

Université de Montréal

**Implication de *Syngap1* dans la transmission GABAergique et la plasticité  
synaptique**

par Paul Xing

Département de neurosciences  
Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales  
en vue de l'obtention du grade de *Maîtrise ès sciences* (M.Sc.)  
en sciences neurologiques

Août 2015

© Paul Xing, 2015

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

**Implication de *Syngap1* dans la transmission GABAergique et la plasticité  
synaptique**

présenté par Paul Xing

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dre. Arlette Kolta  
Président-rapporteur

Dr. Jacques L. Michaud  
Directeur de recherche

Dre. Graziella Di Cristo  
Co-directeur de recherche

Dr. Jean-Claude Lacaille  
Co-directeur de recherche

Dre. Elvire Vaucher  
Membre du jury

## RÉSUMÉ ET MOTS CLÉS EN FRANÇAIS

La déficience intellectuelle affecte de 1 à 3% de la population mondiale, ce qui en fait le trouble cognitif le plus commun de l'enfance. Notre groupe a découvert que des mutations dans le gène *SYNGAPI* sont une cause fréquente de déficience intellectuelle non-syndromique, qui compte pour 1-3% de l'ensemble des cas. À titre d'exemple, le syndrome du X fragile, qui est la cause monogénique la plus fréquente de déficience intellectuelle, compte pour environ 2% des cas. Plusieurs patients affectés au niveau de *SYNGAPI* présentent également des symptômes de l'autisme et d'une forme d'épilepsie. Notre groupe a également montré que *SYNGAPI* cause la déficience intellectuelle par un mécanisme d'haploinsuffisance. *SYNGAPI* code pour une protéine exprimée exclusivement dans le cerveau qui interagit avec la sous-unité GluN2B des récepteurs glutamatergiques de type NMDA (NMDAR). *SYNGAPI* possède une activité activatrice de Ras-GTPase qui régule négativement Ras au niveau des synapses excitatrices.

Les souris hétérozygotes pour *Syngap1* (souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>) présentent des anomalies de comportement et des déficits cognitifs, ce qui en fait un bon modèle d'étude. Plusieurs études rapportent que l'haploinsuffisance de *Syngap1* affecte le développement cérébral en perturbant l'activité et la plasticité des neurones excitateurs. Le déséquilibre excitation/inhibition est une théorie émergente de l'origine de la déficience intellectuelle et de l'autisme. Cependant, plusieurs groupes y compris le nôtre ont rapporté que *Syngap1* est également exprimé dans au moins une sous-population d'interneurones GABAergiques. Notre hypothèse était donc que l'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurones contribuerait en partie aux déficits cognitifs et au déséquilibre d'excitation/inhibition observés chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>.

Pour tester cette hypothèse, nous avons généré un modèle de souris transgéniques dont l'expression de *Syngap1* a été diminuée uniquement dans les interneurones dérivés des éminences ganglionnaires médianes qui expriment le facteur de transcription Nkx2.1 (souris *Tg(Nkx2,1-Cre);Syngap1*). Nous avons observé une diminution des courants postsynaptiques inhibiteurs miniatures (mIPSCs) au niveau des cellules pyramidales des

couches 2/3 du cortex somatosensoriel primaire (S1) et dans le CA1 de l'hippocampe des souris *Tg(Nkx2, I-Cre); Syngap1*. Ces résultats supportent donc l'hypothèse selon laquelle la perte de *Syngap1* dans les interneurons contribue au déséquilibre d'excitation/inhibition. De manière intéressante, nous avons également observé que les courants postsynaptiques excitateurs miniatures (mEPSCs) étaient augmentés dans le cortex S1, mais diminués dans le CA1 de l'hippocampe.

Par la suite, nous avons testé si les mécanismes de plasticité synaptique qui sous-tendraient l'apprentissage étaient affectés par l'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurons. Nous avons pu montrer que la potentialisation à long terme (LTP) NMDAR-dépendante était diminuée chez les souris *Tg(Nkx2, I-Cre); Syngap1*, sans que la dépression à long terme (LTD) NMDAR-dépendante soit affectée. Nous avons également montré que l'application d'un bloqueur des récepteurs GABA<sub>A</sub> renversait en partie le déficit de LTP rapporté chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>, suggérant qu'un déficit de désinhibition serait présent chez ces souris.

L'ensemble de ces résultats supporte un rôle de *Syngap1* dans les interneurons qui contribue aux déficits observés chez les souris affectées par l'haploinsuffisance de *Syngap1*.

**Mots clés :** autisme, AMPAR, déficience intellectuelle, équilibre excitation/inhibition, hippocampe, interneurons GABAergiques, LTD, LTP, néocortex, mEPSCs, mIPSCs, NMDAR, *Syngap1*.

## ABSTRACT AND KEY WORDS IN ENGLISH

Intellectual disability affects 1-3% of the world population, which make it the most common cognitive disorder of childhood. Our group discovered that mutation in the *SYNGAPI* gene was a frequent cause of non-syndromic intellectual disability, accounting for 1-3% of the cases. For example, the fragile X syndrome, which is the most common monogenic cause of intellectual disability, accounts for 2% of all cases. Some patients affected by *SYNGAPI* also showed autism spectrum disorder and epileptic seizures. Our group also showed that mutations in *SYNGAPI* caused intellectual disability by an haploinsufficiency mechanism. *SYNGAPI* codes for a protein expressed only in the brain which interacts with the GluN2B subunit of NMDA glutamatergic receptors (NMDAR). *SYNGAPI* possesses a Ras-GAP activating activity which negatively regulates Ras at excitatory synapses.

Heterozygote mice for *Syngap1* (*Syngap1*<sup>+/-</sup> mice) show behaviour abnormalities and learning deficits, which makes them a good model of intellectual disability. Some studies showed that *Syngap1* affects the brain development by perturbing the activity and plasticity of excitatory neurons. The excitatory/inhibitory imbalance is an emerging theory of the origin of intellectual disability and autism. However, some groups including ours, showed that *Syngap1* is expressed in at least a subpopulation of GABAergic interneurons. Therefore, our hypothesis was that *Syngap1* haploinsufficiency in interneurons contributes in part to the cognitive deficits and excitation/inhibition imbalance observed in *Syngap1*<sup>+/-</sup> mice.

To test this hypothesis, we generated a transgenic mouse model where *Syngap1* expression was decreased only in GABAergic interneurons derived from the medial ganglionic eminence, which expresses the transcription factor Nkx2.1 (Tg(*Nkx2,1-Cre*);*Syngap1* mouse). We showed that miniature inhibitory postsynaptic currents (mIPSCs) were decreased in pyramidal cells in layers 2/3 in primary somatosensory cortex (S1) and in CA1 region of the hippocampus of Tg(*Nkx2,1-Cre*);*Syngap1* mice. Those results suggest that *Syngap1* haploinsufficiency in GABAergic interneurons contributes in part to the excitation/inhibition imbalance observed in *Syngap1*<sup>+/-</sup> mice. Interestingly, we

also observed that miniature excitatory postsynaptic currents (mEPSCs) were increased in cortex S1 but decreased in CA1 region of the hippocampus.

We further tested whether synaptic plasticity mechanisms that are thought to underlie learning and memory were affected by *Syngap1* haploinsufficiency in GABAergic interneurons. We showed that NMDAR-dependent long-term potentiation (LTP) but not NMDAR-dependent long-term depression (LTD) was decreased in *Tg(Nkx2,1-Cre);Syngap1* mice. We also showed that GABA<sub>A</sub> receptor blockade rescued in part the LTP deficit in *Syngap1*<sup>+/-</sup> mice, suggesting that a disinhibition deficit is present in these mice.

Altogether, the results support a functional role of *Syngap1* in GABAergic interneurons, which may in turn contributes to the deficit observed in *Syngap1*<sup>+/-</sup> mice.

**Key words:** autism, AMPAR, excitation/inhibition balance, GABAergic interneurons, hippocampus, intellectual disability, LTD, LTP, mEPSCs, mIPSCs, neocortex, NMDAR, *Syngap1*.

# TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ ET MOTS CLÉS EN FRANÇAIS .....	i
ABSTRACT AND KEY WORDS IN ENGLISH.....	iii
TABLE DES MATIÈRES.....	v
LISTE DES FIGURES .....	xi
LISTE DES TABLEAUX .....	xiii
LISTE DES ABBRÉVIATIONS.....	xiv
REMERCIEMENTS .....	xx
CHAPITRE I : INTRODUCTION .....	1
1.1 LA DÉFICIENCE INTELLECTUELLE .....	1
1.1.1 Implication sociale de la déficience intellectuelle .....	1
1.1.2 Définition actuelle de la déficience intellectuelle .....	2
1.1.3 Classification de la déficience intellectuelle.....	2
1.1.3.1 Sévérité.....	2
1.1.3.2 Syndromique et non-syndromique.....	3
1.1.4 Génétique de la déficience intellectuelle .....	3
1.1.4.1. Aberrations chromosomiques .....	4
1.1.4.2 Formes liées au chromosome X.....	4
1.1.4.3 Formes autosomiques .....	5
1.1.5 Comorbidité de la déficience intellectuelle avec l'autisme et l'épilepsie .....	5
1.1.6 Balance excitation/inhibition dans les désordres cognitifs .....	6
1.2 LES INTERNEURONES GABAERGIQUES.....	7
1.2.1 Classifications des interneurones.....	7
1.2.1.1 Selon la morphologie et la connectivité.....	9
1.2.1.2 Selon les marqueurs génétiques exprimés .....	10
1.2.1.3 Selon le patron de décharge.....	10
1.2.2 Développement des circuits GABAergiques .....	11
1.2.2.1 Génération et origine des interneurones GABAergiques.....	11
1.2.2.1.1 Origine spatiale des interneurones.....	11
1.2.2.1.2 Origine temporelle des interneurones .....	13
1.2.2.2 Migration des interneurones GABAergiques.....	13

1.2.2.3 Croissance axonale et sélection des cibles.....	14
1.2.2.4 Maturation des synapses inhibitrices .....	15
1.3 FONCTIONS ET ORGANISATION ANATOMIQUE DU NÉOCORTEX.....	15
1.3.1 Anatomie du néocortex.....	15
1.3.2 Spécialisation fonctionnelle du néocortex .....	16
1.3.3 Cytoarchitecture du néocortex .....	18
1.3.4 Particularités des couches 2/3 du cortex .....	20
1.3.4.1 Les cellules principales de la couche 2/3.....	20
1.3.4.2 Fonction des interneurons dérivés du MGE de la couche 2/3.....	21
1.4 FONCTIONS ET ORGANISATION ANATOMIQUE DE L'HIPPOCAMPE .....	24
1.4.1 Rôle de l'hippocampe dans la cognition.....	24
1.4.2 Organisation anatomique de la formation hippocampique .....	24
1.4.3 Organisation cytoarchitecturale de l'hippocampe.....	26
1.4.4 Le circuit trisynaptique de l'hippocampe.....	28
1.4.4.1 La voie perforante.....	28
1.4.4.2 Les fibres moussues.....	29
1.4.4.3 Les collatérales de Schaffer .....	29
1.4.5 Particularités de la région CA1 .....	29
1.4.5.1 Fonctions des interneurons dérivés du MGE de la région CA1 de l'hippocampe .....	30
1.5 LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE .....	32
1.5.1 La synapse .....	32
1.5.1.1 La synapse électrique.....	32
1.5.1.2 La synapse chimique .....	32
1.5.2 La libération quantique du neurotransmetteur .....	34
1.5.3 Les récepteurs des neurotransmetteurs .....	34
1.5.3.1 Les récepteurs glutamatergiques.....	35
1.5.3.1.1 Les AMPARs.....	35
1.5.3.1.2 Les NMDARs.....	36
1.5.3.1.3 Les mGluRs .....	36
1.5.3.2 Les récepteurs GABAergiques .....	37
1.5.3.2.1 Les GABA <sub>A</sub> Rs .....	37
1.5.3.2.2 Les GABA <sub>B</sub> Rs .....	38
1.6 LA PLASTICITÉ SYNAPTIQUE À LONG TERME.....	38
1.6.1 La potentialisation à long terme (LTP) NMDAR-dépendante.....	39

