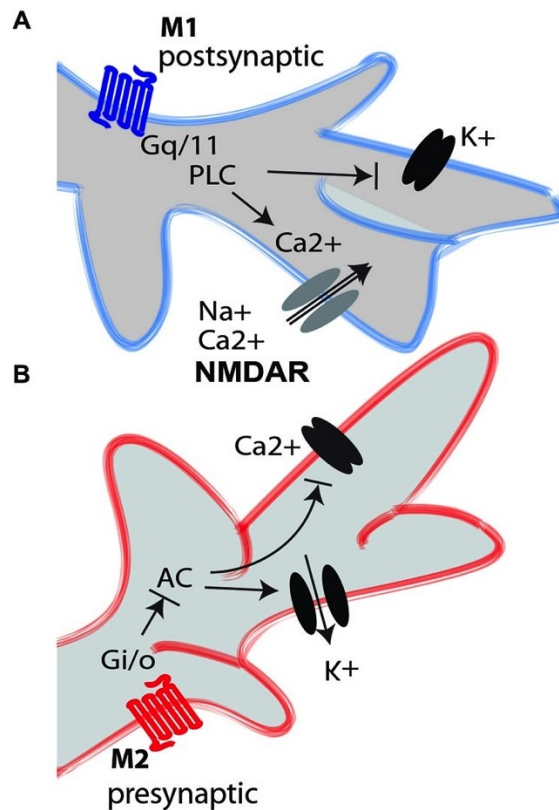
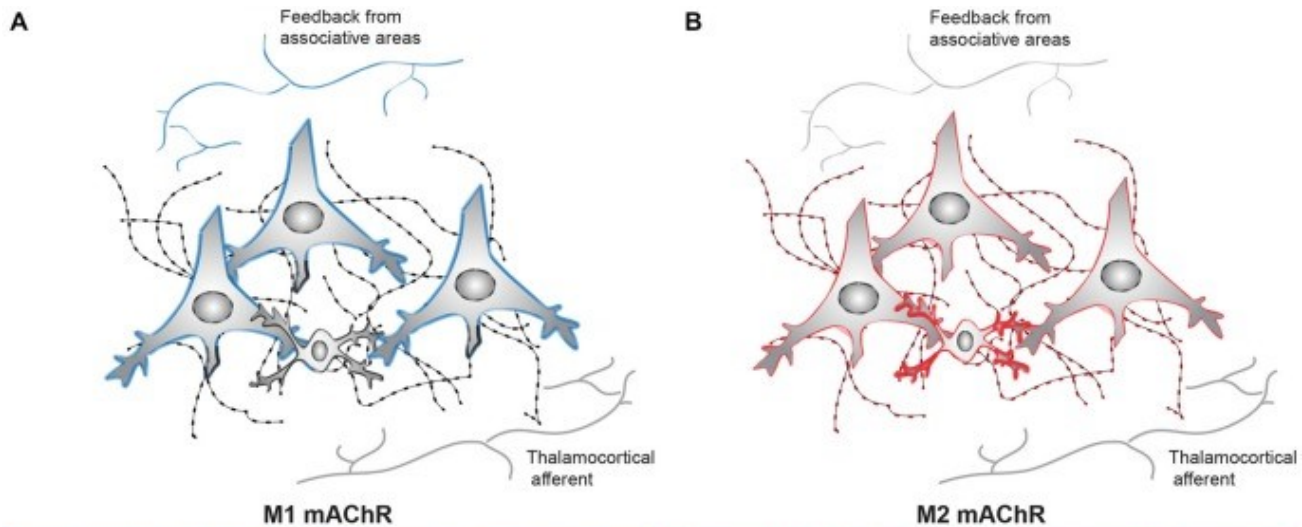


Figure V.2 Distribution of the mAChRs on the inhibitory and excitatory cells of the cortical microcircuitry and their associated functions.

Integration of the information within V1 is mediated through the vertical and horizontal connections between excitatory neurons (large cells) and inhibitory interneurons (small cells). The cortical connections originating from associative areas are represented on the top, and the thalamocortical afferents are represented on the bottom. The cholinergic fibers and their varicosities (swellings) are represented on the back. **(A)** The M1 receptor (blue) is present on the cell bodies and dendrites of pyramidal cells in V1 as well as on the long range cortical connections from associative areas. **(B)** The M2 mAChR (red) is present on the inhibitory interneurons in V1 and also on cholinergic fibers and some pyramidal cells. The thicker the colored line is, the higher the expression of the receptor is. Principal functions of these specific receptors or of the sum of all mAChRs—demonstrated by non-selective agonists or antagonists—are represented in the left (M1 mAChR, blue), right (M2 mAChR, red) and bottom (undifferentiated action of mAChRs) lines.



Main excitatory mAChR subtype (Levey et al., 1991; Caulfield and Birdsall, 1998; Lucas-Meunier et al., 2003; Wess, 2003; Krnjevic, 2004; Thiele, 2013)
Present in all cortical layers (Levey et al., 1991; Aubert et al., 1996)
Present on cell bodies and dendrites of pyramidal cells (Mrzljak et al., 1993; Gu, 2003; Disney and Aoki, 2008; Gullledge et al., 2009)
Present on corticocortical fibres (Gil et al., 1997; Amar et al., 2010)
Increases the neuronal optimal spatial frequency (Groleau et al., 2014)
Enhances glutamatergic drive except in the layer V (Gullledge et al., 2009; Amar et al., 2010)
Influences contrast sensitivity (Groleau et al., 2014; Bhattacharyya et al., 2012)
Involved in the plasticity of the developing visual cortex (Gu and Singer, 1993; Kirkwood et al., 1995)
Involved in long-term potentiation and long-term depression (Greuel et al., 1988; Kirkwood et al., 1995, 1999; Gu, 2003; Origlia et al., 2006)

Cholinergic inhibitory autoreceptor – decreases ACh release (Mrzljak et al., 1993)
Present in layers IV and V (Zilles et al., 1989)
Present on cell bodies and terminals of GABAergic neurons (Salgado et al., 2007)
Present on basalocortical fibres (Mrzljak et al., 1993)
Fine tunes neuronal connectivity (Groleau et al., 2014)
Modulates the incortical GABAergic inhibitory drive (Salgado et al., 2007)
Increases cortical sensitivity (Sarter et al., 2005; Salgado et al., 2007)
Involved in the plasticity of the developing visual cortex (Gu and Singer, 1993)
Involved in long-term potentiation (Origlia et al., 2006)

non selective mAChRs modulation

Modulates neuron selective properties (orientation, direction, receptive field) (see text for references)
Facilitates or suppresses intracortical neurons response (Gil et al., 1997)
Suppresses the horizontal spread of excitation in V1 (Kimura et al., 1999) by inhibiting lateral connections
Contributes to attentional mechanisms (Herrero et al., 2008; Klinkenberg and Blokland, 2010)
Influences gamma band activity (Rodriguez et al., 2004; Bartos et al., 2007; Sohal et al., 2009)
Improves visual perception (Kang et al., 2014)
Increases GABAergic neuron activity following basal forebrain stimulation (Dotigny et al., 2008; Alitto and Dan, 2012)

Chapitre VI : Étude complémentaire

Observation longitudinale de la réorganisation du réseau cortical suite à une lésion partielle du nerf optique chez la souris GCaMP6s

VI.1 Introduction

La neuropathie optique traumatique endommage les axones du nerf optique causant une déficience visuelle et une perte de vision partielle ou complète. Cette perte de vision est caractérisée par une faible acuité visuelle et un champ visuel réduit, ainsi que par une perte de perception de la profondeur ou de sensibilité au contraste, ce qui nuit à la qualité de vie. Dans les expériences sur les rongeurs, l'écrasement partiel du nerf optique est utilisé comme un puissant modèle de perte de vision diffuse permettant la vision résiduelle due aux cellules ganglionnaires rétiniennes survivantes et à la plasticité corticale.

VI.2 Objectif

L'objectif de cette étude est de comprendre comment le réseau cortical se réorganise dans le temps suivant un écrasement partiel du nerf optique. Ce projet servira à mettre les bases à l'amélioration de la fonction visuelle par le système cholinergique dans ce modèle. L'imagerie calcique a été utilisée pour évaluer l'impact de la lésion du nerf optique sur la distribution cérébrale, l'intensité et la latence de la réponse neuronale le long des voies corticales visuelles.

VI.3 Procédures expérimentales

VI.3.1 Modèle animal

Toutes les procédures ont été effectuées conformément aux lignes directrices du Conseil canadien pour la protection des animaux et ont été acceptées par le comité du bien-être animal de l'Université de Lethbridge et par le comité d'éthique de l'Université de Montréal. Un total de 9 souris adultes GP4.3Dkim/J C57BL/6J-Tg (Thy1-GCaMP6) (3 femelles, 6 mâles, Jackson, Bar Harbor, ME, USA) ont été utilisées pour la partie imagerie de cette étude. De plus, 9 mâles C57BL/6J (Charles River) ont été utilisés pour le test optomoteur du nerf optique unilatéral partiel et 9 mâles C57BL/6J (Charles River) ont été utilisés pour le test optomoteur du choc bilatéral du nerf optique bilatéral. Les animaux ont été maintenus dans un cycle normal de lumière du jour de 12 h de lumière/obscurité avec un accès *ad libitum* à la nourriture et à l'eau.

VI.3.2 Implantation de la chambre d'imagerie

Les souris ont été anesthésiées avec de l'isoflurane. La peau recouvrant le crâne a été entièrement enlevée et le crâne a été asséché. Une chambre d'imagerie ronde (titane, diamètre de 10 mm) a été placée sur les deux hémisphères et une lamelle a été ajoutée et fixée avec du ciment dentaire et du metabond.

VI.3.3 Écrasement partiel du nerf optique (ONC)

Le nerf optique a été exposé du côté latéral de l'œil par une ouverture dans la conjonctive, puis écrasé avec des pinces à environ 1 mm de l'œil pendant 3 secondes (Leung et al 2011, Puyang et al 2016).

VI.3.4 Imagerie calcique

Les souris ont été fixées par la tête sous la caméra d'imagerie. La réponse calcique à la stimulation visuelle (flash) a été calculée comme la différence normalisée à la ligne de base ($AF / F_0 \times 100$) et moyennée dans 30 essais. Pour caractériser les changements dans la réponse visuelle après l'ONC dans différentes zones corticales, nous avons divisé les deux hémisphères corticaux en 13 régions d'intérêt distinctes (voir figure V.1).

VI.3.5 Réflexe optomoteur

Le réflexe optomoteur mesure l'acuité visuelle de l'animal suite à la présentation d'un réseau sinusoïdal de fréquence spatiale variable. Si l'animal suit le mouvement du réseau avec sa tête, alors la fréquence spatiale était considérée comme ayant été détectée. Les réseaux dans le sens des aiguilles d'une montre sont détectés par l'œil gauche, tandis que des réseaux dans le sens inverse des aiguilles d'une montre sont détectés par l'œil droit.

VI.3.6 Marquage des cellules ganglionnaires de la rétine

Les rétines entières ont été incubées avec un anticorps primaire anti-RBPMS. Cela a été suivi d'une incubation dans l'anticorps secondaire. L'examen quantitatif de l'immunoréactivité RBPMS a permis l'évaluation de la dégénérescence des cellules ganglionnaires à la suite de l'écrasement du nerf optique.

VI.3.7 Statistiques

Les données sont présentées avec la moyenne et l'écart-type. L'analyse statistique pour le signal de calcique a été réalisée en utilisant le test kruskall-wallis. Pour l'acuité visuelle évaluée avec le réflexe optomoteur, un test de Friedman suivi d'un test de Wilcoxon ont été utilisés. Le test de Mann-Withney a été utilisé entre la rétine normale et la rétine lésée pour le compte des cellules. Le un niveau de signification de $p < 0,05$ a été utilisé.

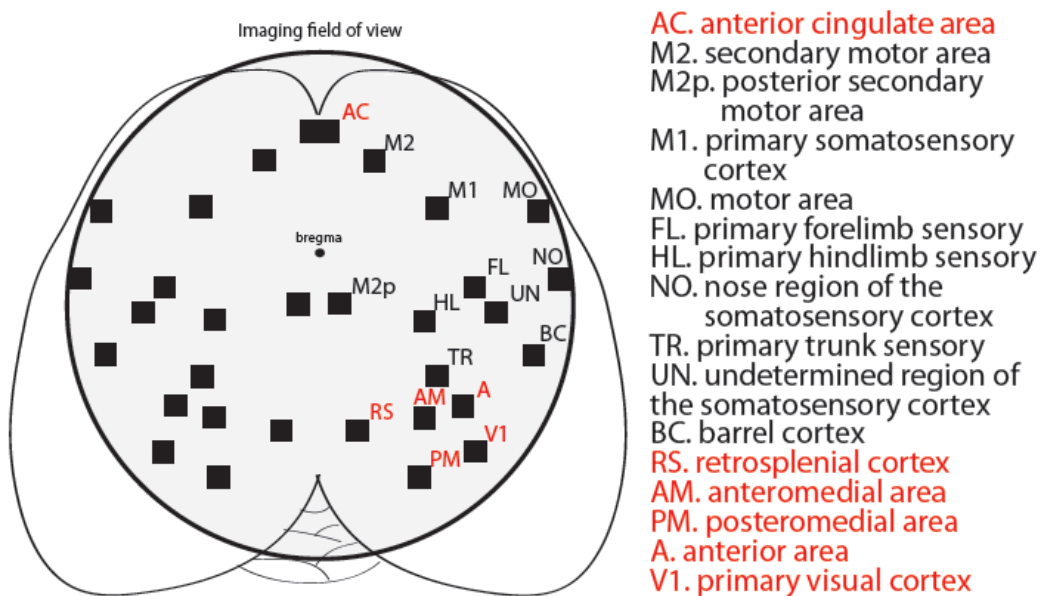


Figure VI.1 Zones corticales

Les zones corticales qui ont été évaluées. En rouge, les zones corticales analysées dans cette étude préliminaire.

VI.4 Résultats et figures

VI.4.1 Amplitude de la réponse suite à la lésion du nerf optique

L'amplitude de la réponse calcique est affectée en fonction de la région d'intérêt. Dans V1, la réponse est plus petite 1h, 1 jour et 3 jours après la lésion. Cependant, 5, 7, 14, 23 et 31 jours plus tard, il y a une récupération partielle de la réponse corticale. La même tendance est observée dans les zones A, PM, AM et RS (zones visuelles secondaires). Aucun changement n'est observé dans l'hémisphère ipsilatéral. La réponse corticale à la stimulation de l'œil intact n'a été affectée dans aucun des deux hémisphères.

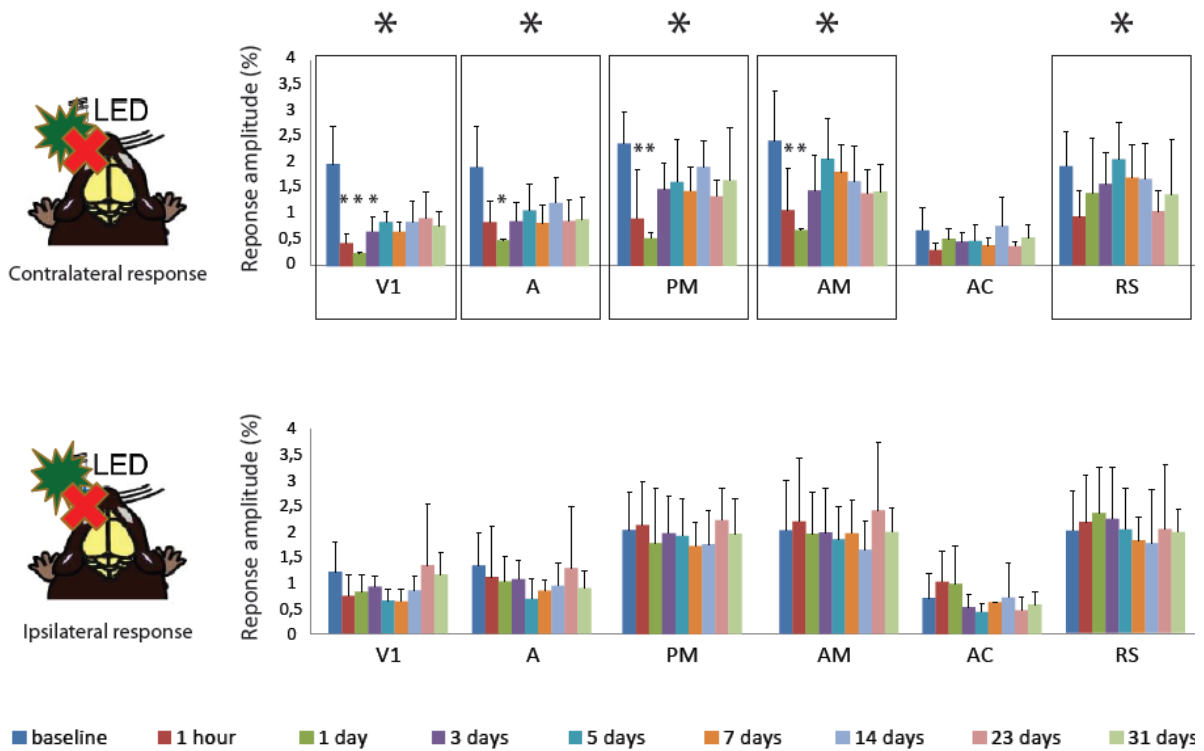


Figure VI.2 Amplitude de la réponse calcique corticale en fonction du temps

Haut : Amplitude de la réponse dans les différentes régions corticales de l'hémisphère droit suite à un flash dans l'œil gauche (œil lésé). Bas : Amplitude de la réponse dans les différentes régions corticales de l'hémisphère gauche suite à un flash dans l'œil gauche (œil lésé).

VI.4.2 Latence de la réponse suite à la lésion du nerf optique

Dans V1 et les zones visuelles secondaires A et PM, la réponse apparaît plus rapide dans le temps, la latence étant plus longue après l'écrasement nerf optique mais diminue dès le 3e jour et se maintient jusqu'au 31e jour. Ceci est observé dans les deux hémisphères pour V1. La latence pour la stimulation dans l'œil intact n'a été affectée dans aucun des deux hémisphères.

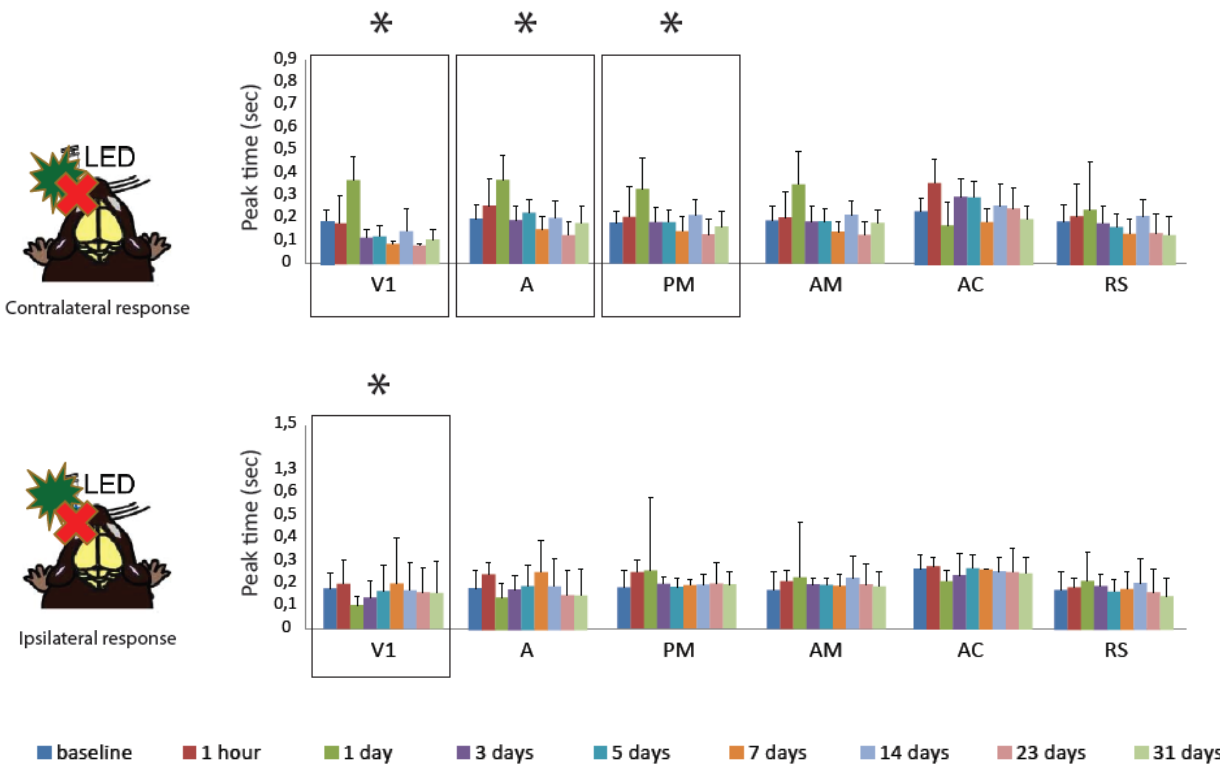


Figure VI.3 Latence de la réponse calcique corticale en fonction du temps

Haut : Latence de la réponse dans les différentes régions corticales de l'hémisphère droit suite à un flash dans l'œil gauche (œil lésé). Bas : Latence de la réponse dans les différentes régions corticales de l'hémisphère gauche suite à un flash dans l'œil gauche (œil lésé).

VI.4.3 Comparaison de la réponse des hémisphères

Il y a une différence significative dans l'activité dans le cortex contralatéral suivant la stimulation par flash l'œil intact ou lésé pour les 5 premiers jours. Après cette période, une récupération partielle de l'amplitude de la réponse corticale est observée suggérant de la plasticité corticale.

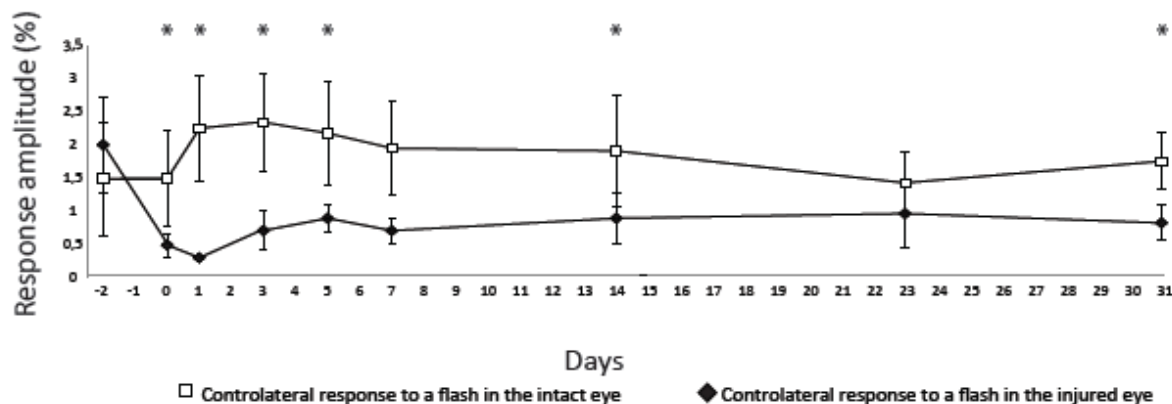


Figure VI.4 Amplitude de la réponse calcique dans les deux hémisphères

Comparaison de l'amplitude de la réponse observée par imagerie calcique. En blanc, la réponse de l'hémisphère controlatéral à un flash effectué dans l'œil intact. En noir, la réponse de l'hémisphère controlatéral à un flash effectué dans l'œil dont le nerf optique a été endommagé.

VI.4.4 Acuité visuelle au réflexe optomoteur

L'acuité visuelle est évaluée selon une direction spécifique d'un réseau en mouvement, dans le sens des aiguilles d'une montre pour l'œil gauche et dans le sens inverse des aiguilles d'une montre pour l'œil droit. Suite à la lésion du nerf optique, il y a une diminution significative de l'acuité visuelle de l'œil lésé et une augmentation de l'acuité visuelle mesurée dans l'œil intact (par rapport aux valeurs initiales).

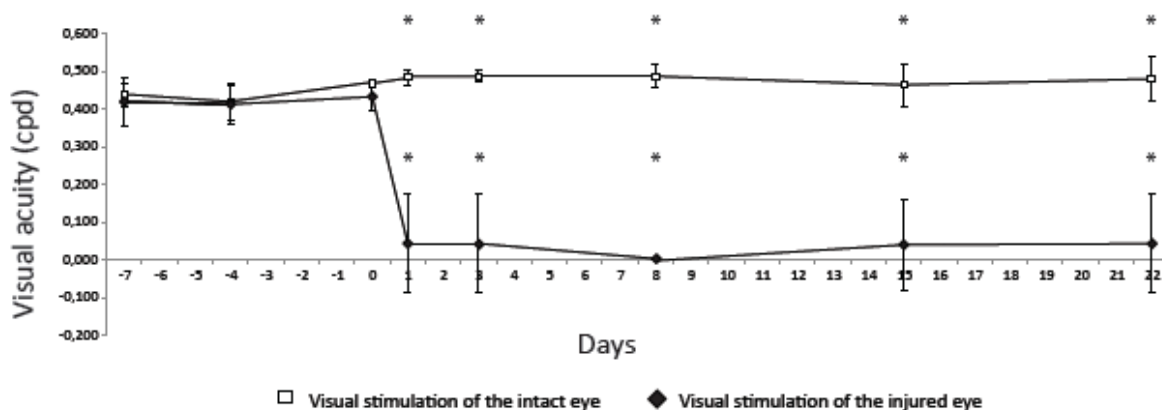


Figure VI.5 Acuité visuelle mesurée dans chaque œil

Comparaison de l'acuité visuelle mesurée dans chaque œil par le réflexe optomoteur.

VI.4.5 Évaluation du taux de survie des cellules ganglionnaires

Le grossissement permet d'observer clairement la densité de cellules ganglionnaires dans une rétine suivant saine ou dont le nerf optique a été écrasé. L'écrasement du nerf optique partiel induit une forte perte de RGC à 31 jours (évaluation qualitative).

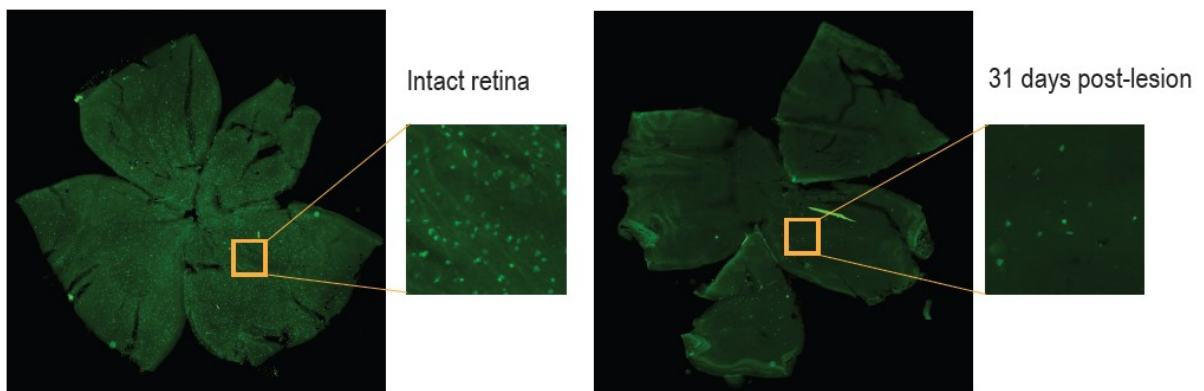


Figure VI.6 Microphotographies de la rétine montée à plat avec marquage RBPMS

Marquage des cellules ganglionnaires rétiniennes 10x. Gauche : Rétine intacte, Droite : 31 jours suite à la lésion du nerf optique.

VI.5 Discussion

Avant de tenter de potentialiser le système cholinergique en vue d'améliorer le traitement visuel de l'information sensorielle chez un modèle de déficit visuel, nous devons comprendre comment le cortex se réorganise suite à une telle lésion et comment sa connectivité avec les autres régions corticales en est affectée. Nous avons donc débuté une étude chez l'animal ayant subi un écrasement du nerf optique, lésion qui produit une perte de vision diffuse laissant toutefois intactes les cellules visuelles corticales (Barron et al 1986).

L'information préliminaire que nous avons obtenue suite à l'écrasement unilatéral du nerf optique montre que l'activité corticale dans le cortex visuel est diminuée suivant un stimulus visuel de type flash. Toutefois, quelques jours après la lésion, une récupération partielle de cette activité est observée. Au niveau du temps de réponse, il est plus lent tout de suite après la lésion tandis qu'il devient plus rapide après quelques jours, démontrant une certaine compensation.

Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur la compréhension de la réorganisation du cortex après un ONC partiel. Une récupération partielle de l'activité corticale a été observée post-ONC suite à une diminution initiale marquée de la fonction corticale. D'autres études ont été incapables d'observer une amélioration de la réactivité corticale après l'ONC. En utilisant le potentiel évoqué visuel, ils ont noté une baisse de l'activité corticale mais n'ont pas pu détecter de récupération dans les semaines suivantes (Chamoun et al 2017b, Miyake et al 2007). Par conséquent, la technique utilisée ici était suffisamment précise pour permettre la détection de l'activité rétino-visuelle restante.