1.6.1.1	Coopérativité, associativité et spécificité.....	39
1.6.1.2	Mécanisme d'induction de la LTP NMDAR-dépendante.....	40
1.6.1.2.1	Rôle de l'inhibition dans l'induction de la LTP.....	41
1.6.1.3	Mécanismes d'expression de la LTP .....	42
1.6.1.3.1	La potentialisation à court terme (STP).....	43
1.6.1.3.2	La phase précoce de la LTP (e-LTP) .....	44
1.6.1.3.2.1	La protéine kinase C (PKC).....	44
1.6.1.3.2.2	La protéine kinase Ca <sup>2+</sup> /calmoduline-dépendante II (CaMKII).....	45
1.6.1.3.2.3	La protéine kinase A (PKA) .....	46
1.6.1.3.2.4	La <i>mitogen-Activated Protein Kinase</i> (MAPK).....	47
1.6.1.3.3	La phase tardive de la LTP (L-LTP).....	48
1.6.1.3.3.1	CREB.....	48
1.6.1.3.3.2	mTOR .....	48
1.6.2	La dépression à long terme (LTD) NMDAR-dépendante.....	50
1.6.2.1	Mécanisme d'induction de la LTD NMDAR-dépendante.....	51
1.6.2.2	Mécanisme d'expression de la LTD NMDAR-dépendante .....	53
1.6.2.2.1	La calcineurine ou protéine phosphatase 2B (PP2B).....	53
1.6.2.2.2	La protéine phosphatase 1 (PP1) .....	53
1.6.2.2.3	Internalisation des AMPARs .....	54
1.7	BASE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE D'UNE FORME DE DÉFICIENCE INTELLECTUELLE NON-SYNDROMIQUE CAUSÉE PAR <i>SYNGAP1</i> .....	55
1.7.1	<i>SYNGAP1</i> chez l'humain .....	55
1.7.2	Modèles expérimentaux de l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> .....	56
1.7.2.1	Profil d'expression de <i>Syngap1</i> chez la souris .....	56
1.7.2.2	Déficits comportementaux.....	56
1.7.3	Description de <i>Syngap1</i> .....	57
1.7.4	<i>Syngap1</i> et ses effecteurs intracellulaires.....	58
1.7.4.1	Voie de signalisation de Ras/MEK.....	58
1.7.4.2	Voie de signalisation de mTOR.....	60
1.7.4.3	Voie de signalisation de Rac.....	60
1.7.4.4	Voie de signalisation de Rap .....	61
CHAPITRE II : BUT DE CE MÉMOIRE.....		63
2.1	CONTEXTE DE RECHERCHE.....	63
2.1.1	Contexte général .....	63

2.1.2 Contexte spécifique.....	64
2.1.2.1 Expression de <i>Syngap1</i> dans les interneurons GABAergiques.....	64
2.1.2.2 <i>Syngap1</i> régule le développement des interneurons GABAergiques.....	64
2.1.2.3 La perte de <i>Syngap1</i> spécifiquement dans les interneurons cause des déficits cognitifs ....	64
2.2 OBJECTIFS DE RECHERCHE .....	70
2.2.1 Objectif principal .....	70
2.2.2 Objectifs spécifiques.....	70
2.2.2.1 Débalancement excitation/inhibition .....	70
2.2.2.2 Déficits dans la plasticité synaptique à long terme .....	70
CHAPITRE III : MÉTHODES.....	72
3.1 GÉNÉRATIONS DES MODÈLES ANIMAUX .....	72
3.1.1 Souris knock-out (KO).....	72
3.1.1.1 Souris <i>Syngap1</i> hétérozygotes .....	72
3.1.2 Souris KO conditionnelles .....	73
3.1.2.1 Système Cre-loxP .....	73
3.1.2.2 Souris <i>Syngap1</i> conditionnelles.....	73
3.2 ÉLECTROPHYSIOLOGIE .....	74
3.2.1 Préparation de tranches corticales et hippocampiques.....	74
3.2.1.1 Principes théoriques.....	74
3.2.1.2 Tranches coronales de cortex transverses d'hippocampe .....	75
3.2.2 Courants post-synaptiques miniatures .....	75
3.2.2.1 Historiques et principes théoriques.....	75
3.2.2.2 Protocoles d'enregistrement des mIPSCs et mEPSCs .....	76
3.2.3 Potentiel de champs excitateur post-synaptique (fEPSPs).....	78
3.2.3.1 Principes théoriques.....	78
3.2.3.2 Potentialisation à long terme (LTP).....	79
3.2.3.3 Dépression à long terme (LTD).....	80
3.3 ANALYSE STATISTIQUE.....	81
3.3.1 Catégorisation des événements des mIPSCs et mEPSCs.....	81
3.3.2 Tests statistiques .....	81
CHAPITRE IV : RÉSULTATS.....	82
4.1 LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE DANS LE CORTEX.....	82
4.1.1 La transmission inhibitrice dans les couches 2/3 du cortex S1 est diminuée par l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans les interneurons dérivés du MGE .....	82

4.1.2 La transmission excitatrice dans les couches 2/3 du cortex S1 est augmentée par l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans les interneurons dérivés du MGE.....	83
4.2 LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE DANS L'HIPPOCAMPE .....	84
4.2.1 La transmission inhibitrice dans la région du CA1 de l'hippocampe est diminuée par l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans les interneurons dérivés du MGE.....	84
4.2.2 La transmission excitatrice dans la région du CA1 de l'hippocampe est diminuée par l'haploinsuffisance de <i>syngap1</i> dans les interneurons dérivés du MGE .....	85
4.3 LA PLASTICITÉ SYNAPTIQUE DANS L'HIPPOCAMPE .....	85
4.3.1 La LTP NMDAR-dépendante est diminuée par l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans les interneurons dérivés du MGE .....	85
4.3.2 La LTP NMDAR-dépendante est partiellement rétablie chez les souris <i>Syngap1<sup>+/-</sup></i> en présence d'un bloqueur GABAergique.....	87
4.3.3 La LTD NMDAR-dépendante n'est pas affectée par l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans les interneurons dérivés du MGE .....	88
4.4 FIGURES .....	89
CHAPITRE V : DISCUSSION GÉNÉRALE .....	101
5.1 RETOUR SUR LES OBJECTIFS ET LES RÉSULTATS .....	101
5.2 LE DÉVELOPPEMENT DE L'INNERVATION AXONALE .....	102
5.2.1 L'importance de l'activité dans le développement de l'innervation GABAergique.....	102
5.2.2 L'importance de l'activité dans le développement de l'innervation glutamatergique .....	104
5.2.3 L'importance temporelle de l'expression de <i>Syngap1</i> dans les interneurons.....	105
5.2.4 Un phénomène compensateur est présent chez les souris <i>Syngap1<sup>+/-</sup></i> .....	106
5.3 L'IMPORTANCE DES INTERNEURONES DANS LA PLASTICITÉ SYNAPTIQUE .....	107
5.3.1 La voie de Ras dans les interneurons est impliquée dans d'autres désordres cognitifs.....	107
5.3.2 La diminution de l'inhibition est impliquée dans d'autres désordres cognitifs.....	108
5.4 PERSPECTIVES FUTURES.....	114
5.4.1. L'Importance du stade développemental .....	114
5.4.2 La transmission synaptique sur les interneurons affectés par l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> .....	114
5.4.3 L'importance de la voie de mTOR dans les désordres neurocognitifs.....	117
5.4.4 L'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans les interneurons et l'apprentissage dépendant de l'hippocampe .....	117
5.4.5 L'importance des différentes aires du cortex dans la cognition.....	118
5.4.6 La fonction des différentes isoformes de <i>Syngap1</i> .....	118
5.5 CONCLUSION .....	119
CHAPITRE VI: BIBLIOGRAPHIE.....	120
ANNEXE 1 : ISOFORMES DE <i>SYNGAPI</i> .....	xxi

ANNEXE 2 : PROJET DE COLLABORATION SUR TSC1 .....	xxiii
A2.1 DESCRIPTION DU PROJET .....	xxiii
A2.2 FIGURES .....	xxvi

# LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Diversité des interneurons GABAergiques.....	8
Figure 1.2 Origine et migration des interneurons dérivée du facteur de transcription Nkx2.1.....	13
Figure 1.3 Anatomie du cortex. ....	16
Figure 1.4 Aires fonctionnelles du néocortex. ....	18
Figure 1.5 Organisation laminaire du néocortex. ....	20
Figure 1.6 Couches 2/3 du néocortex. ....	21
Figure 1.7 Interneurons des couches 2/3 du néocortex.....	22
Figure 1.8 Anatomie de l'hippocampe. ....	25
Figure 1.9 Organisation cytoarchitecturale de l'hippocampe. ....	27
Figure 1.10 Interneurons du CA1 de l'hippocampe. ....	30
Figure 1.11 La synapse chimique. ....	33
Figure 1.12 Coopérativité, associativité et spécificité de la LTP. ....	40
Figure 1.13 Les phases de la LTP NMDAR-dépendante.....	43
Figure 1.14 Mécanismes d'expression des trois phases de la LTP. ....	50
Figure 1.15 LTD NMDAR dépendante.....	51
Figure 1.16 Différences entre l'induction et l'expression de la LTD et LTP NMDAR-dépendante....	52
Figure 1.17 Composition de <i>Syngap1</i> . ....	58
Figure 1.18. Voie de signalisation de <i>Syngap1</i> .....	62
Figure 2.1 Expression de <i>Syngap1</i> par les interneurons GABAergiques. ....	65
Figure 2.2. L'inactivation de <i>Syngap1</i> à l'échelle d'une seule cellule affecte la maturation de l'innervation des interneurons GABAergiques.....	66
Figure 2.3. L'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans les interneurons dérivés du MGE affecte leur capacité à former des synapses.....	67
Figure 2.4. L'innervation PV <sup>+</sup> est diminuée par l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> . ....	68
Figure 2.5 L'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans les interneurons dérivés du MGE cause des déficits cognitifs. ....	69
Figure 3.1. Croisement utilisé pour générer les souris <i>Syngap1</i> <sup>+/-</sup> et leur contrôle.....	72
Figure 3.2 Croisement utilisé pour générer les souris Tg( <i>Nkx2.1-Cre</i> ); <i>Syngap1</i> <sup>flax/+</sup> et leur contrôle. ....	74
Figure 3.3 Représentation schématique de l'enregistrement de fEPSPs dans la région du CA1 de l'hippocampe.....	78
Figure 4.1 L'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans les interneurons dérivés du MGE cause une diminution de la transmission GABAergique dans les couches 2/3 du cortex S1. ....	89
Figure 4.2 La transmission glutamatergique dans les couches 2/3 du cortex S1 est augmentée à la fois chez les souris <i>Syngap1</i> <sup>+/-</sup> et les souris Tg( <i>Nkx2.1-cre</i> ); <i>Syngap1</i> <sup>flax/+</sup> .....	90
Figure 4.3 Les propriétés cinétiques des mIPSCs et mEPSCs des cellules pyramidales dans les couches 2/3 du cortex S1 sont essentiellement inchangées par l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> . ....	91
Figure 4.4. L'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans les interneurons dérivés du MGE cause une diminution de la transmission GABAergique dans la région du CA1 de l'hippocampe des souris.....	92
Figure 4.5. L'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans les interneurons dérivés du MGE cause une diminution de la transmission glutamatergique dans la région du CA1 de l'hippocampe des souris. ....	93

Figure 4.6. Les propriétés cinétiques des mIPSCs et mEPSCs des cellules pyramidales de la région CA1 de l'hippocampe restent inchangées par l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> .....	94
Figure 4.7 Propriétés de base de la transmission synaptique des souris <i>Syngap1<sup>+/-</sup></i> et <i>Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup></i> .....	95
Figure 4.8. La LTP NMDAR-dépendante est diminuée chez les souris <i>Syngap1<sup>+/-</sup></i> et <i>Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup></i> .....	96
Figure 4.9. La LTP NMDAR-dépendante chez les souris <i>Syngap1<sup>+/-</sup></i> en l'absence de transmission GABAergique.....	98
Figure 4.10. La LTD NMDAR-dépendante est inchangée chez les souris <i>Syngap1<sup>+/-</sup></i> et <i>Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup></i> .....	100
Figure 5.1 Représentation schématique des résultats chez les souris <i>Syngap1<sup>+/-</sup></i> et <i>Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup></i> .....	102
Figure 5.2. Modèle hypothétique du rôle de l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans la LTP au niveau du CA1 de l'hippocampe.....	111
Figure 5.3. Modèle hypothétique de l'implication de l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> dans les interneurons GABAergiques dérivés MGE et l'expression de la LTP au niveau du CA1 de l'hippocampe.....	113
Figure 5.4. Changements synaptiques hypothétiques sur les interneurons GABAergiques affectés par l'haploinsuffisance de <i>Syngap1</i> .....	116
Figure A1.1. Isoformes de <i>Syngap1</i> .....	xxi
Figure A2.1 Les propriétés de base de la transmission synaptique des souris <i>Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>fllox/+</sup></i> ne sont pas modifiées.....	xxvi
Figure A2.2 la l-LTP est diminuée chez les souris <i>Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>fllox/+</sup></i> .....	xxvii

# LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I. Études ayant associées <i>SYNGAP1</i> à la déficience intellectuelle.....</b>	<b>56</b>
<b>Tableau II. Paramètres des mIPSCs et mEPSCs.....</b>	<b>77</b>

## LISTE DES ABBRÉVIATIONS

4E-BP	<i>eukaryotic initiation factor 4E-binding proteins</i>
AAV	virus adéno-associé ( <i>adeno-associated-virus</i> )
ABP	<i>AMPA-binding protein</i>
AC	interneurones accélérateurs
ACSF	liquide céphalo-rachidien artificiel ( <i>artificial cerebrospinal fluid</i> )
AD	interneurones adaptatifs
AMPA	acide $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique
AMPA	récepteur du glutamate de type AMPA
AP5	acide 2-amino-5-phosphonovalérique
ARNm	acide ribonucléique messager
ATP	adénosine triphosphate
BDNF	<i>brain-derived neurotrophic factor</i>
CA1	<i>Cornus ammonis 1</i>
CA2	<i>Cornus ammonis 2</i>
CA3	<i>Cornus ammonis 3</i>
CaM	calmoduline
CaMKII	protéine kinase $\text{Ca}^{2+}$ /calmoduline-dépendante II
cAMP	adénosine monophosphate cyclique
CCK	cholécystokinine
CDK5	kinase cycline-dépendante 5
CGE	éminence ganglionnaire caudale ( <i>caudal ganglionic eminence</i> )
CHL1	<i>Close Homologue of L1</i>
CNQX	6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione
CNV	variabilité du nombre de copies ( <i>copy number variation</i> )
CRE	<i>cAMP Response Element</i>
CREB	<i>cAMP Response Element-binding protein</i>
DG	gyrus dentelé ( <i>dentate gyrus</i> )
DINS	déficiência intellectuelle non-syndromique

DIS	déficience intellectuelle syndromique
E/I	excitation/inhibition
E-LTP	LTP précoce ( <i>early-LTP</i> )
EGTA	acide éthylène glycol tétra-acétique
eIF4A	<i>eukaryotic translation initiation factor-4A</i>
eIF4B	<i>eukaryotic translation initiation factor-4B</i>
eIF4E	<i>eukaryotic translation initiation factor-4E</i>
eIF4F	<i>eukaryotic translation initiation factor-4F complex</i>
eIF4G	<i>eukaryotic translation initiation factor-4G</i>
ERK	<i>extracellular regulated kinases</i>
fEPSP	potentiels de champs excitateurs post-synaptiques ( <i>field excitatory post-synaptic potentials</i> )
FS	interneurone à décharge rapide ( <i>fast-spiking</i> )
FMR1	<i>Fragile X Mental Retardation 1</i>
FXS	syndrome du X fragile
GABA	acide $\gamma$ -aminobutyrique
GABA <sub>A</sub> R	récepteur GABA de type A
GABA <sub>B</sub> R	récepteur GABA de type B
GAD	acide glutamique décarboxylase
GAP	<i>GTPase activating proteins</i>
GDP	guanosine diphosphate
GEF	<i>guanine-nucleotide exchange factor</i>
GIRK	canaux K <sup>+</sup> à rectification entrante ( <i>G protein coupled inwardly-rectifying potassium channels</i> )
GluA	sous-unité des AMPARs
GluN	sous-unité des NMDARs
GPCR	récepteur couplé aux protéines G
GRF	<i>guanine nucleotide-releasing factor</i>
GRIP	<i>glutamate receptor interacting protein</i>
GTP	guanosine triphosphate
HFS	stimulation à haute fréquence ( <i>high frequency stimulation</i> )

IB	interneurones à bouffés intrinsèques ( <i>intrinsic bursting, IB</i> )
IEI	intervalle inter-évènement ( <i>interevent interval</i> )
IP3	inositol triphosphate
IS	interneurones à décharge irrégulière ( <i>Irregular spiking, IS</i> )
IZ	zone intermédiaire
KAR	récepteur du glutamate de type kainate
LGE	éminence ganglionnaire latérale ( <i>lateral ganglionic eminence</i> )
LFS	stimulation à basse fréquence ( <i>low frequency stimulation</i> )
LIMK	LIM kinase
LLP	potentialisation de longue durée ( <i>long-lasting potentiation</i> )
L-LTP	LTP tardive ( <i>late-LTP</i> )
LTD	dépression à long terme ( <i>long-term depression</i> )
LTP	potentialisation à long terme ( <i>long-term potentiation</i> )
MAPK	<i>mitogen associated protein kinases</i>
MAP2K	MAP kinase kinases
MAP3K	MAP kinase kinase kinases
mEPP	potentiels miniatures de plaque motrice ( <i>miniature end plate potential</i> )
mEPSC	Courant excitateur postsynaptique miniature ( <i>miniature excitatory postsynaptic current</i> )
MGE	éminence ganglionnaire médian ( <i>medial ganglionic eminence</i> )
mGluR	récepteur métabotrope du glutamate
mIPSC	Courant inhibiteur postsynaptique miniature ( <i>miniature inhibitory postsynaptic current</i> )
mTOR	<i>mechanistic target of rapamycin</i>
MUPP1	<i>multi-PDZ domain-containing protein 1</i>
MZ	zone marginale
NA-NFS	interneurones non-adaptatifs et sans décharge rapide ( <i>Non-adapting, non fast-spiking</i> )
NF1	neurofibromatose de type 1
NMDA	acide N-méthyl-D-aspartique

NMDAR	récepteur du glutamate de type NMDA
NPY	neuropeptide Y
NSF	<i>N-ethylmaleimide-sensitive factor</i>
NT4	neurotrophine-4
O-LM	<i>oriens lacunosum-moleculare</i>
PDK1	<i>Phosphoinositide-dependent kinase-1</i>
PH	domaine d'homologie de pleckstrine
PICK1	<i>Protein interacting with C-kinase 1</i>
PIP <sub>2</sub>	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
PIP <sub>3</sub>	phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate
PKA	protéine kinase A
PKC	protéine kinase C
PLC	phospholipase C
PP1	protéine phosphatase 1
PP2B	protéine phosphatase 2B
PPF	facilitation par impulsion appariée ( <i>paired-pulse facilitation</i> )
PP-LFS	stimulation par impulsion appariée à basse fréquence ( <i>paired-pulse low frequency stimulation</i> )
PSD	densité post-synaptique ( <i>postsynaptic density</i> )
pSpike	<i>population spike</i>
PTP	potentialisation post-tétanique
PV	parvalbumine
QI	quotient intellectuel
RalA	<i>Ras-related protein</i>
RalBP1	<i>RalA-binding protein 1</i>
Ras	<i>Rat sarcoma</i>
S1	cortex somatosensoriel primaire
S6K	S6 kinase
SST	somatostatine
STP	potentialisation à court terme ( <i>short-term potentiation</i> )
SVZ	zone subventriculaire

SYNGAP1	<i>Synaptic Ras GTPase-activating protein 1</i>
Tiam1	<i>T-lymphoma invasion and metastasis 1</i>
TBS	stimulation par bouffée thêta ( <i>theta burst stimulation</i> )
TSA	troubles du spectre de l'autisme ( <i>autism spectrum disorders</i> )
TSC1/2	<i>tuberous sclerosis complex 1/2</i>
TTX	tétradotoxine
VIP	peptide vasoactif intestinal

*“The brain is the last and grandest biological frontier, the most complex thing we have yet discovered in our universe. It contains hundreds of billions of cells interlinked through trillions of connections. The brain boggles the mind.”*

- Professeur James Watson

## REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord remercier mes superviseurs, Dr Jacques L. Michaud et Dre Graziella Di Cristo du CHU Sainte-Justine, d'avoir accepté de me prendre comme étudiant à la maîtrise. Je me dois également de remercier particulièrement le Dr Jean-Claude Lacaille de l'Université de Montréal avec qui j'ai eu la chance de collaborer pour la confiance qu'il m'a témoignée ainsi que pour son encadrement tout le long de ma maîtrise. Mon passage dans son laboratoire a été des plus enrichissants.

Je tiens à remercier mes collègues de l'équipe du Dr Lacaille, particulièrement Julien Artinian et Ilse Riebe, deux excellents post-doctorants dont l'expertise m'a été forte utile lors de la réalisation de mes expériences en électrophysiologie.

Je tiens à remercier aussi les membres des laboratoires des Dr Michaud et Dre Di Cristo pour l'assistance technique dont j'ai eu besoin au cours de ma maîtrise.

Je tiens également à souligner le travail des membres de mon Jury d'évaluation de mémoire, d'abord Dre Arlette Kolta pour avoir accepté la responsabilité de président-rapporteur et Dre Elvire Vaucher de l'École d'Optométrie pour tout le travail de révision qu'elles ont réalisé.

Finalement, merci à tous ceux qui m'ont supporté durant ces 2 années de maîtrise en sciences neurologiques.

# CHAPITRE I : INTRODUCTION

## 1.1 LA DÉFICIENCE INTELLECTUELLE

### 1.1.1 IMPLICATION SOCIALE DE LA DÉFICIENCE INTELLECTUELLE

On estime que la déficience intellectuelle affecte de 1 à 3% de la population mondiale et constitue la grande partie des coûts des soins de santé dans les sociétés occidentales (Ellison et al., 2013, van Bokhoven, 2011, Prince et al., 2007, Musante and Ropers, 2014). Il s'agit également de la cause la plus fréquente de consultation en génétique (Musante and Ropers, 2014). La majorité des patients atteints de déficience intellectuelle requerront des soins ou des services tout le long de leur vie due à leur autonomie diminuée (Centers for Disease and Prevention, 2004). À titre d'exemple, on peut mentionner les soins donnés aux patients en institution qui nécessite un suivi 24h et les soins donnés à domicile (Polder et al., 2002). Aux États-Unis, on estime que le coût des soins médicaux pour les individus atteints de déficience intellectuelle nés uniquement depuis 2000 s'élèveront jusqu'à 50 milliards de dollars (van Bokhoven, 2011, Centers for Disease and Prevention, 2004). Malgré cela, la déficience intellectuelle n'a reçu que peu d'attention du public en matière de soins de santé, principalement due au fait que la déficience intellectuelle est perçue comme un problème d'ordre social plutôt que de santé (Ropers, 2010).

Au cours des dernières années, plusieurs études cliniques ont tenté de trouver un traitement pharmacologique pour les déficits cognitifs des patients atteints de déficience intellectuelle. Malgré des résultats prometteurs sur des modèles animaux, ces essais cliniques ont connu un succès mitigé (Mainberger et al., 2013, van der Vaart et al., 2013, Ehninger et al., 2008, Osterweil et al., 2013, Michalon et al., 2012). La déficience intellectuelle est un désordre fort complexe et aux causes multiples. La compréhension des bases cellulaires et moléculaires de la déficience intellectuelle est donc primordiale afin de pouvoir développer une stratégie thérapeutique raisonnée.

### 1.1.2 DÉFINITION ACTUELLE DE LA DÉFICIENCE INTELLECTUELLE

La déficience intellectuelle est, telle que définie par le DSM-5 (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*), un «trouble qui apparaît pendant le développement caractérisé par une atteinte générale des habiletés mentales affectant les fonctions intellectuelles et adaptatives dans les domaines conceptuel, social et pratique» (American Psychiatric Association, 2013). Le domaine conceptuel concerne les habiletés de langage, d'écriture, de lecture, de raisonnement et de mémoire. Le domaine social concerne l'empathie et les habiletés interpersonnelles. Le domaine pratique concerne les capacités d'autogestion telles qu'assumer les responsabilités d'un emploi ou se gérer financièrement.

De plus, trois critères sont nécessaires pour le diagnostic de la déficience intellectuelle : 1) le patient doit présenter des déficits dans les fonctions intellectuelles, 2) des déficits dans le fonctionnement adaptatif qui «résulte en une incapacité à atteindre les standards d'indépendance personnelle et de responsabilité sociale» et 3) ces déficits doivent apparaître au cours du développement. L'apparition des symptômes n'est donc plus limitée à l'âge de 18 ans tels que définis précédemment (Ellison et al., 2013).

Le terme déficience intellectuelle a remplacé celui de retard mental des éditions précédentes du DSM dû à sa connotation jugée péjorative et rejoint la terminologie utilisée par l'Organisation Mondiale de la Santé. Depuis la publication du DSM-5, le quotient intellectuel (QI) a été retiré des critères de diagnostic, bien que faisant toujours partie de la description de la maladie. Dans les précédentes versions du DSM, il était considéré comme étant de la déficience intellectuelle un QI inférieur à la moyenne de plus de deux fois la déviation standard, ce qui correspondait à un score inférieur à 70.