Suite à une lésion de type ONC, une dégénérescence globale des cellules ganglionnaires est observée dans tous les quadrants rétiniens et ce, peu importe l'ampleur du dommage créé. Lors d'une lésion rétinienne, il y a une zone de projection de lésion qui est définie anatomiquement. La topographie de V1 est altérée et les fibres horizontales corticales en changent les bordures ou remplissent la zone de projection de la lésion. Les connexions cortico-corticales sont renforcées (Calford et al 2003, Das & Gilbert 1995, Palagina et al 2009) afin de compenser la perte d'apport visuel.

La récupération pour compenser un déficit est un processus qui peut s'établir sur des semaines. Cette récupération se fait via deux phénomènes généralement : la formation de nouveaux

circuits neuronaux et la ré-utilisation à d'autres fins de circuits corticaux déjà existants et épargnés par la lésion (Merzenich et al 1983). L'affectation peut survenir au niveau du neurone et de ses synapses (échelle microscopique), de groupes de neurones (échelle mésoscopique) ou encore au niveau de régions corticales (échelle macroscopique) (Silasi & Murphy 2014a, Silasi & Murphy 2014b).

Chez le rat, on observe souvent une différence entre le comportement et les changements anatomiques ou électrophysiologiques suite à l'endommagement du nerf optique. Dans ces études, il a été montré que même avec seulement 10% de cellules ganglionnaires rétinienne fonctionnelles, les animaux étaient capables de fonctionner normalement dans des tâches visuelles comportementales. Dans notre étude, il a fallu environ 5 jours pour observer une récupération partielle de l'activité corticale suite à l'ONC en utilisant la technique d'imagerie calcique. Toutefois, dès que l'ONC a été réalisée, le comportement visuel a été modifié.

Des études suivant une axotomie complète ont montré une perte initiale des CGR dans les deux premières semaines après la lésion où seulement 5% d'entre elles survivent (Villegas-Perez et al 1993). Lors d'une lésion réalisée avec un ONC, il n'y a normalement pas de régénération à longue distance (Benowitz & Yin 2010). Toutefois, une régénération a été rendue possible dans le système nerveux central chez la souris adulte en utilisant une combinaison de traitements où les cellules ganglionnaires de la rétine se sont régénérées au point où elles ont réinnervé les zones visuelles (de Lima et al 2012). Dans le cas de l'ONC, l'activité du cortex visuel est d'abord diminuée par le manque d'entrée rétinienne. Par exemple, la réduction de la fonction cérébrale chez l'humain à la suite d'une névrite optique a été corrélée à l'étendue de l'atteinte survenue dans le nerf optique (Russ et al 2002, Werring et al 2000). La récupération spontanée observée par notre signal calcique dans V1 pourrait ainsi originer de la combinaison de la dégénérescence des cellules ganglionnaires (ou de la survie des cellules ganglionnaires restantes dispersées dans la rétine) et de la plasticité corticale résultant des connexions cortico-corticales plus fortes (Calford et al 2003, Das & Gilbert 1995, Palagina et al 2009) ou de l'innervation intermodale (Sabel et al 2011a, Sabel et al 2011b).

VI.6 Conclusion

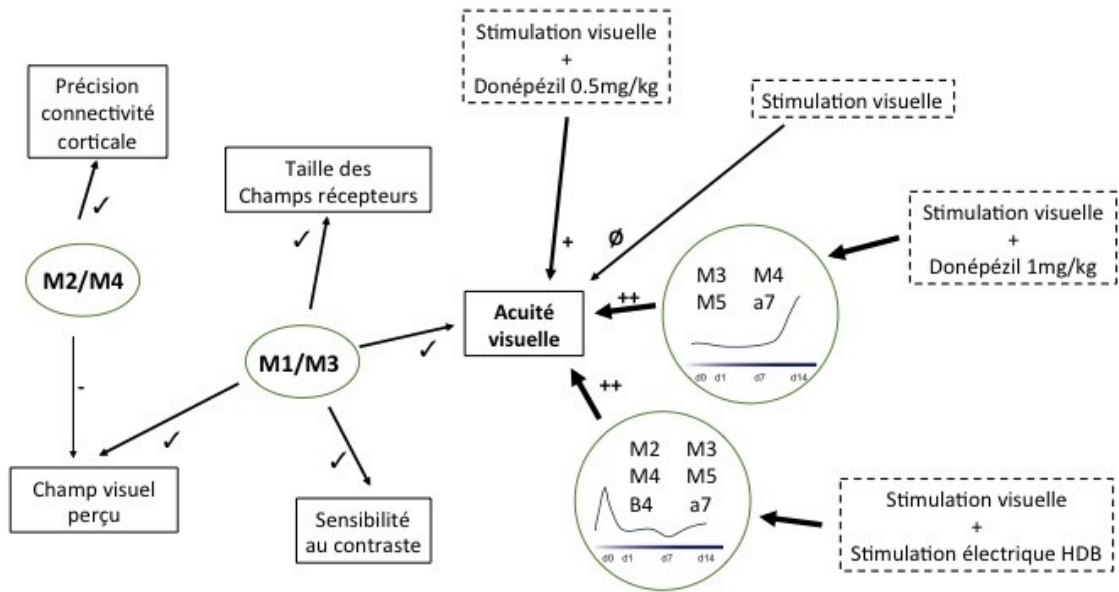
Ces résultats préliminaires démontrent que la réponse corticale induite visuellement est diminuée dans les zones visuelles V1 et V2 suivant l'écrasement partiel du nerf optique. Une récupération de l'activité corticale apparaît entre 3 et 5 jours après l'écrasement et reste jusqu'à un mois après la blessure. De plus, le traitement des stimuli visuels est plus faible dans les zones visuelles V1 et secondaires au cours des premiers jours suivant l'écrasement partiel du nerf optique. Toutefois, 3 jours après une blessure, la réponse dans V1 apparaît traitée plus efficacement et remonte aux valeurs pré-écrasement pour V2 et l'hémisphère ipsilatéral.

L'écrasement du nerf optique partiel a fortement affecté la survie des cellules ganglionnaires de la rétine un mois après la lésion du nerf optique. La vision résiduelle observée en imagerie calcique résulterait donc de la plasticité corticale. Finalement, il n'y a pas de récupération de l'acuité visuelle observée après la lésion du nerf optique. Toutefois, une amélioration de l'acuité visuelle dans l'œil non lésé est observée au niveau comportemental.

Chapitre VII : Discussion générale

Les résultats présentés dans le cadre de cette thèse démontrent clairement que le système cholinergique influence la fonction du cortex visuel primaire, que celle-ci se produise lors de la maturation cérébrale ou chez l'animal adulte. Nous y avons étudié l'implication du système cholinergique sur la maturation du cortex visuel et l'impact de sa potentialisation dans l'amélioration de la performance visuelle chez le rongeur adulte. Par une étude d'imagerie, nous avons pu conclure que les récepteurs muscariniques sont essentiels au bon développement de la connectivité neuronale et à la fonction des neurones du cortex visuel et qu'ils jouent un rôle important dans le développement et la maturation visuelle. Par l'utilisation de l'électrophysiologie et de la technique de biologie moléculaire qRT-PCR, nous avons pu évaluer les différences dans l'expression des récepteurs cholinergiques obtenues entre la stimulation cholinergique électrique et celle de type pharmacologique en fonction du temps. Ces résultats offrent la possibilité de cibler certains récepteurs cholinergiques pour améliorer la fonction visuelle dans un contexte d'apprentissage et nous l'espérons dans un contexte de plasticité corticale suite à une lésion. La figure VII.1 présente l'implication des récepteurs cholinergiques dans les propriétés visuelles corticales.

Les travaux de cette thèse ont été complétés chez des animaux sains, qui n'avaient pas de défaut de la voie visuelle. L'objectif de ces études était d'améliorer la compréhension de la contribution cholinergique au fonctionnement de la vision. Plusieurs patients atteints de problèmes au niveau du système nerveux central, comme la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, l'épilepsie ou la schizophrénie ont des altérations de leurs capacités visuelles (Armstrong 2011, Deng et al 2016, Li et al 2017, Wolf 2016). Et dans ces maladies, un défaut de la transmission cholinergique est soupçonné ou démontré. Il est donc grandement approprié d'étudier le système cholinergique dans un contexte qui nous permettrait de comprendre son implication dans l'amélioration et la restauration des capacités visuelles et cognitives.



Légende

- Diminution de la propriété (-)
- Augmentation de la propriété (+)
- Établissement de la propriété ()
- Augmentation prononcée de la propriété (++)
- Aucune modification (Ø)

Figure VII.1 Schéma récapitulatif de l'implication des récepteurs cholinergiques dans les propriétés visuelles corticales

Ce schéma récapitulatif présente l'implication des récepteurs dans les propriétés visuelles corticales. D'une part, combinaison des récepteurs M2/M4 permet l'établissement normal de la précision de la connectivité corticale mais affecte le champ visuel perçu et la combinaison des récepteurs M1/M3 permet l'établissement du champ visuel perçu, de la sensibilité au contraste, de la taille des champs récepteurs et de l'acuité visuelle. D'autre part, lorsque le système visuel est stimulé en combinaison avec le système cholinergique, l'expression des récepteurs diffère selon le type stimulation et l'effet diffère au niveau de l'amélioration de l'acuité visuelle mesurée à 14 jours.

VII.1 L'intérêt d'étudier les récepteurs cholinergiques

Concrètement, les expériences effectuées dans cette thèse visent un potentiel thérapeutique par le ciblage des récepteurs cholinergiques. L'ACh est présent tout le long de la voie rétino-corticale (rétine/collicule supérieur/cortex) et la relâche d'ACh dans le cortex visuel module le traitement de l'information visuelle. La présentation visuelle de réseaux sinusoïdaux induit une relâche d'ACh dans le cortex visuel chez le rat anesthésié (Laplante et al 2005). Cette libération d'ACh dans le cortex visuel facilite la plasticité corticale (Gu 2003). Tant la stimulation électrique que la stimulation pharmacologique du système cholinergique induisent la plasticité corticale en jouant sur la connectivité neuronale. Étant donné que les récepteurs cholinergiques sont habituellement associés à des changements à long terme liés aux processus de plasticité, les altérations de leur expression pourraient soutenir du renforcement synaptique et ainsi l'augmentation de la sensibilité aux stimuli tel que décrit précédemment (Chamoun et al 2016, Kang et al 2014a).

Les mAChR sont nécessaires au bon fonctionnement du cortex visuel et à la maturation post-natale. Les récepteurs cholinergiques sont impliqués dans la maturation neuronale (Bruehl-Jungman et al 2011) et sont retrouvés dans le cortex avant la synaptogénèse, période débutant environ 3 semaines suivant la naissance du rongeur (Fagiolini et al 1994). Toutefois, leur présence évolue graduellement durant le développement. À la naissance, l'expression des récepteurs M1, M2 et M3 est très faible comparativement à ce qui est observé chez l'adulte. C'est entre les semaines 3-5 suivant la naissance que les niveaux rejoignent ceux observés chez l'animal mature (Aubert et al 1996). L'implication des mAChR dans les propriétés des neurones visuels observés dans la première étude ajoute à la fonction de l'ACh dans le contrôle du gain de réponse et dans les processus attentionnels et d'apprentissage dans V1.

V1 est la première étape corticale de l'intégration de stimuli visuels complexes. L'intégration de l'information dans V1 est médiée par les connexions verticales et horizontales entre les neurones excitateurs et les interneurons inhibiteurs. La stimulation cholinergique amènerait un renforcement de ces connexions neuronales. Elle peut ainsi être comparée au phénomène attentionnel qui module la connectivité entre les aires corticales (Sarter et al 2001). En stimulant le système cholinergique durant une présentation visuelle imposée à l'animal qui est éveillé,

nous induisons ainsi un état comparable à l'attention visuelle et ce malgré que l'évaluation des propriétés corticales visuelles soit faite chez l'animal anesthésié.

Les études présentées dans cette thèse ont démontré qu'il est possible, par une combinaison d'entraînements visuels et de stimulations cholinergiques, d'induire une amélioration de la réponse corticale visuelle. La modulation de la réponse à l'orientation observée avant la modulation de la réponse aux fréquences spatiales pourrait, d'ailleurs, se retrouver chez un modèle possédant une organisation corticale en colonnes, c'est-à-dire autre que chez le rongeur. Au sein de différentes espèces, la sélectivité d'orientation est préservée. Les informations complexes sont extraites via des projections vers différentes colonnes ou cellules spécifiques (dans le modèle poivre et sel). Puisque les félins et les primates possèdent des colonnes d'orientation mieux structurées que les colonnes de fréquence spatiale, on peut supposer que suite à notre entraînement cholinergique/visuel, l'orientation serait affectée avant la fréquence spatiale. En effet, chez le chat par exemple, l'orientation préférée des neurones peut être modifiée en une dizaine de minutes par adaptation. Il semblerait donc que ces colonnes soient une configuration fonctionnelle plutôt qu'anatomique de la cellule (Bachatene et al 2015) tandis que l'adaptation à la fréquence spatiale semble altérer le gain au contraste du système visuel (Menees 1998). De plus, tel qu'observé précédemment, aucun changement de l'activité corticale n'est détecté après une stimulation visuelle répétée (Kang et al 2014a, Kang et al 2014b). Nous pouvons dorénavant ajouter que la stimulation visuelle seule n'est pas en mesure à elle seule non plus de modifier l'expression des récepteurs cholinergiques, ou du moins dans nos conditions. Ce qui ressort des résultats de l'étude est que les récepteurs cholinergiques principaux muscarinique et nicotinique dans le cortex ne sont pas affectés par la combinaison stimulation cholinergique/entraînement visuel tandis que ceux moins présents le sont. Toutefois, contrairement à l'observation faite en électrophysiologie, les résultats pourraient potentiellement varier d'une espèce à l'autre. En effet, l'expression des récepteurs cholinergiques diffère en ce qui a trait aux sous-types corticaux principaux (Flynn et al 1995), aux types cellulaires qui l'expriment (Disney et al 2007, Disney et al 2006a, Mash & Potter 1986) et à la distribution dans les couches corticales (Gu 2003). Tous ces éléments modulent leurs fonctions (Amar et al 2010).

VII.2 Comparaison des modes de stimulation cholinergique

Partant des résultats d'études précédentes qui concluent que tant la stimulation électrique du télencéphale basal (Kang et al 2014a, Kang et al 2014b, Kang & Vaucher 2009) que l'utilisation de donépézil (Chamoun et al 2017b) couplées à un entraînement visuel sont en mesure d'améliorer l'acuité visuelle, nous avons voulu comparer ces modes de potentialisation cholinergique et identifier les récepteurs impliqués dans le phénomène. Nous avons donc supposé que les récepteurs impliqués dans les deux modes de stimulation seraient différents bien que leur finalité au niveau fonctionnel, à deux semaines d'entraînement, soit similaire.

Le bras horizontal de la bande diagonale de Broca est le noyau cholinergique projetant au cortex visuel (Gaykema et al 1990, Laplante et al 2005, Mesulam et al 1983b). En plus de contenir des neurones cholinergiques, on y retrouve des cellules GABAergiques et glutamatergiques (Brashear et al 1986, Gritti et al 1997). La stimulation électrique du télencéphale basal améliorant le traitement des afférences thalamocorticales vers les aires sensorielles (Aggelopoulos et al 2011) a été utilisée pour induire de la plasticité au niveau du cortex auditif (Froemke et al 2007, Kilgard & Merzenich 1998) et du cortex visuel (Kang et al 2014a, Kang & Vaucher 2009).

Le donépézil possède un grand avantage par rapport à la stimulation électrique : son administration est non-invasive. C'est un point très important considérant sa portée vers les études chez l'humain. Tout comme la stimulation électrique, le donépézil ne cible pas directement les récepteurs cholinergiques. Les AChEIs sont utilisés chez les patients atteints d'Alzheimer pour améliorer les fonctions cognitives (Mohs et al 2001).

Nos résultats ont démontré une différence importante entre les deux modes de stimulation. Comparativement à la potentialisation pharmacologique du système cholinergique, une stimulation électrique des neurones du télencéphale basal sans stimulation visuelle induit directement la surexpression post-synaptique des récepteurs cholinergiques dans V1. Au contraire, le donépézil doit être combiné avec un traitement visuel afin d'altérer l'expression des récepteurs. La stimulation pharmacologique pourrait donc être considérée comme étant plus physiologique que la stimulation électrique. Cet effet pourrait provenir des niveaux d'ACh libérés par les deux modes de stimulation. La stimulation électrique induirait une libération

courte et intense d'ACh tandis que le donépézil laisserait place à une libération naturelle d'ACh par l'activation spontanée des fibres cholinergiques due à la stimulation visuelle, mais dont l'action serait prolongée.

VII.2 Les récepteurs cholinergiques à cibler

La suite logique est de potentialiser le système cholinergique et de cibler directement les récepteurs cholinergiques en vue d'améliorer la vision chez un animal présentant une altération visuelle. Par exemple, à l'application de scopolamine, un antagoniste muscarinique non sélectif, une diminution de l'attention visuelle est observée chez le singe (Herrero et al 2008). Les récepteurs muscariniques régulent de multiples fonctions du système nerveux central et interviennent dans plusieurs fonctions physiologiques. Néanmoins, leurs rôles au niveau de la modulation des propriétés corticales visuelles restaient à être établis. Il est aussi connu que l'expression normale des récepteurs cholinergiques dans le cortex visuel est affectée par la privation visuelle néonatale. Les récepteurs nicotiniques agissent tant sur les cellules excitatrices qu'inhibitrices et ont un rôle important dans l'amélioration de la réponse corticale (Disney et al 2007, Lucas-Meunier et al 2003b, Morishita et al 2010). Leur positionnement présynaptique sur les fibres thalamocorticales leur permettrait d'améliorer la réponse corticale visuelle au niveau de la couche IV.

Les récepteurs cholinergiques (muscariniques et nicotiniques) sont exprimés différemment au niveau des couches cellulaires et des types cellulaires (revue par Obermayer et al 2017). Par exemple, lors d'une stimulation électrique effectuée dans la couche V de V1 chez de jeunes souris, les mAChRs permettent le déclenchement d'un phénomène d'activité persistante (provenant de l'entrée de calcium dans la cellule pyramidale via les canaux calciques voltage-dépendants qui est initié même lorsque les récepteurs GABA et les récepteurs ionotropiques au glutamate sont bloqués). Dans ce phénomène, les nAChR ne sont pas impliqués (Rahman & Berger 2011). De plus, l'activation des récepteurs cholinergiques dans les couches superficielles augmentant l'inhibition GABAergique est en mesure d'inhiber l'initiation du potentiel d'action des neurones pyramidaux (revue par Obermayer et al 2017). Toutefois nos études n'ont pas été en mesure de distinguer cette expression différentielle et il s'agit d'un élément qui serait

intéressant à évaluer pour comprendre plus précisément (couche corticale par couche corticale) la dynamique de la modulation visuelle par le système cholinergique.

Les récepteurs muscariniques principaux dans V1 sont les sous-types M1 et M2 (Levey et al 1991b). Le récepteur M1 aurait un rôle d'amplification postsynaptique de la réponse visuelle (Gulledge et al 2007, Kang et al 2014b) tandis que le récepteur M2 en aurait un de désinhibition présynaptique, améliorant l'activation des cellules pyramidales. La facilitation synaptique à de faibles concentrations d'ACh proviendrait du recrutement des mAChRs M2 ou M4 tandis que la dépression à des concentrations d'ACh plus élevées impliquerait le recrutement des mAChRs M1 et M4 (Kuczewski et al 2005a). Toutefois, nous pouvons croire de par nos études qu'il ne serait pas adapté de cibler le récepteur muscarinique M1, le principal récepteur muscarinique dans le cortex visuel, lors d'un déficit visuel. Dans nos études il ne semble pas impliqué dans l'amélioration de la fonction visuelle lors du couplage de stimulation visuelle et cholinergique bien qu'il soit impliqué dans l'établissement des caractéristiques corticales visuelles.

Les mAChR supprimeraient la propagation latérale de l'activation *feedforward* (Kimura et al 1999, Silver et al 2008a). À haute concentration, l'ACh diminuerait la connectivité intracorticale mais faciliterait les synapses thalamocorticales. À faible concentration par contre, l'ACh potentialiserait les synapses intracorticales. L'ACh pourrait être en mesure d'exciter les *inputs* cortico-corticaux provenant de régions éloignées. Celles-ci étant nombreuses, elles pourraient stimuler l'activité d'autres réseaux corticaux (Aronoff et al 2010, Petreanu et al 2007, Zaghera et al 2013).

Le récepteur M3, bien que moins présent, est nécessaire à la définition de la taille de la population des champs récepteurs visuels corticaux et est impliqué dans l'établissement des propriétés corticales. Sa présence sur les interneurons GABAergiques pourrait en faire une cible intéressante pour la potentialisation de l'activité visuelle ciblée, étant donné que la spécificité des effets amplificateurs de l'ACh sur le traitement des stimuli visuels a été attribuée aux interneurons inhibiteurs GABAergiques (revue par Sarter and Bruno, 1997). Les récepteurs M2 et M4 ont une implication dans la connectivité neuronale au sein de V1 ou au niveau des connexions rétinothalamiques. La présence importante des récepteurs M2 dans le cortex visuel rend ces récepteurs intéressants comme cible thérapeutique pour améliorer l'activité corticale

lors du traitement visuel. L'activation des récepteurs M2 peut en effet désinhiber les cellules pyramidales via l'inhibition des cellules GABAergiques.

Le récepteur $\alpha 3\beta 4$, identifié comme excitateur, est présent majoritairement sur les cellules pyramidales (Lucas-Meunier et al 2009). Il pourrait donc s'agir d'une cible potentielle de l'amélioration de l'activité corticale considérant que l'expression de ce récepteur a été altérée par la stimulation électrique du télencéphale. Le récepteur $\alpha 4\beta 2$, qui est le nAChR principal dans le cortex visuel, améliore la transmission thalamo-corticale, probablement par sa localisation sur les terminaisons présynaptiques des fibres thalamiques (Lavine et al 1997). Toutefois, il ne semble pas être impliqué dans l'amélioration de l'activité corticale visuelle induite dans nos expériences. Nos études laissent aussi penser qu'il serait possible de cibler le récepteur $\alpha 7$, modulé tant par la stimulation électrique que pharmacologique du système cholinergique. Il s'agit en effet d'un récepteur qui est impliqué dans les processus d'amélioration cholinergique, et plus généralement dans les mécanismes de plasticité (Sadahiro et al 2016).

De par son rôle important dans le fonctionnement du cortex visuel, nous pensons qu'une stimulation précise des récepteurs cholinergiques permettrait un gain visuel, qui pourrait être appliqué lors d'un déficit visuel. Il est néanmoins nécessaire de poursuivre nos recherches fondamentales afin d'établir de futurs protocoles d'expérimentation pour atteindre cet objectif. De plus, comme la spécificité des effets amplificateurs de l'ACh sur le traitement des stimuli visuels a été attribuée aux interneurons inhibiteurs GABAergiques (revue par Sarter and Bruno, 1997), il serait intéressant d'aller colocaliser les récepteurs cholinergiques impliqués dans l'amélioration de la fonction visuelle avec les types cellulaires spécifiques.

VII.3 Conclusion

Les recherches faisant partie de cette thèse ont permis de mieux comprendre le rôle des récepteurs cholinergiques dans le fonctionnement du cortex visuel. La distribution des récepteurs cholinergiques leur permet d'avoir une action complexe au niveau de l'intégration des stimuli visuels. Les études présentées dans cette thèse ont permis de démontrer l'importance

des récepteurs cholinergiques dans le fonctionnement visuel et dans la potentialisation de la fonction visuelle.

La plasticité qui s'exerce au niveau des connexions neuronales, de leur puissance et de leur précision est active et adaptative. Il semble ainsi probable qu'une stimulation du système cholinergique serait en mesure d'améliorer la récupération visuelle induite par un déficit et qu'il devrait être possible de cibler les récepteurs cholinergiques afin d'atteindre cette finalité. J'espère que mes études permettront de poursuivre la recherche vers une meilleure compréhension possible du traitement de l'information visuelle, le raffinement de la perception visuelle et sa restauration.

Bibliographie

- Aggelopoulos NC, Liebe S, Logothetis NK, Rainer G. 2011. Cholinergic control of visual categorization in macaques. *Frontiers in behavioral neuroscience* 5: 73
- Alkondon M, Braga MF, Pereira EF, Maelicke A, Albuquerque EX. 2000. alpha7 nicotinic acetylcholine receptors and modulation of gabaergic synaptic transmission in the hippocampus. *Eur J Pharmacol* 393: 59-67
- Amar M, Lucas-Meunier E, Baux G, Fossier P. 2010. Blockade of different muscarinic receptor subtypes changes the equilibrium between excitation and inhibition in rat visual cortex. *Neuroscience* 169: 1610-20
- Armstrong RA. 2011. Visual symptoms in Parkinson's disease. *Parkinson's disease* 2011: 908306
- Aronoff R, Matyas F, Mateo C, Ciron C, Schneider B, Petersen CC. 2010. Long-range connectivity of mouse primary somatosensory barrel cortex. *The European journal of neuroscience* 31: 2221-33
- Aubert I, Cecyre D, Gauthier S, Quirion R. 1996. Comparative ontogenic profile of cholinergic markers, including nicotinic and muscarinic receptors, in the rat brain. *J Comp Neurol* 369: 31-55
- Avendano C, Umbriaco D, Dykes RW, Descarries L. 1996. Acetylcholine innervation of sensory and motor neocortical areas in adult cat: a choline acetyltransferase immunohistochemical study. *J Chem Neuroanat* 11: 113-30
- Aztiria E, Gotti C, Domenici L. 2004. Alpha7 but not alpha4 AChR subunit expression is regulated by light in developing primary visual cortex. *J Comp Neurol* 480: 378-91
- Baccus SA, Meister M. 2002. Fast and slow contrast adaptation in retinal circuitry. *Neuron* 36: 909-19
- Bachatene L, Bharmauria V, Cattani S, Rouat J, Molotchnikoff S. 2015. Reprogramming of orientation columns in visual cortex: a domino effect. *Scientific reports* 5: 9436
- Bachatene L, Bharmauria V, Molotchnikoff S. 2012. *Adaptation and Neuronal Network in Visual Cortex, Visual Cortex - Current Status and Perspectives*. InTech.
- Baker CI, Peli E, Knouf N, Kanwisher NG. 2005. Reorganization of visual processing in macular degeneration. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 25: 614-8
- Banks WA. 2012. Drug delivery to the brain in Alzheimer's disease: consideration of the blood-brain barrier. *Advanced drug delivery reviews* 64: 629-39
- Baroncelli L, Sale A, Viegi A, Maya Vetencourt JF, De Pasquale R, et al. 2010. Experience-dependent reactivation of ocular dominance plasticity in the adult visual cortex. *Exp Neurol* 226: 100-9
- Barron KD, Dentinger MP, Krohel G, Easton SK, Mankes R. 1986. Qualitative and quantitative ultrastructural observations on retinal ganglion cell layer of rat after intraorbital optic nerve crush. *Journal of neurocytology* 15: 345-62
- Bavelier D, Levi DM, Li RW, Dan Y, Hensch TK. 2010. Removing brakes on adult brain plasticity: from molecular to behavioral interventions. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 30: 14964-71

- Beach TG, Honer WG, Hughes LH. 1997. Cholinergic fibre loss associated with diffuse plaques in the non-demented elderly: the preclinical stage of Alzheimer's disease? *Acta neuropathologica* 93: 146-53
- Beach TG, Kuo YM, Spiegel K, Emmerling MR, Sue LI, et al. 2000. The cholinergic deficit coincides with Abeta deposition at the earliest histopathologic stages of Alzheimer disease. *Journal of neuropathology and experimental neurology* 59: 308-13
- Bear MF. 2003. Bidirectional synaptic plasticity: from theory to reality. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 358: 649-55
- Bear MF, Singer W. 1986. Modulation of visual cortical plasticity by acetylcholine and noradrenaline. *Nature* 320: 172-6
- Benevento LA, Bakkum BW, Port JD, Cohen RS. 1992. The effects of dark-rearing on the electrophysiology of the rat visual cortex. *Brain Res* 572: 198-207
- Benowitz LI, Yin Y. 2010. Optic nerve regeneration. *Archives of ophthalmology* 128: 1059-64
- Berridge MJ. 1998. Neuronal calcium signaling. *Neuron* 21: 13-26
- Bhattacharyya A, Biessmann F, Veit J, Kretz R, Rainer G. 2012. Functional and laminar dissociations between muscarinic and nicotinic cholinergic neuromodulation in the tree shrew primary visual cortex. *The European journal of neuroscience* 35: 1270-80
- Bhattacharyya A, Veit J, Kretz R, Bondar I, Rainer G. 2013. Basal forebrain activation controls contrast sensitivity in primary visual cortex. *BMC Neurosci* 14: 55
- Bonhoeffer T, Grinvald A. 1991. Iso-orientation domains in cat visual cortex are arranged in pinwheel-like patterns. *Nature* 353: 429-31
- Bonin V, Histed MH, Yurgenson S, Reid RC. 2011. Local diversity and fine-scale organization of receptive fields in mouse visual cortex. *J Neurosci* 31: 18506-21
- Bourne JA. 2010. Unravelling the development of the visual cortex: implications for plasticity and repair. *Journal of anatomy* 217: 449-68
- Brashear HR, Zaborszky L, Heimer L. 1986. Distribution of GABAergic and cholinergic neurons in the rat diagonal band. *Neuroscience* 17: 439-51
- Briggs F, Mangun GR, Usrey WM. 2013. Attention enhances synaptic efficacy and the signal-to-noise ratio in neural circuits. *Nature* 499: 476-80
- Brocher S, Artola A, Singer W. 1992. Intracellular injection of Ca²⁺ chelators blocks induction of long-term depression in rat visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89: 123-7
- Bruel-Jungerman E, Lucassen PJ, Francis F. 2011. Cholinergic influences on cortical development and adult neurogenesis. *Behav Brain Res* 221: 379-88
- Buonomano DV, Merzenich MM. 1998. Cortical plasticity: from synapses to maps. *Annual review of neuroscience* 21: 149-86
- Burkhalter A. 1989. Intrinsic connections of rat primary visual cortex: laminar organization of axonal projections. *The Journal of comparative neurology* 279: 171-86
- Cabadak H, Aydin B, Kan B. 2011. Regulation of M2, M3, and M4 muscarinic receptor expression in K562 chronic myelogenous leukemic cells by carbachol. *J Recept Signal Transduct Res* 31: 26-32
- Calford MB, Wright LL, Metha AB, Taglianetti V. 2003. Topographic plasticity in primary visual cortex is mediated by local corticocortical connections. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 23: 6434-42
- Cang J, Kaneko M, Yamada J, Woods G, Stryker MP, Feldheim DA. 2005a. Ephrin-as guide the formation of functional maps in the visual cortex. *Neuron* 48: 577-89