### 1.1.3 CLASSIFICATION DE LA DÉFICIENCE INTELLECTUELLE

#### 1.1.3.1 SÉVÉRITÉ

Les patients atteints de déficience intellectuelle peuvent être classés selon la sévérité dans quatre catégories, soit : profonde, sévère, modérée et faible. Ces catégories étaient déterminées dans les précédentes versions du DSM selon le niveau de QI des patients. La déficience intellectuelle était considérée comme étant profonde lorsque le QI était inférieur à 20, sévère lorsque le QI était compris entre 20 et 34, modérée lorsque le QI

était compris entre 35 et 49 et faible lorsque le QI était compris entre 50 et 69 (van Bokhoven, 2011). Depuis la parution du DSM-5, la sévérité est déterminée sur la base des fonctions adaptatives décrites précédemment (American Psychiatric Association, 2013). Ce changement dans la classification de la sévérité de la déficience intellectuelle se base sur le fait que c'est plutôt les fonctions adaptatives et non le QI qui est déterminant du niveau de support dont les individus atteints ont besoin.

#### *1.1.3.2 SYNDROMIQUE ET NON-SYNDROMIQUE*

Les cas de déficience intellectuelle peuvent aussi être classés selon s'ils sont syndromiques ou non-syndromiques (van Bokhoven, 2011). La déficience intellectuelle syndromique (DIS) est caractérisée par la présence de traits morphologiques ou métabolites distincts alors que celle non syndromique (DINS) a pour seul trait clinique le déficit intellectuel (van Bokhoven, 2011). Un exemple de DIS souvent cité est la trisomie 21, dont les individus atteints possèdent des traits faciaux caractéristiques comme un visage rond, des yeux bridés et un épaississement des plis de la nuque. La présence des autres symptômes cliniques dans les cas de DIS permet souvent d'identifier plus facilement la maladie en cause. Par contre, en l'absence d'autres traits le diagnostic est beaucoup plus difficile et des techniques génétiques sont nécessaires pour identifier la cause.

#### 1.1.4 GÉNÉTIQUE DE LA DÉFICIENCE INTELLECTUELLE

Bien que des facteurs environnementaux comme l'exposition à des tératogènes, l'alcoolisme fœtal, et l'hypoxie peuvent expliquer certains cas de déficience intellectuelle, cette dernière possède une forte composante génétique. C'est en effet plus de 450 gènes qui seraient impliqués dans la déficience intellectuelle. La plupart des gènes identifiés sont responsables de la DIS; il n'existe qu'environ 50 gènes connus pouvant causer la DINS. Cependant, 60% des cas cliniques restent encore inexplicables (Ellison et al., 2013, van Bokhoven, 2011).

Les cas génétiques de déficience intellectuelle peuvent essentiellement être séparés en trois groupes : les formes dues à des aberrations chromosomiques, les formes liées au chromosome X et les formes autosomiques (Ropers, 2008).

#### *1.1.4.1. ABERRATIONS CHROMOSOMIQUES*

Environ 10-15% des cas de déficience intellectuelle sont dus à des aberrations chromosomiques présentant des modifications visibles sur le caryotype (Ellison et al., 2013, Mefford et al., 2012). La trisomie 21 ou syndrome de Down, dont la cause génétique a été identifiée dès 1959 (Lejeune et al., 1959), contribue à elle seule aux 2/3 de ces cas, ce qui en fait la cause la plus fréquente de déficience intellectuelle (Ropers, 2008). Depuis le développement de technologies plus poussées comme les micro-puces d'ADN et l'hybridation génomique comparative, d'autres modifications chromosomiques microscopiques ou sous-microscopiques ont pu être identifiées. La variabilité du nombre de copies (*copy number variation*, CNV), qui est défini comme une délétion ou une duplication d'une portion d'ADN et qui constitue une forme de polymorphisme, représente 15-20% des cas de déficience intellectuelle (Ellison et al., 2013, Mefford et al., 2012, Vissers et al., 2010).

#### *1.1.4.2 FORMES LIÉES AU CHROMOSOME X*

Les formes de déficience intellectuelle liées au chromosome X, dû à leur transmission héréditaire, affectent davantage les hommes que les femmes. Il s'agit du chromosome qui a été le plus largement étudié, 80% des gènes connus causant la DINS y résident (Kaufman et al., 2010) et expliqueraient 8 à 12% des cas chez les hommes (Ropers, 2008). Le syndrome du X fragile (FXS) est généralement considéré comme la première forme de déficience intellectuelle qui a été associée à des mutations dans un gène spécifique, *FRM1 (Fragility Mental Retardation 1)* (Verkerk et al., 1991). Les mutations consistent en une répétition de plus de 200 fois de la séquence CGG. Contribuant pour environ 2% des cas, le gène *FRM1* est la cause monogénique la plus fréquente de la déficience intellectuelle (Ellison et al., 2013). Un autre exemple est le syndrome de Rett, affectant uniquement les filles, causé par des mutations dans le gène *MeCP2* (Amir et al., 1999). On dénombre aujourd'hui plus d'une centaine de gènes associés à X pouvant causer la DI (Ellison et al., 2013).

#### 1.1.4.3 FORMES AUTOSOMIQUES

Comme mentionné ci-dessus, une proportion importante des gènes connus causant la déficience intellectuelle est liée au chromosome X. Les gènes autosomiques sont plus difficiles à identifier, dû au fait qu'il y a peu de formes familiales de déficience intellectuelle (Mefford et al., 2012). Malgré cela, les gènes autosomiques liés à la déficience intellectuelle sont beaucoup plus nombreux que ceux du chromosome X (Afroze and Chaudhry, 2013). Les cas les plus connus restent ceux qui sont syndromiques. La neurofibromatose de type 1 (NF1), un désordre neurocutané caractérisé par des tumeurs sous-cutanées et des troubles cognitifs, a été largement étudiée au cours des dernières années, bien que seulement 4% des individus atteints présentent une déficience intellectuelle. Les individus atteints sont porteurs de mutations dans le gène *NF1* situé sur le chromosome 17 (Friedman, 1999). Un autre exemple est la sclérose tubéreuse qui est causée par des mutations sur le gène *TSC1* (*tuberous sclerosis 1*) présent sur le chromosome 9 (van Slegtenhorst et al., 1997) ou par des mutations sur le *TSC2* présent sur le chromosome 16 (European Chromosome 16 Tuberous Sclerosis, 1993).

#### 1.1.5 COMORBIDITÉ DE LA DÉFICIENCE INTELLECTUELLE AVEC L'AUTISME ET L'ÉPILEPSIE

Une proportion importante des individus atteints de déficience intellectuelle sont aussi atteints d'épilepsie (McGrother et al., 2006, Musante and Ropers, 2014, Matson et al., 1999). L'épilepsie, qui vient du grec ancien : « ἐπιλαμβάνειν » (*epilambanein*) qui signifie « prendre par surprise », est l'un des troubles neurologiques les plus fréquents avec une prévalence semblable à la déficience intellectuelle, soit autour de 1% (Engel, 2013). L'épilepsie est caractérisée par des interruptions récurrentes et imprédictibles du fonctionnement normal du cerveau qui résultent en des crises épileptiques (Fisher et al., 2005). La prévalence des patients atteints de déficience intellectuelle ayant de l'épilepsie est estimée autour de 16-26% (McGrother et al., 2006), mais elle atteint 50% chez les patients atteints de déficience intellectuelle profonde (Lhatoo and Sander, 2001).

De manière intéressante, les troubles du spectre de l'autisme (TSA) affectent plusieurs patients atteints de déficience intellectuelle. Bien que l'autisme ait déjà été considéré comme une forme de déficience intellectuelle, il s'agit de deux troubles cognitifs

distincts. L'autisme est défini comme un trouble neurodéveloppemental caractérisé par une interaction sociale et une communication anormale ainsi que par des gestes répétés et des intérêts restreints (Mefford et al., 2012, Huguet et al., 2013, American Psychiatric Association, 2013). La déficience intellectuelle n'est donc pas un des critères de diagnostics, bien que présente dans environ 70% des cas. Tout comme la déficience intellectuelle, les TSA possèdent une forte composante génétique. Les études sur les jumeaux homozygotes ont montré que les TSA sont héréditaires, mais 10-20% des cas sont dus à des mutations de novo (Rubenstein, 2010). Un nombre important des gènes impliqués dans les TSA et la déficience intellectuelle se chevauche (Krumm et al., 2014), suggérant que l'autisme et la déficience intellectuelle posséderaient une étiologie commune.

#### 1.1.6 BALANCE EXCITATION/INHIBITION DANS LES DÉSORDRES COGNITIFS

L'implication de plusieurs gènes synaptiques et la présence de crises épileptiques chez certains patients atteints de déficience intellectuelle suggèrent que l'hyper-excitabilité des réseaux corticaux pourrait être une composante importante de l'étiologie de la maladie (Rubenstein and Merzenich, 2003). En effet, de plus en plus d'évidence démontre que le traitement anormal de l'information neuronale due à un déséquilibre du ratio excitation/inhibition (E/I) au niveau du néocortex et de l'hippocampe soit en cause dans plusieurs maladies neurodéveloppementales comme la déficience intellectuelle et l'autisme (Rubenstein and Merzenich, 2003, Yizhar et al., 2011, Bateup et al., 2013, LeBlanc, 2013, Gkogkas et al., 2013, Rubenstein, 2010, Gogolla et al., 2009). L'altération de l'excitation glutamatergique ou de l'inhibition GABAergique menant soit à l'augmentation ou la diminution du ratio E/I contribuerait aux troubles neurocognitifs comme la déficience intellectuelle et l'autisme.

Particulièrement, l'activité inhibitrice des interneurons GABAergique est essentielle pour réguler l'excitabilité des circuits neuronaux, mais également l'intégration temporelle de l'information neuronale et la génération d'oscillations des réseaux neuronaux glutamatergique impliquées dans les fonctions cognitives (Buzsaki and Watson, 2012, Kepecs and Fishell, 2014). Par exemple, la perte du gène *Nf1* ou *MeCP2* uniquement dans les neurones GABAergiques est suffisante pour causer les déficits cognitifs observés chez les souris issues de lignées germinales (Cui et al., 2008, Chao et al., 2010). L'altération

de la transmission GABAergique contribuerait aux symptômes cognitifs des modèles murins du syndrome de Down, bien qu'aucune donnée ne le montre encore chez l'humain (Deidda et al., 2015).

Historiquement, la fonction des interneurons GABAergiques était vue comme simplement inhibitrice, servant à mettre un frein à l'activité des neurones pyramidaux. Il est aujourd'hui clair que le rôle de ces neurones est bien plus complexe : les interneurons GABAergiques font figure de chef d'orchestre des réseaux neuronaux. L'importance grandissante des interneurons GABAergiques dans les processus cognitifs fait de ceux-ci un terrain d'étude particulièrement intéressant et ce mémoire portera principalement sur leur rôle dans la déficience intellectuelle.

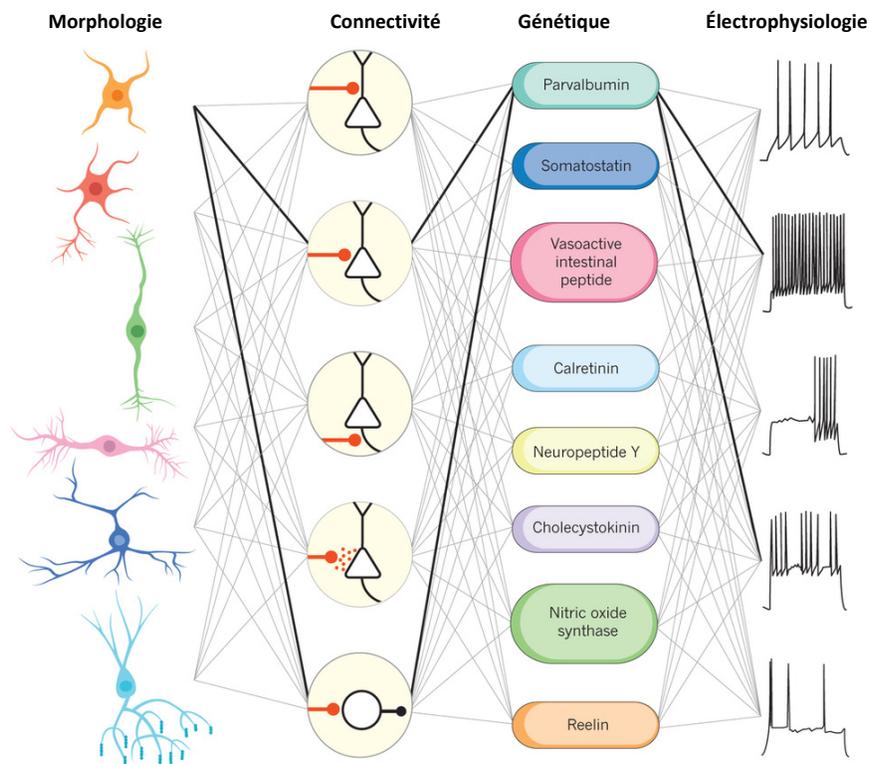
La section 1.2 sera donc consacrée entièrement aux interneurons GABAergiques, de leur classification jusqu'à leur expression dans le développement. Ensuite, les sections 1.3 et 1.4 viseront à décrire la fonction et l'organisation du néocortex et de l'hippocampe, deux structures anatomiques dont le dysfonctionnement est fortement lié à la déficience intellectuelle et à l'autisme. La section 1.5 décrira les mécanismes de la transmission synaptique, de la synapse aux différents types de récepteurs. La section 1.6 sera consacrée à la plasticité synaptique de l'hippocampe qui joue un rôle clé dans la mémoire et l'apprentissage et donc nécessaire à la compréhension de la déficience intellectuelle. Finalement, la section 1.7 décrira une forme particulière de déficience intellectuelle liée au gène *SYNGAP1*.