- Cang J, Renteria RC, Kaneko M, Liu X, Copenhagen DR, Stryker MP. 2005b. Development of precise maps in visual cortex requires patterned spontaneous activity in the retina. *Neuron* 48: 797-809
- Cang J, Wang L, Stryker MP, Feldheim DA. 2008. Roles of ephrin-as and structured activity in the development of functional maps in the superior colliculus. *J Neurosci* 28: 11015-23
- Carandini M, Sengpiel F. 2004. Contrast invariance of functional maps in cat primary visual cortex. *J Vis* 4: 130-43
- Carandini M, Shimaoka D, Rossi LF, Sato TK, Benucci A, Knopfel T. 2015. Imaging the awake visual cortex with a genetically encoded voltage indicator. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 35: 53-63
- Caulfield MP, Birdsall NJ. 1998. International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol Rev* 50: 279-90
- Chalupa L, Williams R. 2008. *Eye, retina, and visual system of the mouse*. Cambridge, Mass.: MIT Press.
- Chamoun M, Groleau M, Bhat M, Vaucher E. 2016. Dose-dependent effect of donepezil administration on long-term enhancement of visually evoked potentials and cholinergic receptor overexpression in rat visual cortex. *J Physiol Paris* 110: 65-74
- Chamoun M, Sergeeva EG, Henrich-Noack P, Jia S, Grigartzik L, et al. 2017a. Cholinergic Potentiation of Restoration of Visual Function after Optic Nerve Damage in Rats. *Neural plasticity* 2017: 10
- Chamoun M, Sergeeva EG, Henrich-Noack P, Jia S, Grigartzik L, et al. 2017b. Cholinergic Potentiation of Restoration of Visual Function after Optic Nerve Damage in Rats. *Neural plasticity* 2017: 6928489
- Changeux JP, Bertrand D, Corringer PJ, Dehaene S, Edelstein S, et al. 1998. Brain nicotinic receptors: structure and regulation, role in learning and reinforcement. *Brain research. Brain research reviews* 26: 198-216
- Chattopadhyaya B, Di Cristo G, Wu CZ, Knott G, Kuhlman S, et al. 2007. GAD67-mediated GABA synthesis and signaling regulate inhibitory synaptic innervation in the visual cortex. *Neuron* 54: 889-903
- Chemla S, Chavane F. 2010. Voltage-sensitive dye imaging: Technique review and models. *Journal of physiology, Paris* 104: 40-50
- Collier B, Mitchell JF. 1966. The central release of acetylcholine during stimulation of the visual pathway. *J Physiol* 184: 239-54
- Consonni S, Leone S, Becchetti A, Amadeo A. 2009. Developmental and neurochemical features of cholinergic neurons in the murine cerebral cortex. *BMC neuroscience* 10: 18
- Coppola JJ, Disney AA. 2018. Is There a Canonical Cortical Circuit for the Cholinergic System? Anatomical Differences Across Common Model Systems. *Frontiers in neural circuits* 12: 8
- Coppola JJ, Ward NJ, Jadi MP, Disney AA. 2016. Modulatory compartments in cortex and local regulation of cholinergic tone. *J Physiol Paris* 110: 3-9
- Couture R, Chorvatova A, Vaucher E. 2015. Pharmacologie du système nerveux autonome In *Précis de pharmacologie*, ed. PUD Montréal, pp. 271-91
- Cutuli D, Foti F, Mandolesi L, De Bartolo P, Gelfo F, et al. 2008. Cognitive performance of healthy young rats following chronic donepezil administration. *Psychopharmacology (Berl)* 197: 661-73

- Dani JA. 2001. Overview of nicotinic receptors and their roles in the central nervous system. *Biological psychiatry* 49: 166-74
- Darian-Smith C, Gilbert CD. 1994. Axonal sprouting accompanies functional reorganization in adult cat striate cortex. *Nature* 368: 737-40
- Darian-Smith C, Gilbert CD. 1995. Topographic reorganization in the striate cortex of the adult cat and monkey is cortically mediated. *J Neurosci* 15: 1631-47
- Das A, Gilbert CD. 1995. Long-range horizontal connections and their role in cortical reorganization revealed by optical recording of cat primary visual cortex. *Nature* 375: 780-4
- de Lima S, Koriyama Y, Kurimoto T, Oliveira JT, Yin Y, et al. 2012. Full-length axon regeneration in the adult mouse optic nerve and partial recovery of simple visual behaviors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 9149-54
- Delacour J, Houcine O, Costa JC. 1990. Evidence for a cholinergic mechanism of "learned" changes in the responses of barrel field neurons of the awake and undrugged rat. *Neuroscience* 34: 1-8
- Deng Y, Shi L, Lei Y, Wang D, Alzheimer's Disease Neuroimaging I. 2016. Altered topological organization of high-level visual networks in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment patients. *Neuroscience letters* 630: 147-53
- Desai NS, Cudmore RH, Nelson SB, Turrigiano GG. 2002. Critical periods for experience-dependent synaptic scaling in visual cortex. *Nature neuroscience* 5: 783-9
- Descarries L, Gisiger V, Steriade M. 1997. Diffuse transmission by acetylcholine in the CNS. *Progress in neurobiology* 53: 603-25
- Desimone R. 1998. Visual attention mediated by biased competition in extrastriate visual cortex. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 353: 1245-55
- Dieterich DC, Trivedi N, Engelmann R, Gundelfinger ED, Gordon-Weeks PR, Kreutz MR. 2002. Partial regeneration and long-term survival of rat retinal ganglion cells after optic nerve crush is accompanied by altered expression, phosphorylation and distribution of cytoskeletal proteins. *The European journal of neuroscience* 15: 1433-43
- Dilks DD, Serences JT, Rosenau BJ, Yantis S, McCloskey M. 2007. Human adult cortical reorganization and consequent visual distortion. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 27: 9585-94
- Dillon GM, Shelton D, McKinney AP, Caniga M, Marcus JN, et al. 2009. Prefrontal cortex lesions and scopolamine impair attention performance of C57BL/6 mice in a novel 2-choice visual discrimination task. *Behav Brain Res* 204: 67-76
- Disney AA, Aoki C. 2008. Muscarinic acetylcholine receptors in macaque V1 are most frequently expressed by parvalbumin-immunoreactive neurons. *The Journal of comparative neurology* 507: 1748-62
- Disney AA, Aoki C, Hawken MJ. 2007. Gain modulation by nicotine in macaque v1. *Neuron* 56: 701-13
- Disney AA, Domakonda KV, Aoki C. 2006a. Differential expression of muscarinic acetylcholine receptors across excitatory and inhibitory cells in visual cortical areas V1 and V2 of the macaque monkey. *The Journal of comparative neurology* 499: 49-63
- Disney AA, Domakonda KV, Aoki C. 2006b. Differential expression of muscarinic acetylcholine receptors across excitatory and inhibitory cells in visual cortical areas V1 and V2 of the macaque monkey. *The Journal of comparative neurology* 499: 49-63

- Disney AA, Reynolds JH. 2014. Expression of m1-type muscarinic acetylcholine receptors by parvalbumin-immunoreactive neurons in the primary visual cortex: a comparative study of rat, guinea pig, ferret, macaque, and human. *J Comp Neurol* 522: 986-1003
- Domenici L, Berardi N, Carmignoto G, Vantini G, Maffei L. 1991. Nerve growth factor prevents the amblyopic effects of monocular deprivation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88: 8811-5
- Dori I, Parnavelas JG. 1989. The cholinergic innervation of the rat cerebral cortex shows two distinct phases in development. *Exp Brain Res* 76: 417-23
- Dotigny F, Ben Amor AY, Burke M, Vaucher E. 2008. Neuromodulatory role of acetylcholine in visually-induced cortical activation: behavioral and neuroanatomical correlates. *Neuroscience* 154: 1607-18
- Douglas CL, Baghdoyan HA, Lydic R. 2001. M2 muscarinic autoreceptors modulate acetylcholine release in prefrontal cortex of C57BL/6J mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 299: 960-6
- Drager UC. 1975. Receptive fields of single cells and topography in mouse visual cortex. *The Journal of comparative neurology* 160: 269-90
- Drager UC. 1978. Observations on monocular deprivation in mice. *J Neurophysiol* 41: 28-42
- Dringenberg HC, Hamze B, Wilson A, Speechley W, Kuo MC. 2007. Heterosynaptic facilitation of in vivo thalamocortical long-term potentiation in the adult rat visual cortex by acetylcholine. *Cerebral cortex* 17: 839-48
- Duttaroy A, Gomez J, Gan JW, Siddiqui N, Basile AS, et al. 2002. Evaluation of muscarinic agonist-induced analgesia in muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Mol Pharmacol* 62: 1084-93
- Egan TM, North RA. 1986. Acetylcholine hyperpolarizes central neurones by acting on an M2 muscarinic receptor. *Nature* 319: 405-7
- Eggermann E, Kremer Y, Crochet S, Petersen CC. 2014. Cholinergic signals in mouse barrel cortex during active whisker sensing. *Cell reports* 9: 1654-60
- Elhusseiny A, Cohen Z, Olivier A, Stanimirovic DB, Hamel E. 1999. Functional acetylcholine muscarinic receptor subtypes in human brain microcirculation: identification and cellular localization. *J Cereb Blood Flow Metab* 19: 794-802
- Elhusseiny A, Hamel E. 2000. Muscarinic--but not nicotinic--acetylcholine receptors mediate a nitric oxide-dependent dilation in brain cortical arterioles: a possible role for the M5 receptor subtype. *J Cereb Blood Flow Metab* 20: 298-305
- Erisir A, Levey AI, Aoki C. 2001. Muscarinic receptor M(2) in cat visual cortex: laminar distribution, relationship to gamma-aminobutyric acidergic neurons, and effect of cingulate lesions. *J Comp Neurol* 441: 168-85
- Erskine L, Herrera E. 2014. Connecting the retina to the brain. *ASN neuro* 6
- Fagiolini M, Hensch TK. 2000. Inhibitory threshold for critical-period activation in primary visual cortex. *Nature* 404: 183-6
- Fagiolini M, Pizzorusso T, Berardi N, Domenici L, Maffei L. 1994. Functional postnatal development of the rat primary visual cortex and the role of visual experience: dark rearing and monocular deprivation. *Vision research* 34: 709-20
- Felleman DJ, Van Essen DC. 1991. Distributed hierarchical processing in the primate cerebral cortex. *Cerebral cortex* 1: 1-47
- Ferezou I, Matyas F, Petersen CCH. 2009. Chapter 6 Imaging the Brain in Action: Real-Time Voltage- Sensitive Dye Imaging of Sensorimotor Cortex of Awake Behaving Mice In

- In Vivo Optical Imaging of Brain Function. 2nd edition.*, ed. F RD: Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis
- Ferrari M, Mottola L, Quaresima V. 2004. Principles, techniques, and limitations of near infrared spectroscopy. *Canadian journal of applied physiology = Revue canadienne de physiologie appliquee* 29: 463-87
- Fishman MC. 1972. Sir Henry Hallett Dale and acetylcholine story. *The Yale journal of biology and medicine* 45: 104-18
- Flynn DD, Ferrari-DiLeo G, Mash DC, Levey AI. 1995. Differential regulation of molecular subtypes of muscarinic receptors in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 64: 1888-91
- Foerster AP, Holmes MJ. 1999. Spontaneous regeneration of severed optic axons restores mapped visual responses to the adult rat superior colliculus. *The European journal of neuroscience* 11: 3151-66
- Fregnac Y, Schulz D. 1988. [Synapses of Hebb and epigenesis of the visual cortex]. *Archives internationales de physiologie et de biochimie* 96: A175-7
- Froemke RC, Merzenich MM, Schreiner CE. 2007. A synaptic memory trace for cortical receptive field plasticity. *Nature* 450: 425-9
- Frostig RD, Lieke EE, Ts'o DY, Grinvald A. 1990. Cortical functional architecture and local coupling between neuronal activity and the microcirculation revealed by in vivo high-resolution optical imaging of intrinsic signals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87: 6082-6
- Garrett ME, Nauhaus I, Marshel JH, Callaway EM. 2014. Topography and areal organization of mouse visual cortex. *J Neurosci* 34: 12587-600
- Gaykema RP, Luiten PG, Nyakas C, Traber J. 1990. Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. *J Comp Neurol* 293: 103-24
- Geldenhuis WJ, Allen DD. 2012. The blood-brain barrier choline transporter. *Central nervous system agents in medicinal chemistry* 12: 95-9
- Gericke A, Sniatecki JJ, Goloborodko E, Steege A, Zavaritskaya O, et al. 2011. Identification of the muscarinic acetylcholine receptor subtype mediating cholinergic vasodilation in murine retinal arterioles. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52: 7479-84
- Gianfranceschi L, Siciliano R, Walls J, Morales B, Kirkwood A, et al. 2003. Visual cortex is rescued from the effects of dark rearing by overexpression of BDNF. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 12486-91
- Gil Z, Connors BW, Amitai Y. 1997. Differential regulation of neocortical synapses by neuromodulators and activity. *Neuron* 19: 679-86
- Gilbert CD, Li W. 2013. Top-down influences on visual processing. *Nature reviews. Neuroscience* 14: 350-63
- Gilbert CD, Wiesel TN. 1992. Receptive field dynamics in adult primary visual cortex. *Nature* 356: 150-2
- Girman SV, Sauve Y, Lund RD. 1999. Receptive field properties of single neurons in rat primary visual cortex. *J Neurophysiol* 82: 301-11
- Goard M, Dan Y. 2009. Basal forebrain activation enhances cortical coding of natural scenes. *Nature neuroscience* 12: 1444-9
- Gomez J, Shannon H, Kostenis E, Felder C, Zhang L, et al. 1999. Pronounced pharmacologic deficits in M2 muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 1692-7
- Greuel JM, Luhmann HJ, Singer W. 1988. Pharmacological induction of use-dependent receptive field modifications in the visual cortex. *Science* 242: 74-7

- Grienberger C, Konnerth A. 2012. Imaging calcium in neurons. *Neuron* 73: 862-85
- Grinvald A, Lieke E, Frostig RD, Gilbert CD, Wiesel TN. 1986a. Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals. *Nature* 324: 361-4
- Grinvald A, Segal M, Kuhnt U, Hildesheim R, Manker A, et al. 1986b. Real-time optical mapping of neuronal activity in vertebrate CNS in vitro and in vivo. *Society of General Physiologists series* 40: 165-97
- Gritti I, Mainville L, Mancina M, Jones BE. 1997. GABAergic and other noncholinergic basal forebrain neurons, together with cholinergic neurons, project to the mesocortex and isocortex in the rat. *J Comp Neurol* 383: 163-77
- Gritton HJ, Howe WM, Mallory CS, Hetrick VL, Berke JD, Sarter M. 2016. Cortical cholinergic signaling controls the detection of cues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113: E1089-97
- Groleau M, Kang JI, Huppe-Gourgues F, Vaucher E. 2015. Distribution and effects of the muscarinic receptor subtypes in the primary visual cortex. *Front Synaptic Neurosci* 7: 10
- Groleau M, Nguyen HN, Vanni MP, Huppe-Gourgues F, Casanova C, Vaucher E. 2014. Impaired functional organization in the visual cortex of muscarinic receptor knock-out mice. *Neuroimage* 98: 233-42
- Grutzendler J, Kasthuri N, Gan WB. 2002. Long-term dendritic spine stability in the adult cortex. *Nature* 420: 812-6
- Gu Q. 2002. Neuromodulatory transmitter systems in the cortex and their role in cortical plasticity. *Neuroscience* 111: 815-35
- Gu Q. 2003. Contribution of acetylcholine to visual cortex plasticity. *Neurobiology of learning and memory* 80: 291-301
- Gu Q, Singer W. 1993. Effects of intracortical infusion of anticholinergic drugs on neuronal plasticity in kitten striate cortex. *Eur J Neurosci* 5: 475-85
- Gulledge AT, Park SB, Kawaguchi Y, Stuart GJ. 2007. Heterogeneity of phasic cholinergic signaling in neocortical neurons. *Journal of neurophysiology* 97: 2215-29
- Gundersen HJ, Jensen EB, Kieu K, Nielsen J. 1999. The efficiency of systematic sampling in stereology--reconsidered. *J Microsc* 193: 199-211
- Hagihara KM, Ohki K. 2013. Long-term down-regulation of GABA decreases orientation selectivity without affecting direction selectivity in mouse primary visual cortex. *Frontiers in neural circuits* 7: 28
- Haider B, Schulz DP, Hausser M, Carandini M. 2016. Millisecond Coupling of Local Field Potentials to Synaptic Currents in the Awake Visual Cortex. *Neuron* 90: 35-42
- Hamel E. 2004. Cholinergic modulation of the cortical microvascular bed. *Prog Brain Res* 145: 171-8
- Hamilton SE, Loose MD, Qi M, Levey AI, Hille B, et al. 1997. Disruption of the m1 receptor gene ablates muscarinic receptor-dependent M current regulation and seizure activity in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 13311-6
- Hammer R, Berrie CP, Birdsall NJ, Burgen AS, Hulme EC. 1980. Pirenzepine distinguishes between different subclasses of muscarinic receptors. *Nature* 283: 90-2
- Hanganu IL, Luhmann HJ. 2004. Functional nicotinic acetylcholine receptors on subplate neurons in neonatal rat somatosensory cortex. *Journal of neurophysiology* 92: 189-98
- Hanke J, Sabel BA. 2002. Anatomical correlations of intrinsic axon repair after partial optic nerve crush in rats. *Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft* 184: 113-23

- Hanover JL, Huang ZJ, Tonegawa S, Stryker MP. 1999. Brain-derived neurotrophic factor overexpression induces precocious critical period in mouse visual cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 19: RC40
- Harauzov A, Spolidoro M, DiCristo G, De Pasquale R, Cancedda L, et al. 2010. Reducing intracortical inhibition in the adult visual cortex promotes ocular dominance plasticity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 30: 361-71
- Hasselmo ME, Bower JM. 1992. Cholinergic suppression specific to intrinsic not afferent fiber synapses in rat piriform (olfactory) cortex. *J Neurophysiol* 67: 1222-9
- Hasselmo ME, McGaughy J. 2004. High acetylcholine levels set circuit dynamics for attention and encoding and low acetylcholine levels set dynamics for consolidation. *Prog Brain Res* 145: 207-31
- Hattar S, Kumar M, Park A, Tong P, Tung J, et al. 2006. Central projections of melanopsin-expressing retinal ganglion cells in the mouse. *J Comp Neurol* 497: 326-49
- Hensch TK. 2005a. Critical period mechanisms in developing visual cortex. *Current topics in developmental biology* 69: 215-37
- Hensch TK. 2005b. Critical period plasticity in local cortical circuits. *Nat Rev Neurosci* 6: 877-88
- Hensch TK, Fagiolini M. 2005. Excitatory-inhibitory balance and critical period plasticity in developing visual cortex. *Progress in brain research* 147: 115-24
- Hensch TK, Fagiolini M, Mataga N, Stryker MP, Baekkeskov S, Kash SF. 1998. Local GABA circuit control of experience-dependent plasticity in developing visual cortex. *Science* 282: 1504-8
- Herrero JL, Gieselmann MA, Thiele A. 2017. Muscarinic and Nicotinic Contribution to Contrast Sensitivity of Macaque Area V1 Neurons. *Frontiers in neural circuits* 11: 106
- Herrero JL, Roberts MJ, Delicato LS, Gieselmann MA, Dayan P, Thiele A. 2008. Acetylcholine contributes through muscarinic receptors to attentional modulation in V1. *Nature* 454: 1110-4
- Heynen AJ, Bear MF. 2001. Long-term potentiation of thalamocortical transmission in the adult visual cortex in vivo. *J Neurosci* 21: 9801-13
- Hille B. 2010. *Ionic Channels of Excitable Membranes* Sinauer, Sunderland, MA.
- Hillman EM. 2007. Optical brain imaging in vivo: techniques and applications from animal to man. *Journal of biomedical optics* 12: 051402
- Hillman EM, Devor A, Bouchard MB, Dunn AK, Krauss GW, et al. 2007. Depth-resolved optical imaging and microscopy of vascular compartment dynamics during somatosensory stimulation. *Neuroimage* 35: 89-104
- Hirase H, Iwai Y, Takata N, Shinohara Y, Mishima T. 2014. Volume transmission signalling via astrocytes. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 369: 20130604
- Hofbauer A, Drager UC. 1985. Depth segregation of retinal ganglion cells projecting to mouse superior colliculus. *J Comp Neurol* 234: 465-74
- Hohmann CF. 2003. A morphogenetic role for acetylcholine in mouse cerebral neocortex. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 27: 351-63
- Horton JC, Hocking DR. 1996. An adult-like pattern of ocular dominance columns in striate cortex of newborn monkeys prior to visual experience. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 16: 1791-807

- Hoyle E, Genn RF, Fernandes C, Stolerman IP. 2006. Impaired performance of alpha7 nicotinic receptor knockout mice in the five-choice serial reaction time task. *Psychopharmacology* 189: 211-23
- Hubel DH, Wiesel TN. 1962. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *J Physiol* 160: 106-54
- Hubel DH, Wiesel TN, LeVay S. 1976. Functional architecture of area 17 in normal and monocularly deprived macaque monkeys. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 40: 581-9
- Ibanez-Tallon I, Miwa JM, Wang HL, Adams NC, Crabtree GW, et al. 2002. Novel modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by association with the endogenous prototoxin lynx1. *Neuron* 33: 893-903
- Iwai Y, Fagiolini M, Obata K, Hensch TK. 2003. Rapid critical period induction by tonic inhibition in visual cortex. *J Neurosci* 23: 6695-702
- Jacobs GH, Neitz J, Deegan JF, 2nd. 1991. Retinal receptors in rodents maximally sensitive to ultraviolet light. *Nature* 353: 655-6
- Jiao Y, Zhang C, Yanagawa Y, Sun QQ. 2006. Major effects of sensory experiences on the neocortical inhibitory circuits. *J Neurosci* 26: 8691-701
- Jones CK, Byun N, Bubser M. 2012. Muscarinic and nicotinic acetylcholine receptor agonists and allosteric modulators for the treatment of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 37: 16-42
- Juergens E, Guettler A, Eckhorn R. 1999. Visual stimulation elicits locked and induced gamma oscillations in monkey intracortical- and EEG-potentials, but not in human EEG. *Experimental brain research* 129: 247-59
- Kaas JH, Balaram P. 2014. Current research on the organization and function of the visual system in primates. *Eye and brain* 6: 1-4
- Kajikawa Y, Schroeder CE. 2011. How local is the local field potential? *Neuron* 72: 847-58
- Kalatsky VA. 2009. Fourier Approach for Functional Imaging. In: Frostig RD, editor. *In Vivo Optical Imaging of Brain Function*. 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press. Chapter 10.
- Kalatsky VA, Stryker MP. 2003. New paradigm for optical imaging: temporally encoded maps of intrinsic signal. *Neuron* 38: 529-45
- Kandel ER, Squire LR. 2000. Neuroscience: breaking down scientific barriers to the study of brain and mind. *Science* 290: 1113-20
- Kang JI, Groleau M, Dotigny F, Giguere H, Vaucher E. 2013. Visual training paired with electrical stimulation of the basal forebrain improves orientation-selective visual acuity in the rat. *Brain Struct Funct*
- Kang JI, Groleau M, Dotigny F, Giguere H, Vaucher E. 2014a. Visual training paired with electrical stimulation of the basal forebrain improves orientation-selective visual acuity in the rat. *Brain Struct Funct* 219: 1493-507
- Kang JI, Huppe-Gourgues F, Vaucher E. 2014b. Boosting visual cortex function and plasticity with acetylcholine to enhance visual perception. *Frontiers in systems neuroscience* 8: 172
- Kang JI, Huppe-Gourgues F, Vaucher E. 2015. Pharmacological Mechanisms of Cortical Enhancement Induced by the Repetitive Pairing of Visual/Cholinergic Stimulation. *PLoS One* 10: e0141663

- Kang JI, Vaucher E. 2009. Cholinergic pairing with visual activation results in long-term enhancement of visual evoked potentials. *PLoS ONE* 4: e5995
- Kaschube M. 2014. Neural maps versus salt-and-pepper organization in visual cortex. *Current opinion in neurobiology* 24: 95-102
- Katz LC, Shatz CJ. 1996. Synaptic activity and the construction of cortical circuits. *Science* 274: 1133-8
- Katzner S, Nauhaus I, Benucci A, Bonin V, Ringach DL, Carandini M. 2009. Local origin of field potentials in visual cortex. *Neuron* 61: 35-41
- Keck T, Scheuss V, Jacobsen RI, Wierenga CJ, Eysel UT, et al. 2011. Loss of sensory input causes rapid structural changes of inhibitory neurons in adult mouse visual cortex. *Neuron* 71: 869-82
- Kilgard MP, Merzenich MM. 1998. Plasticity of temporal information processing in the primary auditory cortex. *Nat Neurosci* 1: 727-31
- Kimura F, Baughman RW. 1997. Distinct muscarinic receptor subtypes suppress excitatory and inhibitory synaptic responses in cortical neurons. *Journal of neurophysiology* 77: 709-16
- Kimura F, Fukuda M, Tsumoto T. 1999. Acetylcholine suppresses the spread of excitation in the visual cortex revealed by optical recording: possible differential effect depending on the source of input. *The European journal of neuroscience* 11: 3597-609
- Kirkwood A, Rozas C, Kirkwood J, Perez F, Bear MF. 1999. Modulation of long-term synaptic depression in visual cortex by acetylcholine and norepinephrine. *J.Neurosci.* 19: 1599-609
- Kolb H, Nelson R, Ahnelt P, Cuenca N. 2001. Cellular organization of the vertebrate retina. *Progress in brain research* 131: 3-26
- Kozma R, Sarner S, Ahmed S, Lim L. 1997. Rho family GTPases and neuronal growth cone remodelling: relationship between increased complexity induced by Cdc42Hs, Rac1, and acetylcholine and collapse induced by RhoA and lysophosphatidic acid. *Mol Cell Biol* 17: 1201-11
- Kreutz MR, Bockers TM, Bockmann J, Seidenbecher CI, Kracht B, et al. 1998. Axonal injury alters alternative splicing of the retinal NR1 receptor: the preferential expression of the NR1b isoforms is crucial for retinal ganglion cell survival. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 18: 8278-91
- Krnjevic K. 2004. Synaptic mechanisms modulated by acetylcholine in cerebral cortex. *Prog Brain Res* 145: 81-93
- Kuczewski N, Aztiria E, Domenici L. 2006. Developmental modulation of synaptic transmission by acetylcholine in the primary visual cortex. *Brain research* 1095: 43-50
- Kuczewski N, Aztiria E, Gautam D, Wess J, Domenici L. 2005a. Acetylcholine modulates cortical synaptic transmission via different muscarinic receptors, as studied with receptor knockout mice. *J Physiol* 566: 907-19
- Kuczewski N, Aztiria E, Leanza G, Domenici L. 2005b. Selective cholinergic immunolesioning affects synaptic plasticity in developing visual cortex. *Eur J Neurosci* 21: 1807-14
- Laplante F, Morin Y, Quirion R, Vaucher E. 2005. Acetylcholine release is elicited in the visual cortex, but not in the prefrontal cortex, by patterned visual stimulation: a dual in vivo microdialysis study with functional correlates in the rat brain. *Neuroscience* 132: 501-10