## 1.2 LES INTERNEURONES GABAERGIQUES

### 1.2.1 CLASSIFICATIONS DES INTERNEURONES

Les réseaux neuronaux corticaux mettent en jeu principalement deux types cellulaires : les cellules pyramidales glutamatergiques, aussi appelées cellules principales, qui sont excitatrices et les interneurons GABAergiques qui sont inhibiteurs. Bien que ces derniers ne composent que 20 à 30% des neurones, ils représentent les neurones les plus diversifiés du système nerveux (Kessaris et al., 2014, Kepecs and Fishell, 2014, Sultan et

al., 2014). Dans l'ensemble du cerveau, il existerait jusqu'à plusieurs centaines de types d'interneurones différents (Kepecs and Fishell, 2014). La grande diversité des neurones GABAergiques a grandement complexifié leur étude et leur classification. En effet, ceux-ci ont été classifiés selon leur morphologie, leur connectivité, leur patron de décharge et l'expression de marqueurs génétiques (**Figure 1.1**) (Kepecs and Fishell, 2014, Sultan et al., 2014, Anderson and Coulter, 2013). Le groupe de nomenclature des interneurones Petilla, formé de différents experts des interneurones à travers le monde, a tenté d'établir une nomenclature standardisée des interneurones une première fois en 2008 puis une deuxième fois en 2013 (Petilla Interneuron Nomenclature et al., 2008, DeFelipe et al., 2013). Ces différentes manières de classifier les interneurones proposées par le groupe Petilla seront vues brièvement dans les sections suivantes.



**Figure 1.1 Diversité des interneurones GABAergiques.**

Représentation schématique de la classification des interneurones selon la morphologie, la connectivité, les marqueurs génétiques exprimés et les propriétés électrophysiologiques. Adaptée de (Kepecs and Fishell, 2014).

### 1.2.1.1 SELON LA MORPHOLOGIE ET LA CONNECTIVITÉ

Historiquement, les interneurones désignaient les neurones à axone court décrits par Ramon y Cajal qui ne faisaient que des connexions locales dans le cortex, contrairement aux cellules pyramidales (ou neurones à axone long), qui étaient des neurones de projections (Ramón y Cajal, 1911). Les interneurones se distinguaient également des cellules principales par la forme de leur soma qui est plus arrondi et de plus petite taille (10-30µm de diamètre) (Petilla Interneuron Nomenclature et al., 2008).

Aujourd'hui, le terme interneurone sert essentiellement à décrire les neurones qui utilisent l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA) comme neurotransmetteur (Maccaferri and Lacaille, 2003, Freund and Buzsaki, 1996), bien qu'il existe également des interneurones utilisant d'autres types de neurotransmetteurs. Le GABA est synthétisé par deux enzymes, la glutamate décarboxylase 65 (GAD65) et la glutamate décarboxylase 67 (GAD67) (Pinal and Tobin, 1998). Les interneurones ont donc d'abord été classifiés selon leur morphologie et la région des cellules principales qu'innervent leurs synapses (Freund and Buzsaki, 1996, DeFelipe et al., 2013) :

*Cellules en panier.* Le terme de cellule «en panier» (*basket cell*) vient de Ramon Y Cajal et servait à décrire les neurones présents dans le cervelet possédant une arborisation axonale en forme de panier (Ramón y Cajal, 1893). Ces interneurones sont présents dans l'hippocampe et le cortex et ciblent la région périsomatique des cellules principales (DeFelipe et al., 2013).

*Cellules en chandelier.* Les cellules en chandelier n'ont été découvertes dans le néocortex que tardivement par János Szentágothai en 1974 (Szentagothai and Arbib, 1974). Elles se distinguent par leurs connexions exclusives au segment initial de l'axone des neurones pyramidaux. C'est pourquoi celles-ci sont également appelées cellules axo-axoniques. Leur arbre axonal est composé de courtes rangées verticales de boutons présynaptiques appelées cartouches (*cartridges*) qui rappellent les anciens chandeliers qui ont donné leur nom (Howard et al., 2005, Woodruff and Yuste, 2008).

*Cellules à inhibition dendritique.* Les interneurones qui ciblent particulièrement les dendrites des cellules principales possèdent une grande variabilité dans leur arborisation axonale (Freund and Buzsaki, 1996). Ceux-ci comprennent entre autres les cellules de

Martinotti qui fournissent une inhibition de la touffe dendritique des cellules pyramidales (Kepecs and Fishell, 2014).

#### 1.2.1.2 SELON LES MARQUEURS GÉNÉTIQUES EXPRIMÉS

Une autre manière de classer les interneurons est de se baser sur l'expression de marqueurs moléculaires spécifiques, incluant des protéines liant le calcium ou des neuropeptides. Le rôle des neuropeptides dans ces interneurons est peu connu, mais il semble qu'ils servent à moduler l'excitabilité neuronale (Baraban and Tallent, 2004). Cinq principaux marqueurs ont été identifiés par le groupe Petilla (DeFelipe et al., 2013) :

1) *La parvalbumine (PV)*. La PV est une protéine liant le calcium qui semble jouer un rôle dans la libération du GABA (Eggermann and Jonas, 2012). Les interneurons PV représentent 40% des interneurons corticaux chez les rongeurs et comprennent les cellules en panier et en chandelier (Kessaris et al., 2014).

2) *La somatostatine (SST)*. Ceux-ci représentent 30% des interneurons et comprennent entre autres les cellules de Martinotti.

3) *Le neuropeptide Y (NPY)*. Il s'agit de l'un des neuropeptides les plus abondamment exprimés dans le cerveau, mais la grande diversité des interneurons l'exprimant rend leur distinction difficile (Karagiannis et al., 2009).

4) *Le peptide vasoactif intestinal (VIP)*. Les interneurons VIP représentent environ 15% des interneurons. Ceux-ci ont tendance à inhiber la plupart des interneurons SOM et une partie des interneurons PV (Kepecs and Fishell, 2014).

5) *La cholécystokinine (CCK)*. Certaines cellules en panier, notamment au niveau de l'hippocampe, n'expriment pas la PV et sont CCK-positives (Somogyi and Klausberger, 2005).

#### 1.2.1.3 SELON LE PATRON DE DÉCHARGE

Les critères électrophysiologiques pour distinguer les différents types d'interneurons peuvent être nombreux : potentiel de membrane au repos, seuil du potentiel d'action, patrons de décharge, etc. (Petilla Interneuron Nomenclature et al., 2008). D'après le groupe Petilla, il existe essentiellement six manières de classer les interneurons selon

leurs patrons de décharge (DeFelipe et al., 2013, Petilla Interneuron Nomenclature et al., 2008) :

1) *Les interneurones à décharge rapide (Fast-spiking, FS)*. Les interneurones FS sont généralement PV<sup>+</sup> et comprennent donc les cellules en panier et en chandelier (Kepecs and Fishell, 2014).

2) *Les interneurones non-adaptatifs et sans décharge rapide (Non-adapting, non fast-spiking, NA-NFS)*. Ceux-ci incluent les interneurones SST dont les cellules de Martinotti (Sultan et al., 2013).

3) *Les interneurones adaptatifs (Adapting, AD)*. Ces neurones ont la particularité de démontrer une augmentation graduelle de l'intervalle de temps entre les potentiels d'action.

4) *Les interneurones accélératifs (Accelerating, AC)*. Ceux-ci, au contraire des neurones AD, démontrent plutôt une diminution de l'intervalle de temps entre les potentiels d'action.

5) *Les interneurones à décharge irrégulière (Irregular spiking, IS)*. Les neurones IS ont la particularité d'avoir des intervalles irréguliers entre les potentiels d'action.

6) *les interneurones à bouffées intrinsèques (intrinsic bursting, IB)*. Les cellules de Martinotti, en plus d'être NFS, sont également à IB (Sultan et al., 2013).

## 1.2.2 DÉVELOPPEMENT DES CIRCUITS GABAÉRIQUES

Comme mentionné précédemment, les interneurones GABAérgiques constituent une population fortement hétérogène, ce qui complexifie également l'étude de leur développement. Le développement des circuits inhibiteurs peut être résumé en quatre grandes étapes : 1) la génération des sous-types d'interneurones, 2) la migration de ces interneurones, 3) la sélection de leur cible et finalement 4) la formation et maturation des synapses inhibitrices (Di Cristo, 2007, Jovanovic and Thomson, 2011).

### 1.2.2.1 GÉNÉRATION ET ORIGINE DES INTERNEURONES GABAÉRIQUES

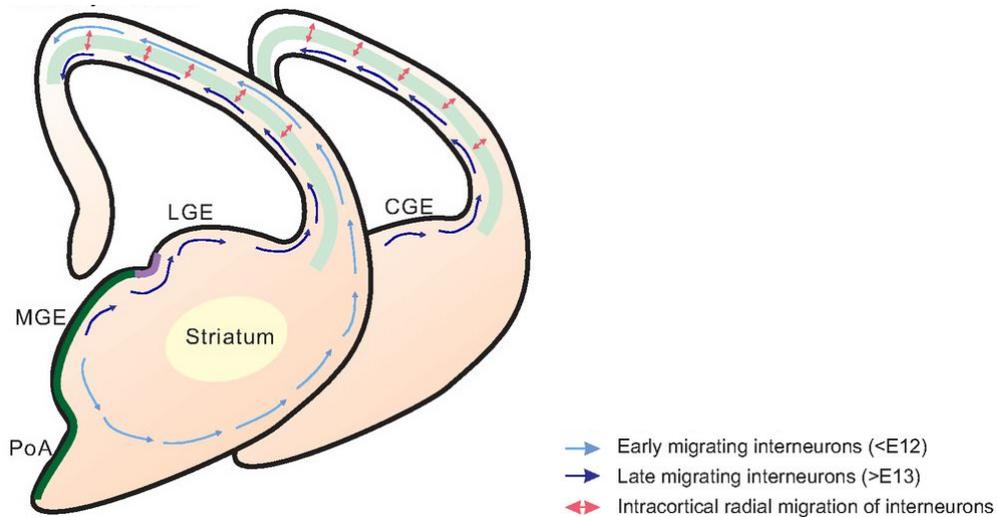
#### 1.2.2.1.1 ORIGINE SPATIALE DES INTERNEURONES

Alors que les neurones pyramidaux, qui sont originaires de la zone subventriculaire du télencéphale dorsale (pallium), migrent radialement le long du cortex en formation

(appelé plaque corticale) pour atteindre leur position laminaire, les interneurons GABAergiques, qui proviennent du télencéphale ventral (subpallium), doivent dans un premier temps migrer de manière tangentielle pour pouvoir atteindre le cortex (Anderson et al., 1997). Ce n'est qu'une fois arrivés au cortex que les interneurons migrent de manière radiaire pour atteindre leur position laminaire respective.

Plus précisément, les interneurons tirent leur origine principalement des éminences ganglionnaires, qui sont des structures transitoires du télencéphale ventral lors de l'embryogenèse. Celles-ci peuvent être subdivisées en trois zones distinctes selon l'axe caudal rostral, les éminences ganglionnaires latérales (LGE), caudales (CGE) et médianes (MGE) (Wonders and Anderson, 2006). Une faible proportion des interneurons sont également originaires de la région préoptique (Gelman et al., 2009). Ces régions donnent naissance à des sous-types différents d'interneurons dus à l'expression de différents facteurs de transcription (Kepecs and Fishell, 2014, Kessaris et al., 2014). À titre d'exemple, les interneurons exprimant la VIP ou la CCK sont originaires du CGE.