- Lauder JM, Schambra UB. 1999. Morphogenetic roles of acetylcholine. *Environ Health Perspect* 107 Suppl 1: 65-9
- Lavine N, Reuben M, Clarke PB. 1997. A population of nicotinic receptors is associated with thalamocortical afferents in the adult rat: laminar and areal analysis. *J Comp Neurol* 380: 175-90
- Lawrence JJ. 2008. Cholinergic control of GABA release: emerging parallels between neocortex and hippocampus. *Trends Neurosci* 31: 317-27
- Lazareno S, Birdsall NJ. 1995. Detection, quantitation, and verification of allosteric interactions of agents with labeled and unlabeled ligands at G protein-coupled receptors: interactions of strychnine and acetylcholine at muscarinic receptors. *Molecular pharmacology* 48: 362-78
- Lecrux C, Toussay X, Kocharyan A, Fernandes P, Neupane S, et al. 2011. Pyramidal neurons are "neurogenic hubs" in the neurovascular coupling response to whisker stimulation. *J Neurosci* 31: 9836-47
- Leinonen H, Tanila H. 2017. Vision in laboratory rodents-Tools to measure it and implications for behavioral research. *Behavioural brain research*
- Leung CK, Weinreb RN, Li ZW, Liu S, Lindsey JD, et al. 2011. Long-term in vivo imaging and measurement of dendritic shrinkage of retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52: 1539-47
- LeVay S, Wiesel TN, Hubel DH. 1980. The development of ocular dominance columns in normal and visually deprived monkeys. *The Journal of comparative neurology* 191: 1-51
- Levey AI, Kitt CA, Simonds WF, Price DL, Brann MR. 1991a. Identification and localization of muscarinic acetylcholine receptor proteins in brain with subtype-specific antibodies. *J Neurosci* 11: 3218-26
- Levey AI, Kitt CA, Simonds WF, Price DL, Brann MR. 1991b. Identification and localization of muscarinic acetylcholine receptor proteins in brain with subtype-specific antibodies. *J Neurosci* 11: 3218-26
- Levin ED, Conners CK, Silva D, Hinton SC, Meck WH, et al. 1998. Transdermal nicotine effects on attention. *Psychopharmacology* 140: 135-41
- Li P, Fan TT, Zhao RJ, Han Y, Shi L, et al. 2017. Altered Brain Network Connectivity as a Potential Endophenotype of Schizophrenia. *Scientific reports* 7: 5483
- Liu TT, Behrmann M. 2017. Functional outcomes following lesions in visual cortex: Implications for plasticity of high-level vision. *Neuropsychologia* 105: 197-214
- Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 25: 402-8
- Lodish H, Berk A, Zipursky S. 2000. In *Molecular Cell Biology*. New York: W. H. Freeman
- Lozada AF, Wang X, Goukko NV, Massey KA, Duan J, et al. 2012. Glutamatergic synapse formation is promoted by alpha7-containing nicotinic acetylcholine receptors. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 32: 7651-61
- Lu HD, Chen G, Cai J, Roe AW. 2017. Intrinsic signal optical imaging of visual brain activity: Tracking of fast cortical dynamics. *NeuroImage* 148: 160-68
- Lucas-Meunier E, Fossier P, Baux G, Amar M. 2003a. Cholinergic modulation of the cortical neuronal network. *Pflugers Arch* 446: 17-29

- Lucas-Meunier E, Fossier P, Baux G, Amar M. 2003b. Cholinergic modulation of the cortical neuronal network. *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 446: 17-29
- Lucas-Meunier E, Monier C, Amar M, Baux G, Fregnac Y, Fossier P. 2009. Involvement of nicotinic and muscarinic receptors in the endogenous cholinergic modulation of the balance between excitation and inhibition in the young rat visual cortex. *Cerebral cortex* 19: 2411-27
- Luiten PG, Gaykema RP, Traber J, Spencer DG, Jr. 1987. Cortical projection patterns of magnocellular basal nucleus subdivisions as revealed by anterogradely transported *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *Brain research* 413: 229-50
- Lysakowski A, Wainer BH, Bruce G, Hersh LB. 1989. An atlas of the regional and laminar distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity in rat cerebral cortex. *Neuroscience* 28: 291-336
- Marik SA, Yamahachi H, Meyer zum Alten Borgloh S, Gilbert CD. 2014. Large-scale axonal reorganization of inhibitory neurons following retinal lesions. *J Neurosci* 34: 1625-32
- Markram H, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, Gupta A, Silberberg G, Wu C. 2004. Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nature reviews. Neuroscience* 5: 793-807
- Mash DC, Potter LT. 1986. Autoradiographic localization of M1 and M2 muscarine receptors in the rat brain. *Neuroscience* 19: 551-64
- Maura G, Fedele E, Raiteri M. 1989. Acetylcholine release from rat hippocampal slices is modulated by 5-hydroxytryptamine. *Eur J Pharmacol* 165: 173-9
- McCormick DA. 1992. Cellular mechanisms underlying cholinergic and noradrenergic modulation of neuronal firing mode in the cat and guinea pig dorsal lateral geniculate nucleus. *J Neurosci* 12: 278-89
- McCormick DA, Prince DA. 1985. Two types of muscarinic response to acetylcholine in mammalian cortical neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82: 6344-8
- McGehee DS, Role LW. 1995. Physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by vertebrate neurons. *Annu Rev Physiol* 57: 521-46
- Mechawar N, Cozzari C, Descarries L. 2000. Cholinergic innervation in adult rat cerebral cortex: a quantitative immunocytochemical description. *The Journal of comparative neurology* 428: 305-18
- Menees SM. 1998. The effect of spatial frequency adaptation on the latency of spatial contrast detection. *Vision research* 38: 3933-42
- Merzenich MM, Kaas JH, Wall J, Nelson RJ, Sur M, Felleman D. 1983. Topographic reorganization of somatosensory cortical areas 3b and 1 in adult monkeys following restricted deafferentation. *Neuroscience* 8: 33-55
- Mesulam MM, Mufson EJ, Levey AI, Wainer BH. 1983a. 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: 170-97
- Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI. 1983b. Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience* 10: 1185-201
- Metherate R. 2004. Nicotinic Acetylcholine Receptors in Sensory Cortex. *Learning & Memory* 11: 50-59
- Metin C, Godement P, Imbert M. 1988. The primary visual cortex in the mouse: receptive field properties and functional organization. *Exp Brain Res* 69: 594-612

- Mirza NR, Stolerman IP. 1998. Nicotine enhances sustained attention in the rat under specific task conditions. *Psychopharmacology* 138: 266-74
- Miyake K, Yoshida M, Inoue Y, Hata Y. 2007. Neuroprotective effect of transcorneal electrical stimulation on the acute phase of optic nerve injury. *Investigative ophthalmology & visual science* 48: 2356-61
- Mohajerani MH, Chan AW, Mohsenvand M, LeDue J, Liu R, et al. 2013. Spontaneous cortical activity alternates between motifs defined by regional axonal projections. *Nat Neurosci* 16: 1426-35
- Mohs RC, Doody RS, Morris JC, Ieni JR, Rogers SL, et al. 2001. A 1-year, placebo-controlled preservation of function survival study of donepezil in AD patients. *Neurology* 57: 481-8
- Moore DL, Goldberg JL. 2010. Four steps to optic nerve regeneration. *Journal of neuro-ophthalmology : the official journal of the North American Neuro-Ophthalmology Society* 30: 347-60
- Morales B, Choi SY, Kirkwood A. 2002. Dark rearing alters the development of GABAergic transmission in visual cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 22: 8084-90
- Morishita H, Miwa JM, Heintz N, Hensch TK. 2010. Lynx1, a cholinergic brake, limits plasticity in adult visual cortex. *Science* 330: 1238-40
- Mouton PR, Gokhale AM, Ward NL, West MJ. 2002. Stereological length estimation using spherical probes. *Journal of microscopy* 206: 54-64
- Movshon JA, Lennie P. 1979. Pattern-selective adaptation in visual cortical neurones. *Nature* 278: 850-2
- Mrzljak L, Levey AI, Goldman-Rakic PS. 1993. Association of m1 and m2 muscarinic receptor proteins with asymmetric synapses in the primate cerebral cortex: morphological evidence for cholinergic modulation of excitatory neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 5194-8
- Mrzljak L, Levey AI, Rakic P. 1996. Selective expression of m2 muscarinic receptor in the parvocellular channel of the primate visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93: 7337-40
- Murphy PC, Sillito AM. 1987. Corticofugal feedback influences the generation of length tuning in the visual pathway. *Nature* 329: 727-9
- Murphy PC, Sillito AM. 1991. Cholinergic enhancement of direction selectivity in the visual cortex of the cat. *Neuroscience* 40: 13-20
- Nathanson NM. 2000. A multiplicity of muscarinic mechanisms: enough signaling pathways to take your breath away. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 6245-7
- Niell CM, Stryker MP. 2008. Highly selective receptive fields in mouse visual cortex. *J Neurosci* 28: 7520-36
- Niell CM, Stryker MP. 2010. Modulation of visual responses by behavioral state in mouse visual cortex. *Neuron* 65: 472-9
- Nordman JC, Kabbani N. 2012. An interaction between alpha7 nicotinic receptors and a G-protein pathway complex regulates neurite growth in neural cells. *J Cell Sci* 125: 5502-13
- Nunez A, Dominguez S, Buno W, Fernandez de Sevilla D. 2012. Cholinergic-mediated response enhancement in barrel cortex layer V pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 108: 1656-68

- Nunez PL, Srinivasan R. 2006. A theoretical basis for standing and traveling brain waves measured with human EEG with implications for an integrated consciousness. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* 117: 2424-35
- Obermayer J, Verhoog MB, Luchicchi A, Mansvelder HD. 2017. Cholinergic Modulation of Cortical Microcircuits Is Layer-Specific: Evidence from Rodent, Monkey and Human Brain. *Frontiers in neural circuits* 11: 100
- Obermayer K, Blasdel GG. 1993. Geometry of orientation and ocular dominance columns in monkey striate cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 13: 4114-29
- Ogura H, Kosasa T, Kuriya Y, Yamanishi Y. 2000. Donepezil, a centrally acting acetylcholinesterase inhibitor, alleviates learning deficits in hypocholinergic models in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 22: 89-95
- Ohki K, Chung S, Ch'ng YH, Kara P, Reid RC. 2005. Functional imaging with cellular resolution reveals precise micro-architecture in visual cortex. *Nature* 433: 597-603
- Ohki K, Reid RC. 2007. Specificity and randomness in the visual cortex. *Curr Opin Neurobiol* 17: 401-7
- Oldford E, Castroalamos M. 2003. Input-specific effects of acetylcholine on sensory and intracortical evoked responses in the "barrel cortex" in vivo. *Neuroscience* 117: 769-78
- Orbach HS, Cohen LB, Grinvald A. 1985. Optical mapping of electrical activity in rat somatosensory and visual cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 5: 1886-95
- Origlia N, Kuczewski N, Aztiria E, Gautam D, Wess J, Domenici L. 2006a. Muscarinic acetylcholine receptor knockout mice show distinct synaptic plasticity impairments in the visual cortex. *The Journal of Physiology* 577: 829-40
- Origlia N, Kuczewski N, Aztiria E, Gautam D, Wess J, Domenici L. 2006b. Muscarinic acetylcholine receptor knockout mice show distinct synaptic plasticity impairments in the visual cortex. *The Journal of physiology* 577: 829-40
- Origlia N, Valenzano DR, Moretti M, Gotti C, Domenici L. 2012. Visual acuity is reduced in alpha 7 nicotinic receptor knockout mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53: 1211-8
- Palagina G, Eysel UT, Jancke D. 2009. Strengthening of lateral activation in adult rat visual cortex after retinal lesions captured with voltage-sensitive dye imaging in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 8743-7
- Palmer SM, Rosa MG. 2006. A distinct anatomical network of cortical areas for analysis of motion in far peripheral vision. *Eur J Neurosci* 24: 2389-405
- Pascual-Leone A, Amedi A, Fregni F, Merabet LB. 2005. The plastic human brain cortex. *Annual review of neuroscience* 28: 377-401
- Paxinos, Franklin. 2012. *Paxinos and Franklin's the Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates, 4th Edition*. Academic Press. 360 pp.
- Petreaanu L, Huber D, Sobczyk A, Svoboda K. 2007. Channelrhodopsin-2-assisted circuit mapping of long-range callosal projections. *Nature neuroscience* 10: 663-8
- Polimeni JR, Granquist-Fraser D, Wood RJ, Schwartz EL. 2005. Physical limits to spatial resolution of optical recording: clarifying the spatial structure of cortical hypercolumns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 4158-63

- Pouliot M, Talbot S, Senecal J, Dotigny F, Vaucher E, Couture R. 2012. Ocular application of the kinin B1 receptor antagonist LF22-0542 inhibits retinal inflammation and oxidative stress in streptozotocin-diabetic rats. *PLoS One* 7: e33864
- Prilloff S, Henrich-Noack P, Kropf S, Sabel BA. 2010. Experience-dependent plasticity and vision restoration in rats after optic nerve crush. *Journal of neurotrauma* 27: 2295-307
- Prusky GT, Shaw C, Cynader MS. 1987. Nicotine receptors are located on lateral geniculate nucleus terminals in cat visual cortex. *Brain Res* 412: 131-8
- Prusky GT, West PW, Douglas RM. 2000. Experience-dependent plasticity of visual acuity in rats. *Eur J Neurosci* 12: 3781-6
- Prvulovic D, Schneider B. 2014. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of donepezil for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology* 10: 1039-50
- Puyang Z, Feng L, Chen H, Liang P, Troy JB, Liu X. 2016. Retinal Ganglion Cell Loss is Delayed Following Optic Nerve Crush in NLRP3 Knockout Mice. *Scientific reports* 6: 20998
- Radcliffe KA, Dani JA. 1998. Nicotinic stimulation produces multiple forms of increased glutamatergic synaptic transmission. *J Neurosci* 18: 7075-83
- Rahman J, Berger T. 2011. Persistent activity in layer 5 pyramidal neurons following cholinergic activation of mouse primary cortices. *The European journal of neuroscience* 34: 22-30
- Rakic P. 1976. Prenatal genesis of connections subserving ocular dominance in the rhesus monkey. *Nature* 261: 467-71
- Rand JB. 2007. Acetylcholine. *WormBook*: 1-21
- Reese BE. 1988. 'Hidden lamination' in the dorsal lateral geniculate nucleus: the functional organization of this thalamic region in the rat. *Brain Res* 472: 119-37
- Reynolds JH, Chelazzi L. 2004. Attentional modulation of visual processing. *Annual review of neuroscience* 27: 611-47
- Ricciardi E, Handjaras G, Bernardi G, Pietrini P, Furey ML. 2013. Cholinergic enhancement reduces functional connectivity and BOLD variability in visual extrastriate cortex during selective attention. *Neuropharmacology* 64: 305-13
- Roberson ED, English JD, Adams JP, Selcher JC, Kondratieck C, Sweatt JD. 1999. The mitogen-activated protein kinase cascade couples PKA and PKC to cAMP response element binding protein phosphorylation in area CA1 of hippocampus. *J Neurosci* 19: 4337-48
- Roberts MJ, Zinke W, Guo K, Robertson R, McDonald JS, Thiele A. 2005. Acetylcholine dynamically controls spatial integration in marmoset primary visual cortex. *J Neurophysiol* 93: 2062-72
- Rockland KS, Lund JS. 1982. Widespread periodic intrinsic connections in the tree shrew visual cortex. *Science* 215: 1532-4
- Rogers SL, Friedhoff LT. 1998a. Long-term efficacy and safety of donepezil in the treatment of Alzheimer's disease: an interim analysis of the results of a US multicentre open label extension study. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology* 8: 67-75
- Rogers SL, Friedhoff LT. 1998b. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of donepezil HCl following single oral doses. *British journal of clinical pharmacology* 46 Suppl 1: 1-6

- Rosa MGP, Tweedale R. 2004. Maps of the visual field in the cerebral cortex of primates: Functional organization and significance. In *The Primate Visual System*, ed. JHC Kaas, C.E., pp. 261–88: CRC Press
- Rosner H, Fischer H. 1996. In growth cones of rat cerebral neurons and human neuroblastoma cells, activation of protein kinase C causes a shift from filopodial to lamellipodial actin dynamics. *Neurosci Lett* 219: 175-8
- Rothman KJ. 1990. No adjustments are needed for multiple comparisons. *Epidemiology* 1: 43-6
- Rouse ST, Marino MJ, Potter LT, Conn PJ, Levey AI. 1999. Muscarinic receptor subtypes involved in hippocampal circuits. *Life sciences* 64: 501-9
- Rousseau V, Sabel BA. 2001. Restoration of vision IV: role of compensatory soma swelling of surviving retinal ganglion cells in recovery of vision after optic nerve crush. *Restor Neurol Neurosci* 18: 177-89
- Russ MO, Cleff U, Lanfermann H, Schalnus R, Enzensberger W, Kleinschmidt A. 2002. Functional magnetic resonance imaging in acute unilateral optic neuritis. *Journal of neuroimaging : official journal of the American Society of Neuroimaging* 12: 339-50
- Sabel BA. 1999. Restoration of vision I: Neurobiological mechanisms of restoration and plasticity after brain damage - a review. *Restor Neurol Neurosci* 15: 177-200
- Sabel BA, Fedorov AB, Naue N, Borrmann A, Herrmann C, Gall C. 2011a. Non-invasive alternating current stimulation improves vision in optic neuropathy. *Restorative neurology and neuroscience* 29: 493-505
- Sabel BA, Henrich-Noack P, Fedorov A, Gall C. 2011b. Vision restoration after brain and retina damage: the "residual vision activation theory". *Progress in brain research* 192: 199-262
- Sadahiro M, Sajo M, Morishita H. 2016. Nicotinic regulation of experience-dependent plasticity in visual cortex. *J Physiol Paris* 110: 29-36
- Salgado H, Bellay T, Nichols JA, Bose M, Martinolich L, et al. 2007a. Muscarinic M2 and M1 receptors reduce GABA release by Ca²⁺ channel modulation through activation of PI3K/Ca²⁺ -independent and PLC/Ca²⁺ -dependent PKC. *J Neurophysiol* 98: 952-65
- Salgado H, Bellay T, Nichols JA, Bose M, Martinolich L, et al. 2007b. Muscarinic M2 and M1 receptors reduce GABA release by Ca²⁺ channel modulation through activation of PI3K/Ca²⁺ -independent and PLC/Ca²⁺ -dependent PKC. *Journal of neurophysiology* 98: 952-65
- Sarter M, Bruno JP. 1997. Cognitive functions of cortical acetylcholine: toward a unifying hypothesis. *Brain research. Brain research reviews* 23: 28-46
- Sarter M, Givens B, Bruno JP. 2001. The cognitive neuroscience of sustained attention: where top-down meets bottom-up. *Brain Res Brain Res Rev* 35: 146-60
- Sato H, Hata Y, Masui H, Tsumoto T. 1987. A functional role of cholinergic innervation to neurons in the cat visual cortex. *Journal of neurophysiology* 58: 765-80
- Sautter J, Sabel BA. 1993. Recovery of brightness discrimination in adult rats despite progressive loss of retrogradely labelled retinal ganglion cells after controlled optic nerve crush. *Eur J Neurosci* 5: 680-90
- Sautter J, Schwartz M, Duvdevani R, Sabel BA. 1991. GM1 ganglioside treatment reduces visual deficits after graded crush of the rat optic nerve. *Brain Res* 565: 23-33
- Schuett S, Bonhoeffer T, Hubener M. 2002. Mapping retinotopic structure in mouse visual cortex with optical imaging. *J Neurosci* 22: 6549-59

- Series P, Lorenceau J, Fregnac Y. 2003. The "silent" surround of V1 receptive fields: theory and experiments. *J Physiol Paris* 97: 453-74
- Sherman SM, Spear PD. 1982. Organization of visual pathways in normal and visually deprived cats. *Physiological reviews* 62: 738-855
- Sheth SA, Yanamadala V, Eskandar EN. 2011. Intraoperative Human Functional Brain Mapping Using Optical Intrinsic Signal Imaging In *Advances in Brain Imaging* Vikas Chaudhary
- Shimegi S, Kimura A, Sato A, Aoyama C, Mizuyama R, et al. 2016. Cholinergic and serotonergic modulation of visual information processing in monkey V1. *J Physiol Paris* 110: 44-51
- Shute CC, Lewis PR. 1967. The ascending cholinergic reticular system: neocortical, olfactory and subcortical projections. *Brain* 90: 497-520
- Siciliano R, Fontanesi G, Casamenti F, Berardi N, Bagnoli P, Domenici L. 1997. Postnatal development of functional properties of visual cortical cells in rats with excitotoxic lesions of basal forebrain cholinergic neurons. *Visual neuroscience* 14: 111-23
- Silasi G, Murphy TH. 2014a. Removing the brakes on post-stroke plasticity drives recovery from the intact hemisphere and spinal cord. *Brain* 137: 648-50
- Silasi G, Murphy TH. 2014b. Stroke and the connectome: how connectivity guides therapeutic intervention. *Neuron* 83: 1354-68
- Sillito AM. 1975. The contribution of inhibitory mechanisms to the receptive field properties of neurones in the striate cortex of the cat. *J Physiol* 250: 305-29
- Sillito AM. 1977. The spatial extent of excitatory and inhibitory zones in the receptive field of superficial layer hypercomplex cells. *J Physiol* 273: 791-803
- Sillito AM, Kemp JA. 1983. Cholinergic modulation of the functional organization of the cat visual cortex. *Brain research* 289: 143-55
- Silver MA, Shenhav A, D'Esposito M. 2008a. Cholinergic enhancement reduces spatial spread of visual responses in human early visual cortex. *Neuron* 60: 904-14
- Silver MA, Shenhav A, D'Esposito M. 2008b. Cholinergic Enhancement Reduces Spatial Spread of Visual Responses in Human Early Visual Cortex. *Neuron* 60: 904-14
- Smetters D, Majewska A, Yuste R. 1999. Detecting action potentials in neuronal populations with calcium imaging. *Methods* 18: 215-21
- Smith CJ, Osborn AM. 2009. Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. *FEMS microbiology ecology* 67: 6-20
- Soma S, Shimegi S, Osaki H, Sato H. 2012. Cholinergic modulation of response gain in the primary visual cortex of the macaque. *J Neurophysiol* 107: 283-91
- Soma S, Shimegi S, Suematsu N, Sato H. 2013a. Cholinergic modulation of response gain in the rat primary visual cortex. *Scientific reports* 3: 1138
- Soma S, Suematsu N, Shimegi S. 2013b. Cholinesterase inhibitor, donepezil, improves visual contrast detectability in freely behaving rats. *Behav Brain Res* 256: 362-7
- Steinlein O. 1998. New functions for nicotinic acetylcholine receptors? *Behavioural brain research* 95: 31-5
- Stosiek C, Garaschuk O, Holthoff K, Konnerth A. 2003. In vivo two-photon calcium imaging of neuronal networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 7319-24
- Sugimoto H, Yamanishi Y, Imura Y, Kawakami Y. 2000. Donepezil hydrochloride (E2020) and other acetylcholinesterase inhibitors. *Current medicinal chemistry* 7: 303-39

- Sur M, Leamey CA. 2001. Development and plasticity of cortical areas and networks. *Nature reviews. Neuroscience* 2: 251-62
- Thiele A. 2013. Muscarinic signaling in the brain. *Annual review of neuroscience* 36: 271-94
- Trachtenberg JT, Chen BE, Knott GW, Feng G, Sanes JR, et al. 2002. Long-term in vivo imaging of experience-dependent synaptic plasticity in adult cortex. *Nature* 420: 788-94
- Treue S. 2001. Neural correlates of attention in primate visual cortex. *Trends in neurosciences* 24: 295-300
- Ts'o DY, Frostig RD, Lieke EE, Grinvald A. 1990. Functional organization of primate visual cortex revealed by high resolution optical imaging. *Science* 249: 417-20
- Van Hooser S. 2007. Similarity and diversity in visual cortex: is there a unifying theory of cortical computation? . *Neuroscientist* 13: 639-56
- Vanni MP, Murphy TH. 2014. Mesoscale transcranial spontaneous activity mapping in GCaMP3 transgenic mice reveals extensive reciprocal connections between areas of somatomotor cortex. *J Neurosci* 34: 15931-46
- Vanni MP, Provost J, Lesage F, Casanova C. 2010. Evaluation of receptive field size from higher harmonics in visuotopic mapping using continuous stimulation optical imaging. *J Neurosci Methods* 189: 138-50
- Vanzetta I, Grinvald A. 1999. Increased cortical oxidative metabolism due to sensory stimulation: implications for functional brain imaging. *Science* 286: 1555-8
- Vanzetta I, Grinvald A. 2008. Coupling between neuronal activity and microcirculation: implications for functional brain imaging. *HFSP journal* 2: 79-98
- Vanzetta I, Hildesheim R, Grinvald A. 2005. Compartment-resolved imaging of activity-dependent dynamics of cortical blood volume and oximetry. *J Neurosci* 25: 2233-44
- Vaucher E, Borredon J, Bonvento G, Seylaz J, Lacombe P. 1997. Autoradiographic evidence for flow-metabolism uncoupling during stimulation of the nucleus basalis of Meynert in the conscious rat. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 17: 686-94
- Vidal C, Changeux JP. 1993. Nicotinic and muscarinic modulations of excitatory synaptic transmission in the rat prefrontal cortex in vitro. *Neuroscience* 56: 23-32
- Villegas-Perez MP, Vidal-Sanz M, Rasminsky M, Bray GM, Aguayo AJ. 1993. Rapid and protracted phases of retinal ganglion cell loss follow axotomy in the optic nerve of adult rats. *Journal of neurobiology* 24: 23-36
- Volpicelli LA, Levey AI. 2004. Muscarinic acetylcholine receptor subtypes in cerebral cortex and hippocampus. *Prog Brain Res* 145: 59-66
- von Engelhardt J, Eliava M, Meyer AH, Rozov A, Monyer H. 2007. Functional characterization of intrinsic cholinergic interneurons in the cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 27: 5633-42
- Wagor E, Mangini NJ, Pearlman AL. 1980. Retinotopic organization of striate and extrastriate visual cortex in the mouse. *The Journal of comparative neurology* 193: 187-202
- Wang Q, Burkhalter A. 2007. Area map of mouse visual cortex. *The Journal of comparative neurology* 502: 339-57
- Werring DJ, Bullmore ET, Toosy AT, Miller DH, Barker GJ, et al. 2000. Recovery from optic neuritis is associated with a change in the distribution of cerebral response to visual stimulation: a functional magnetic resonance imaging study. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 68: 441-9

- Wess J. 2003. Novel insights into muscarinic acetylcholine receptor function using gene targeting technology. *Trends Pharmacol Sci* 24: 414-20
- Wess J. 2004. Muscarinic acetylcholine receptor knockout mice: novel phenotypes and clinical implications. *Annual review of pharmacology and toxicology* 44: 423-50
- West MJ, Slomianka L, Gundersen HJ. 1991. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat Rec* 231: 482-97
- Willshaw D. 2006. Analysis of mouse EphA knockins and knockouts suggests that retinal axons programme target cells to form ordered retinotopic maps. *Development* 133: 2705-17
- Wolf P. 2016. Epilepsy and the Sensory Systems. *Epilepsy currents* 16: 369-72
- Wong AA, Brown RE. 2006. Visual detection, pattern discrimination and visual acuity in 14 strains of mice. *Genes Brain Behav* 5: 389-403
- Wonnacott S. 1997. Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends Neurosci* 20: 92-8
- Woolf NJ. 1991. Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. *Prog Neurobiol* 37: 475-524
- Xing D, Yeh CI, Shapley RM. 2009. Spatial spread of the local field potential and its laminar variation in visual cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29: 11540-9
- Yamada M, Lamping KG, Duttaroy A, Zhang W, Cui Y, et al. 2001a. Cholinergic dilation of cerebral blood vessels is abolished in M(5) muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98: 14096-101
- Yamada M, Miyakawa T, Duttaroy A, Yamanaka A, Moriguchi T, et al. 2001b. Mice lacking the M3 muscarinic acetylcholine receptor are hypophagic and lean. *Nature* 410: 207-12
- Yamahachi H, Marik SA, McManus JN, Denk W, Gilbert CD. 2009. Rapid axonal sprouting and pruning accompany functional reorganization in primary visual cortex. *Neuron* 64: 719-29
- Yang C, McKenna JT, Zant JC, Winston S, Basheer R, Brown RE. 2014. Cholinergic neurons excite cortically projecting basal forebrain GABAergic neurons. *J Neurosci* 34: 2832-44
- Yazaki-Sugiyama Y, Kang S, Cateau H, Fukai T, Hensch TK. 2009. Bidirectional plasticity in fast-spiking GABA circuits by visual experience. *Nature* 462: 218-21
- Young AW, Ellis HD. 1989. Childhood prosopagnosia. *Brain and cognition* 9: 16-47
- Zaborszky L, Duque A. 2000. Local synaptic connections of basal forebrain neurons. *Behav Brain Res* 115: 143-58
- Zaborszky L, Pang K, Somogyi J, Nadasdy Z, Kallo I. 1999. The basal forebrain corticopetal system revisited. *Ann N Y Acad Sci* 877: 339-67
- Zagha E, Casale AE, Sachdev RN, McGinley MJ, McCormick DA. 2013. Motor cortex feedback influences sensory processing by modulating network state. *Neuron* 79: 567-78
- Zhang W, Basile AS, Gomeza J, Volpicelli LA, Levey AI, Wess J. 2002. Characterization of central inhibitory muscarinic autoreceptors by the use of muscarinic acetylcholine receptor knock-out mice. *J Neurosci* 22: 1709-17
- Zhang ZW, Kang JI, Vaucher E. 2011. Axonal varicosity density as an index of local neuronal interactions. *PLoS One* 6: e22543

- Zinke W, Roberts MJ, Guo K, McDonald JS, Robertson R, Thiele A. 2006. Cholinergic modulation of response properties and orientation tuning of neurons in primary visual cortex of anaesthetized Marmoset monkeys. *The European journal of neuroscience* 24: 314-28
- Zoli M, Le Novere N, Hill JA, Jr., Changeux JP. 1995. Developmental regulation of nicotinic ACh receptor subunit mRNAs in the rat central and peripheral nervous systems. *J Neurosci* 15: 1912-39