Le MGE, qui exprime le facteur de transcription homéotique *Nkx2.1*, produit les interneurons à somatostatine (SST) et à parvalbumine (PV) qui représentent la vaste majorité, soit autour de 70%, de l'ensemble des neurones GABAergiques au niveau du cortex (Marin et al., 2000, Xu et al., 2008). Pour cette raison, le reste de ce mémoire portera particulièrement aux interneurons dérivés du MGE. Chez les rongeurs, *Nkx2.1* est exprimé au niveau des MGE dès le 10<sup>ème</sup> jour embryonnaire (E10,5) (Sussel et al., 1999). Les cellules progénitrices générées par le MGE expriment par la suite d'autres facteurs de transcription contrôlant leur différenciation.



**Figure 1.2 Origine et migration des interneurones dérivée du facteur de transcription Nkx2.1.**

La route migratoire précoce des interneurones passe par la préplaque et forme plus tard une voie superficielle passant par la zone marginale (en bleu pâle). La route migratoire tardive des interneurones passe par la zone intermédiaire et forme par la suite une voie profonde passant par la zone subventriculaire (en bleu foncé). Adaptée de (Gao et al., 2013).

#### 1.2.2.1.2 ORIGINE TEMPORELLE DES INTERNEURONES

En plus d'être régulé de manière spatiale, le développement des interneurones GABAergiques est régulé de manière temporelle. Les interneurones dérivés du MGE sont en grande partie générés entre E11 et E17,5 (Sultan et al., 2013). Cependant, différents types d'interneurones sont générés à différents stades du développement (Kessariss et al., 2014, Butt et al., 2008). À titre d'exemple, les cellules en chandelier, qui dérivent du MGE, ne sont générées que tard durant la gestation, vers E15,5-E17,5 (Taniguchi et al., 2013).

#### 1.2.2.2 MIGRATION DES INTERNEURONES GABAERGIQUES

Une fois les interneurones générés, ceux-ci doivent migrer sur une longue distance pour arriver à leur destination finale. Cette migration des interneurones se fait de manière très organisée (Marin and Rubenstein, 2001). En effet, on peut distinguer deux routes migratoires principales des interneurones. Une première route originaire du MGE qui commence aussi tôt que E11,5 chez la souris et qui passe dorsalement au-dessus de la préplaque. Une deuxième, plus tardive, commençant vers E13-E15 et qui passe à travers la zone intermédiaire (IZ) (**Figure 1.2**). Plus tard dans le développement, les interneurones

rentrent dans le cortex par une voie superficielle passant par la zone marginale (MZ) et une voie profonde passant par la zone subventriculaire (SVZ) (Marin, 2013, Guo and Anton, 2014). Avant leur rentrée dans le cortex, l'expression de *Nkx2.1* dans ces progéniteurs est régulée à la baisse (Sultan et al., 2013), alors qu'elle est maintenue dans les progéniteurs destinés au striatum (Guo and Anton, 2014).

Bien que nos connaissances sur ce processus migratoire sont limitées, ils impliquent à la fois des facteurs chémoattractants et chémorepulsifs qui coordonnent la route que les interneurons doivent suivre (Di Cristo, 2007, Jovanovic and Thomson, 2011). En effet, il est probable que les interneurons quittent la zone progénitrice du MGE dû à l'action de facteurs chémiorépulsifs (Marin, 2013, Guo and Anton, 2014). Les facteurs répulsifs empêcheraient également que les interneurons destinés au cortex ne se propagent dans certaines structures comme le striatum (Marin et al., 2001). Par la suite, la migration des interneurons serait stimulée par différents facteurs comme le BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) et la NT4 (neurotrophine-4) (Polleux et al., 2002). Certaines expériences *in vitro* suggèrent que le GABA lui-même favoriserait la migration des interneurons (Jovanovic and Thomson, 2011).

#### 1.2.2.3 CROISSANCE AXONALE ET SÉLECTION DES CIBLES

Les différents sous-types d'interneurons sont en mesure d'innover divers domaines subcellulaires des cellules pyramidales (dendrites, soma, segment initial de l'axone). Les mécanismes permettant aux interneurons de cibler leur innervation sont essentiellement inconnus, mais il semble que ce processus soit indépendant de l'activité neuronale (Di Cristo et al., 2004). Ce serait plutôt des facteurs génétiques et des signaux moléculaires qui détermineraient l'organisation subcellulaire des synapses inhibitrices (Huang, 2006, Di Cristo, 2007). Par exemple, l'expression en gradient de certaines protéines d'adhésion cellulaire comme la neurofascine186 qui est recrutée par la protéine membranaire AnkyrineG détermine la capacité des interneurons GABAergiques en panier d'innover le segment initial de l'axone des cellules de Purkinje au niveau du cervelet (Ango et al., 2004). L'innervation des interneurons stellaires au niveau des dendrites des cellules de Purkinje serait déterminée par une autre protéine d'adhésion cellulaire, le CHL1 (Close Homologue of L1) (Ango et al., 2008).

#### 1.2.2.4 MATURATION DES SYNAPSES INHIBITRICES

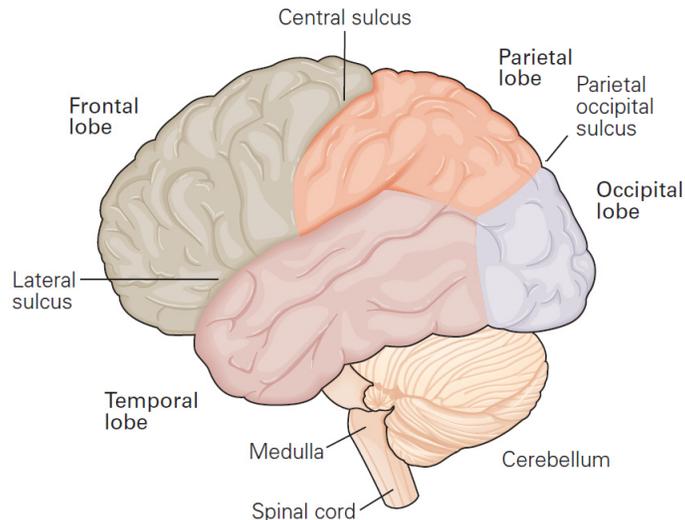
Contrairement aux cellules pyramidales, les interneurons GABAergiques ont une arborisation axonale très complexe et peuvent innover jusqu'à plusieurs centaines de neurones. Le développement de l'innervation GABAergique se poursuit après la naissance, et ce jusqu'à la fin de l'adolescence (Di Cristo, 2007). Contrairement à la sélection spécifique des interneurons de leur innervation sur les cellules principales, cette maturation postnatale des synapses inhibitrices est fortement dépendante de l'activité neuronale et de l'expérience. En effet, la privation sensorielle affecte grandement la maturation postnatale des réseaux inhibiteurs (Chattopadhyaya et al., 2004). Npas4, un facteur de transcription qui est régulé par l'activité neuronale, a été identifié comme étant impliqué dans le développement des synapses inhibitrices (Lin et al., 2008). Npas4 régule à son tour l'expression de gènes régulant la formation de synapses inhibitrices sur les cellules pyramidales. La libération de GABA par les interneurons régulerait elle-même le développement de leur innervation (Chattopadhyaya et al., 2007). En effet, la signalisation GABAergique permettrait de coordonner la maturation pré- et postsynaptique des synapses inhibitrices (Huang, 2009). Ce rôle est supporté par l'importance des récepteurs GABA<sub>A</sub> (voir section 1.5.3.2), dont la baisse d'expression affecte la formation des synapses inhibitrices (Li et al., 2005, Fritschy et al., 2006).

## 1.3 FONCTIONS ET ORGANISATION ANATOMIQUE DU NÉOCORTEX

### 1.3.1 ANATOMIE DU NÉOCORTEX

Le néocortex correspond à la couche superficielle des hémisphères cérébraux et est la composante du cerveau la plus récente du point de vue évolutif. Le néocortex est présent uniquement chez les mammifères et les capacités cognitives de l'humain sont grandement dues à son expansion (Rakic, 2009). L'expansion du néocortex humain a conduit au développement de nombreux sillons (ou sulci) et de gyri (ou circonvolutions cérébrales). Ceux-ci permettent de diviser le cortex en quatre lobes : frontal, pariétal, temporal et

occipital (**Figure 1.3**). Le sulcus central divise les lobes frontal et pariétal. Ceux-ci sont également séparés du lobe temporal par le sulcus latéral. Finalement, le lobe occipital est séparé du lobe pariétal par le sulcus pariéto-occipital. Chez les rongeurs, le cortex est lisse et ne présente pas de sillons ou de gyri (Kandel et al., 2000).



**Figure 1.3 Anatomie du cortex.**

Le cortex cérébral présente 4 lobes : frontal, temporal, pariétal et occipital. Adaptée de (Kandel et al., 2000)

### 1.3.2 SPÉCIALISATION FONCTIONNELLE DU NÉOCORTEX

L'idée d'une organisation du cerveau, et ainsi du néocortex, en différentes régions fonctionnelles distinctes avait été proposée en 1800 par Franz Joseph Gall et sa théorie de la phrénologie (Kandel et al., 2000). Bien que révolutionnaire dans l'idée que le cerveau était le centre des fonctions mentales qui relevaient de régions spécifiques, Gall a établi ces régions sans véritable base expérimentale. Cette vision *localisationniste* fut contestée par le physiologiste français Pierre Flourens vers la fin des années 1820s, qui prônait plutôt une vision *holistique* du cerveau, voulant que l'ensemble du cerveau soit impliqué dans toutes les fonctions mentales. Cependant, le cas célèbre de Phineas Gage suggéra fortement la présence d'une aire cérébrale impliquée dans la personnalité et la cognition (Harlow, 1868). Gage, qui était contremaître de chemin de fer, fut victime d'un terrible accident le 13 septembre 1848. Suite à une explosion, une barre de fer de plus d'un mètre de longueur et 3 cm d'épaisseur lui perfora le crâne. Gage reprit conscience rapidement et était en mesure de parler et de marcher. Gage ne montrait aucun déficit de langage ou

d'apprentissage, mais sa personnalité fut profondément changée. Alors qu'il était un homme sérieux et social, Gage est devenu suite à l'accident au contraire irresponsable et d'humeur changeante (Damasio et al., 1994). Son médecin John Harlow, proposa alors que ces changements étaient dus aux dommages subis dans le lobe frontal. À la même époque, les neurologues français Pierre Broca et allemand Carl Wernicke identifièrent les premières aires du cortex reliées à une fonction spécifique (Wernicke, 1874, Broca, 1861). Broca et Wernicke, qui ont tous les deux travaillé sur les troubles de la parole, identifièrent respectivement une aire corticale associée à l'élocution et une aire associée à la compréhension de la parole. En étudiant la cytoarchitecture du cortex (voir section 1.3.3) au début du 20<sup>e</sup> siècle, l'anatomiste allemand Korbinian Brodmann a pu identifier 52 aires fonctionnelles distinctes. (Brodmann, 1909). Par la suite, le neurochirurgien Wilder Penfield, en étudiant l'épilepsie, a pu identifier à l'aide de stimulation électrique les zones cérébrales consacrées aux sensations et à la motricité (Penfield and Rasmussen, 1950). Celles-ci avaient également plusieurs correspondances aux aires identifiées précédemment par Brodmann. Penfield a également pu observer que ces zones cérébrales étaient organisées de manière somatotopique (une topographie correspondant à la forme du corps) qui sont connues aujourd'hui comme étant les *homunculus* sensitif et *homunculus* moteur de Penfield.

Il était ainsi de plus en plus clair que le néocortex présentait une organisation fonctionnelle. Aujourd'hui, ces aires peuvent être distinguées comme étant primaires, secondaires ou associatives. Les aires primaires sont celles qui prennent en charge en premier le traitement sensoriel ou moteur. Les aires secondaires sont toujours unimodales, mais prennent en charge un niveau d'encodage plus avancé. Les aires associatives reçoivent de l'information provenant de différentes aires cérébrales et sont impliquées dans les traitements plus complexes (**Figure 1.4**) (Kandel et al., 2000).

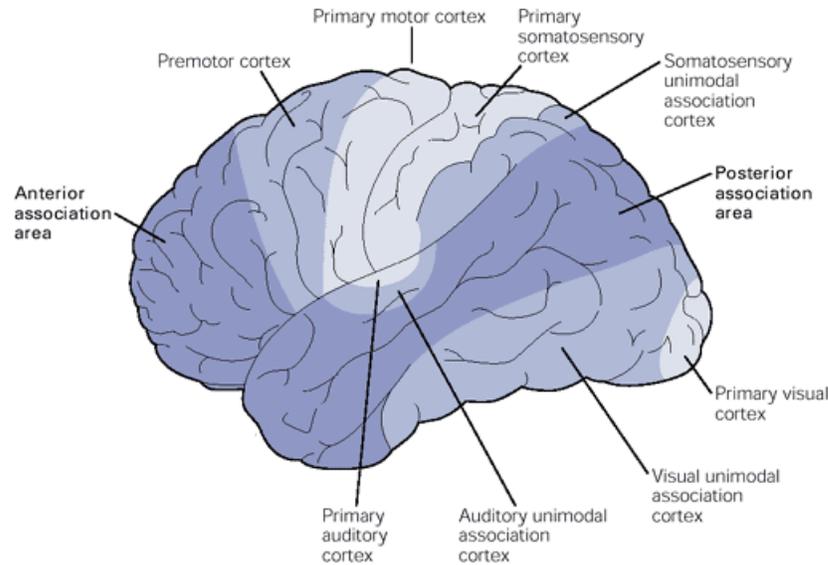
Le *cortex somatosensoriel primaire* (S1) est situé au niveau du gyrus postcentral et correspond aux aires 3a, 3b, 1 et 2 que Brodmann avait identifiées auparavant.

Le *cortex moteur primaire* (M1) est situé au niveau du gyrus précentral et correspond à l'aire 4 de Brodmann.

Le *cortex visuel primaire* (V1) est situé dans le lobe occipital et correspond à l'aire 17 de Brodmann.

Le *cortex auditif primaire* (A1) est situé dans le lobe temporal et correspond aux aires 41, 42 et 22 de Brodmann.

Le *cortex préfrontal* (aire associative antérieure) est impliqué dans les prises de décisions.



**Figure 1.4 Aires fonctionnelles du néocortex.**

Le Néocortex peut être subdivisé en aires fonctionnelles : le cortex somatosensoriel primaire (S1), le cortex moteur primaire (M1), le cortex visuel (V1), le cortex auditif primaire (A1) et le cortex préfrontal. Adaptée de (Kandel et al., 2000)

### 1.3.3 CYTOARCHITECTURE DU NÉOCORTEX

Le néocortex est organisé de manière fonctionnelle sous forme de colonnes corticales perpendiculaires à la surface (Mountcastle, 1997). Sous cette orientation, le néocortex possède une structure laminaire composée de six couches de feuilletts cellulaires. Cette organisation laminaire est due à la migration radiaire des neurones excitateurs pendant le développement embryonnaire (Gao et al., 2013). Ces six couches sont organisées de la manière suivante (**Figure 1.5**) (Kandel et al., 2000):

La couche 1, appelée *couche moléculaire*, est la plus superficielle et est située juste au-dessous de la pie-mère. Celle-ci est dépourvue de corps cellulaire de neurones pyramidaux, mais contient des neurones GABAergiques dispersés (Douglas and Martin, 2004). Elle contient les dendrites des neurones des couches plus profondes et les axones provenant d'autres régions cérébrales comme le thalamus qui traversent les différentes

couches corticales pour faire des connexions dans d'autres aires du cortex. La couche 1 est la cible principale des afférences dites «rétroactives (*feedback*)» entre ces différentes aires corticales (Thomson and Lamy, 2007).

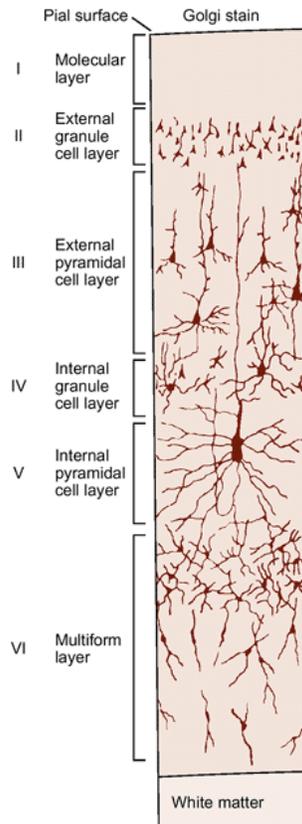
La couche 2, appelée *couche granulaire externe*, contient des cellules pyramidales et des petits neurones sphériques qui représentent divers types d'interneurones (Gentet, 2012).

La couche 3, appelée *couche pyramidale externe*, contient également des cellules pyramidales. Les neurones des couches 2 et 3 font des connexions locales et les afférences reçues au niveau de ces couches sont principalement cortico-corticales (Thomson and Lamy, 2007).

La couche 4, appelée *couche granulaire interne*, contient des petits neurones sphériques qui sont des interneurones GABAergiques ainsi que des cellules stellaires qui sont les cellules excitatrices présentes dans cette couche. C'est la principale couche qui reçoit les afférences sensorielles provenant du thalamus qui projettent sur les cellules stellaires (Thomson and Lamy, 2007).

La couche 5, ou *couche pyramidale interne*, contient principalement des cellules pyramidales. Celles-ci sont généralement de plus grande taille que celle de la couche 3 et représentent la principale voie de sortie du cortex. Tout comme au niveau des couches 2/3, les afférences y sont principalement cortico-corticales.

La couche 6 est appelée *couche multiforme* ou *couche polymorphique* due à sa composition très hétérogène, contenant différents interneurones, mais aussi des cellules pyramidales (Thomson and Lamy, 2007).



**Figure 1.5 Organisation laminaire du néocortex.**

Représentation des 6 couches du néocortex. Adaptée de (Kandel et al., 2000).

#### 1.3.4 PARTICULARITÉS DES COUCHES 2/3 DU CORTEX

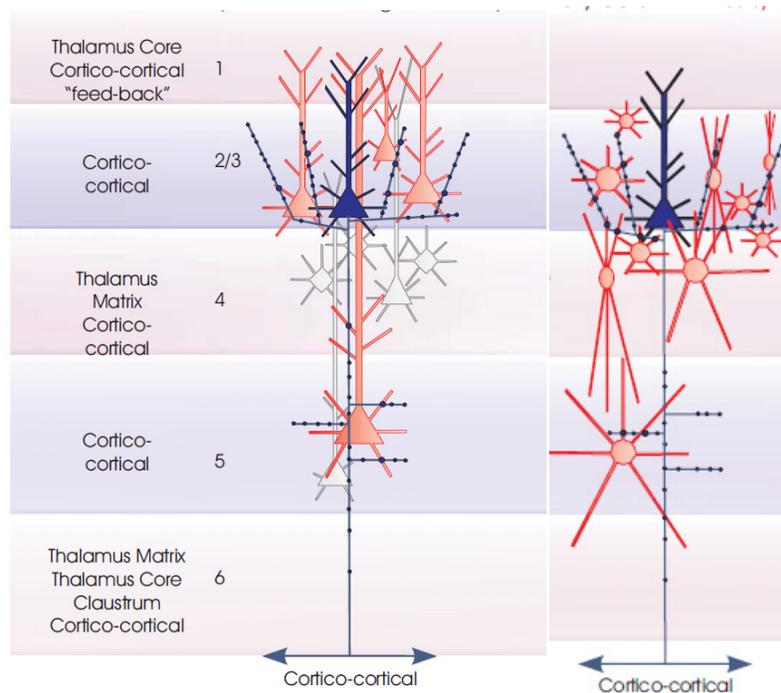
Les couches 2/3 sont la principale voie d'entrée du cortex. Pour cette raison, ce mémoire s'intéressera plus particulièrement aux connexions que reçoivent et projettent les cellules principales ainsi qu'aux différents types d'interneurones présents dans ces couches.

##### *1.3.4.1 LES CELLULES PRINCIPALES DE LA COUCHE 2/3*

Les neurones pyramidaux des couches 2/3 font principalement des connexions locales au niveau des épines dendritiques des cellules principales des mêmes couches où leurs axones sont densément ramifiés (Bannister, 2005). Leurs projections axonales ne réalisent pas de collatérales à travers les couches 4 et 6 et quittent le cortex via la substance blanche. Ces neurones projettent cependant un axone descendant pour attendre la couche 5 et faire des connexions locales (**Figure 1.6**) (Bannister, 2005, Thomson and Lamy, 2007).

Les cellules pyramidales des couches 2/3 font également des connexions sur les interneurones. Les interneurones ciblés sont majoritairement locaux, mais les cellules pyramidales des couches 2/3 projettent également sur les interneurones de la couche 5 (Thomson and Lamy, 2007).

Une importante proportion des connexions que reçoivent les cellules pyramidales proviennent des couches 2/3 de l'hémisphère controlatéral. Les cellules pyramidales de ces couches reçoivent également des afférences sensorielles thalamo-corticales au niveau de leurs dendrites basales situées dans la couche 4 (Thomson and Lamy, 2007).

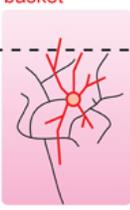
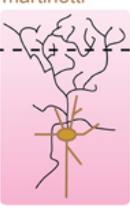
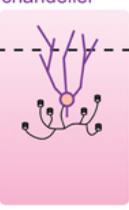


**Figure 1.6 Couches 2/3 du néocortex.**

Connexions des cellules pyramidales des couches 2/3 du néocortex. Gauche : connexions cellules pyramidales – cellules pyramidales; droit : connexions cellules pyramidales – interneurones. Bleu : neurones présynaptiques; rouge : neurones postsynaptiques. Adaptée de (Thomson and Lamy, 2007).

#### 1.3.4.2 FONCTION DES INTERNEURONES DÉRIVÉS DU MGE DE LA COUCHE 2/3

La description de l'ensemble des types d'interneurones présents dans le cortex dépasse l'objet de ce mémoire. Seuls les interneurones dérivant du MGE, qui représentent la majorité des interneurones, seront décrits ici (**Figure 1.7**).

	basket	martinotti	chandelier
			
MORPHOLOGY	SA: local, small or large, multipolar AA: local, large, can be trans-laminar	SA: local, deeper main dendrite AA: large, mainly to L1	SA: L1 + L2 AA: local, characteristic shape
CONNECTIVITY	Pre: L4 SC L2/3 PC, BC, BPC Post: perisomatic region of L2/3 PC BC	Pre: L2/3 PC Post: distal dendrites of L2/3 PC	Pre: L1 MpC, TC, CC Post: axon initial segment (AIS) of L2/3 PC
GENETIC PROPERTIES	PV CCK VIP Sst	Sst CCK NPY PV VIP	PV CRF Sst VIP
POSSIBLE FUNCTION	oscillatory regulation	dendritic gating	rectification

**Figure 1.7 Interneurones des couches 2/3 du néocortex.**

Propriété des interneurones dérivés des MGE présents dans les couches 2/3 du néocortex. SA : arborisation somatodendritique, AA : arborisation axonale, SC : cellule stellaire, PC : cellule pyramidale, BC : cellule en panier, BPC : cellule bipolaire. Adaptée de (Gentet, 2012).

*Les cellules en panier ( $PV^+$ ).* Les cellules en panier sont la principale source locale d'inhibition des couches 2/3 du néocortex. Elles innervent la partie périsonomatique des cellules pyramidales locales et reçoivent leur excitation des cellules pyramidales des couches 2/3 et des cellules stellaires à épines des couches 4 (Gentet, 2012). Dans le néocortex, ces interneurones peuvent innervent entre 200 et 1000 cellules pyramidales et décharger jusqu'à 400Hz (Kubota, 2014). Dû à leur niveau de connectivité et leurs propriétés cinétiques rapides, les cellules en panier ont comme rôle de réguler les

oscillations à l'intérieur des circuits corticaux locaux (Gentet, 2012). Notamment, les cellules en panier sont nécessaires pour générer les oscillations gamma (30-80Hz) du cortex qui sont impliquées dans l'augmentation de l'attention et du traitement sensoriel (Cardin et al., 2009, Hu et al., 2014, Sohal et al., 2009).

*Les cellules de Martinotti (SST<sup>+</sup>)*. Les cellules de Martinotti reçoivent l'excitation des cellules pyramidales locales et innervent les dendrites distales des cellules pyramidales des couches 2/3. Elles innervent également les autres types d'interneurones du cortex (Kubota, 2014). Il semble que ces interneurones jouent le rôle de «bouton d'allumage» dans le cortex somatosensoriel. Ils inhibent très efficacement les cellules pyramidales en absence de traitement sensoriel, mais leur inhibition dendritique est rapidement relâchée durant le traitement sensoriel des animaux en exploration. (Gentet, 2012).

*Les cellules en chandelier (PV<sup>+</sup>)*. Les cellules en chandelier sont un type particulier d'interneurone innervant uniquement le segment initial de l'axone des cellules pyramidales des couches 2/3. Dû à l'emplacement stratégique de leurs synapses au lieu de génération du potentiel d'action, le rôle des cellules en chandelier a longtemps été perçu comme étant un contrôle ultime de la décharge des neurones pyramidaux permettant la prévention d'une activité excitatrice excessive dans les réseaux neuronaux (Howard et al., 2005, Zhu et al., 2004, Woodruff et al., 2010). Cependant, leur rôle même en tant que neurones inhibiteurs est controversé, certaines études ayant reportées que les cellules en chandelier pouvaient dépolariser les neurones pyramidaux (Woodruff et al., 2009, Szabadics et al., 2006). Il se trouve que les cellules en chandelier pourraient avoir à la fois un effet dépolarisant et hyperpolarisant dépendamment du potentiel membranaire local ou de la concentration locale de Cl<sup>-</sup> intracellulaire des neurones pyramidaux (Woodruff et al., 2011). En fait, l'impact des cellules en chandelier sur l'intégration sensorielle pourrait dépendre du niveau d'excitation du réseau local. Lorsque le niveau d'activité du réseau est bas, les cellules en chandelier seraient davantage dépolarisantes, mais durant les périodes où le niveau d'activité du réseau est élevé, elles inhiberaient les cellules pyramidales. Les cellules en chandelier auraient donc un rôle de rectification de l'activité du circuit local, en la nivelant vers le haut ou le bas selon son état (Woodruff et al., 2011, Gentet, 2012).

## 1.4 FONCTIONS ET ORGANISATION ANATOMIQUE DE L'HIPPOCAMPE

### 1.4.1 RÔLE DE L'HIPPOCAMPE DANS LA COGNITION

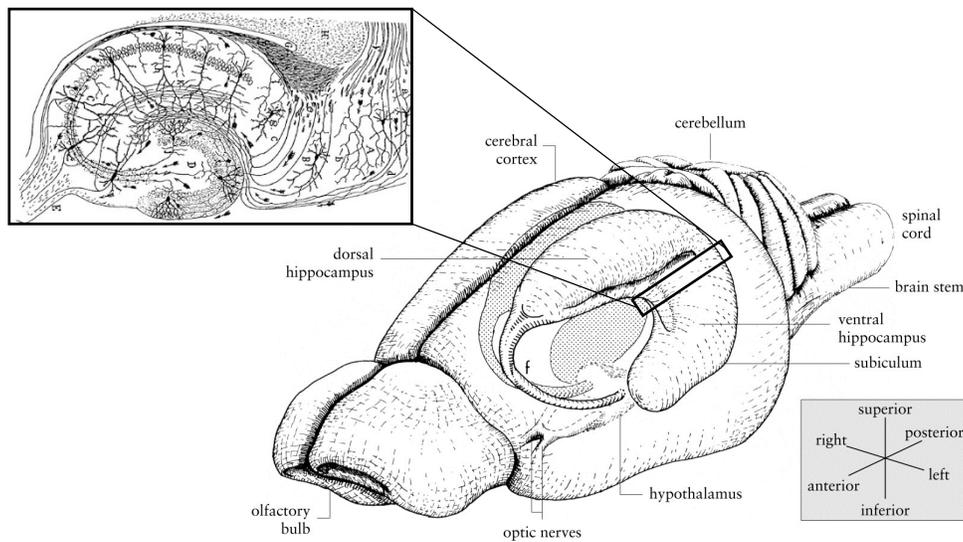
Les chercheurs ont démontré un intérêt marqué du rôle que jouerait l'hippocampe dans la mémoire lorsque la neuropsychologue canadienne Brenda Milner de l'Université McGill et le neurochirurgien américain William Scoville du Hartford Hospital ont rapporté en 1957 le célèbre cas du patient H.M. (Scoville and Milner, 1957). H.M., de son vrai nom Henry Gustav Molaison, souffrait d'épilepsie depuis l'âge de 9 ans lorsqu'il a subi un traumatisme crânien après avoir été heurté par une bicyclette. H.M. avait depuis cet accident un long historique de crises sévères. Malgré que H.M. avait reçu divers traitements aux anticonvulsivants, ses crises devenaient de plus en plus sévères et fréquentes (Scoville and Milner, 1957). Le 1<sup>er</sup> septembre 1953, H.M. a donc subi une opération expérimentale consistant à retirer de manière bilatérale les lobes temporaux médians où se trouvait le foyer épileptique. Bien que l'opération fut efficace dans l'éradication des crises épileptiques sévères, H.M. démontrait des déficits mnésiques marqués. H.M. était incapable de se souvenir des conversations qu'il venait d'avoir avec ses médecins. Cependant, H.M. ne démontrait pas de déficits d'intelligence. H.M. montrait également une amnésie rétrograde partielle pour les trois années avant son opération.

Le cas du patient H.M. souligne clairement l'importance de l'hippocampe pour la mémoire. Cependant, le fait que H.M. pouvait encore se souvenir des événements passés, mais pas de former de nouveaux souvenirs suggère que l'hippocampe ne serait pas le site d'entreposage de la mémoire. L'hippocampe serait plutôt le site de réorganisation et de consolidation de la mémoire qui sera par la suite entreposée ailleurs dans le néocortex (Squire and Zola-Morgan, 1991). La consolidation de la mémoire fait référence au processus initié après le premier traitement de l'information permettant l'entreposage permanent de la mémoire (Nadel and Moscovitch, 1997).

### 1.4.2 ORGANISATION ANATOMIQUE DE LA FORMATION HIPPOCAMPIQUE

L'hippocampe (**Figure 1.8**) se retrouve au sein d'une structure anatomique située dans le lobe temporal médian appelée la formation hippocampique. On peut y observer

quatre sous-régions distinctes, le gyrus dentelé (DG), la corne d'Ammon (elle-même subdivisée en CA1, CA2 et CA3) qui forme l'hippocampe à proprement parler, le complexe subiculaire (subdivisé en subiculum, presubiculum et parasubiculum) et le cortex entorhinal (van Strien et al., 2009, Amaral and Witter, 1989). Chez les rongeurs, la formation hippocampique est d'une forme allongée ayant l'allure d'un «C» dans son axe longitudinal. D'ailleurs, l'hippocampe doit son nom à sa ressemblance avec l'animal marin éponyme, aussi connu sous le nom de cheval de mer. L'axe longitudinal de l'hippocampe est généralement appelé l'axe septotemporal (Andersen et al., 2006). C'est sous cet axe que l'on peut distinguer l'hippocampe dorsal (du côté du pôle septal) et l'hippocampe ventral (du côté du pôle temporal) (Fanselow and Dong, 2010). L'axe orthogonal est appelé l'axe transverse et c'est sous cet axe que l'on peut observer la cytoarchitecture de l'hippocampe qui sera décrite ultérieurement (Andersen et al., 2006).



**Figure 1.8 Anatomie de l'hippocampe.**

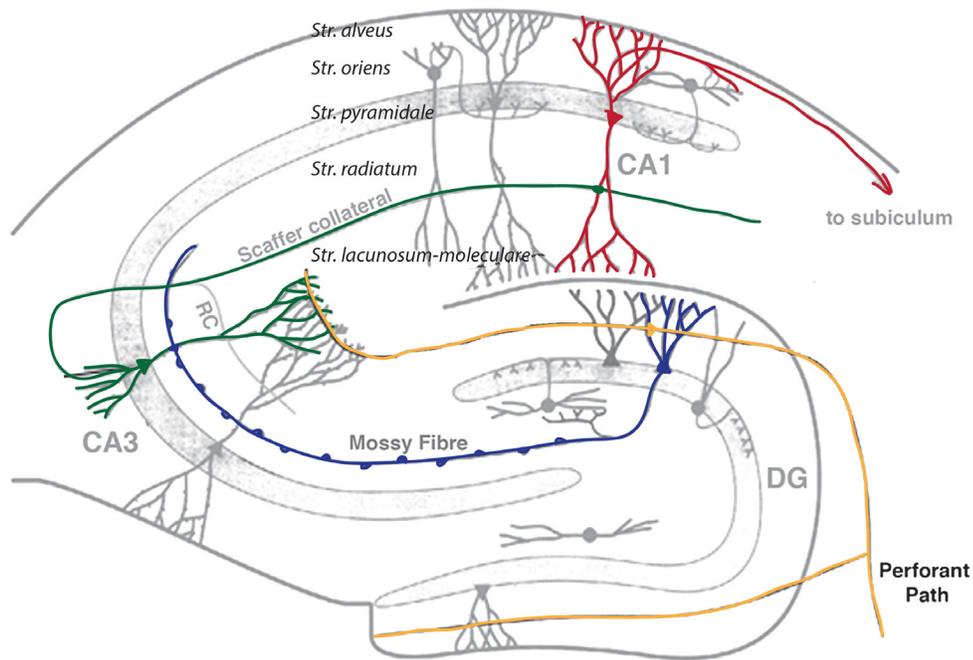
Représentation schématique de l'hippocampe dans le cerveau du rongeur et agrandissement sur le plan transverse. Adapté de (Cheung and Cardinal, 2005)

Le DG est une structure en forme de V ou de U composée de trois couches (Andersen et al., 2006). La couche moléculaire comporte les fibres de la voie perforante. La couche granulaire comporte les corps cellulaires des cellules granulaires qui sont les cellules principales du DG. La dernière couche, appelée couche profonde ou couche polymorphique, est composée de divers types neuronaux (Andersen et al., 2006). Les trois

composantes du complexe subiculaire possèdent des caractéristiques neuroanatomiques distinctes. C'est pourquoi elles sont souvent considérées comme étant des aires corticales indépendantes (Andersen et al., 2006). Le cortex entorhinal est à la fois la voie d'entrée principale de l'information neuronale de l'hippocampe et la porte de sortie de l'information hippocampique vers le néocortex (Andersen et al., 2006). Finalement, puisque la corne d'Ammon forme l'hippocampe à proprement parler, il convient de décrire son organisation cytoarchitecturale plus précisément.

#### 1.4.3 ORGANISATION CYTOARCHITECTURALE DE L'HIPPOCAMPE

Les trois champs CA1, CA2 et CA3 qui composent l'hippocampe ont été identifiés par le neuroanatomiste Rafael Lorente de No, terminologie qui est encore utilisée aujourd'hui (Lorente de No, 1934, Andersen et al., 2006). Le CA1 concerne la région étant opposée au DG et les deux sont séparés par la fissure hippocampique. Le CA1 est adjacent au subiculum et correspond à la *regio superior* décrite auparavant par Ramon y Cajal (Ramón y Cajal, 1911). Le CA3 correspond à la *regio inferior* de Cajal. L'existence du CA2 a été sujette à des controverses, mais Lorente de No l'a décrite comme étant la région entre le CA1 et CA3 (Lorente de No, 1934). Lorente de No a aussi décrit une région CA4 qui correspond à la couche polymorphique du DG, mais cette terminologie n'est que rarement utilisée.



**Figure 1.9 Organisation cytoarchitecturale de l'hippocampe.**

Représentation des couches du CA1 est du circuit trisynaptique de l'hippocampe. Adaptée de (Daumas et al., 2009).

La corne d'Ammon possède également une organisation laminaire pouvant être divisée en six ou sept couches (**Figure 1.9**) (Andersen et al., 2006):

Le *stratum lacunosum* et le *stratum moleculare* sont souvent regroupés en une seule et même couche sous l'appellation *stratum lacunosum-moleculare*. Il s'agit de la couche la plus profonde de l'hippocampe et est composée des touffes des dendrites apicales des cellules pyramidales. Elle contient également divers types d'interneurones (Freund and Buzsaki, 1996).

Le *stratum lucidum* n'est présent que dans la région CA3. Il s'agit d'une couche acellulaire située juste au-dessus de la couche pyramidale occupée par les fibres moussues, soit les axones provenant des cellules granulaires du DG.

Le *stratum radiatum* est adjacent de la couche pyramidale dans le CA1 et CA2, et adjacent du *stratum lucidum* dans le CA3. Il est composé des dendrites apicales des cellules pyramidales. Le *stratum radiatum* contient également les collatérales de Schaffer, soit les axones provenant des cellules pyramidales du CA3 formant des synapses sur les dendrites apicales des cellules pyramidales du CA1.

Le *stratum pyramidale* est composé des corps cellulaires des cellules principales. Ceux-ci sont plus compactés au niveau du CA1. Certains corps cellulaires d'interneurones PV<sup>+</sup> sont également présents.

Le *stratum oriens* est composé des dendrites basaux des cellules pyramidales et de plusieurs classes d'interneurones (Freund and Buzsaki, 1996).

Le *stratum alveus* est la couche la plus superficielle de l'hippocampe et est composé uniquement de fibres. Elle contient entre autres les axones des cellules pyramidales.

#### 1.4.4 LE CIRCUIT TRISYNAPTIQUE DE L'HIPPOCAMPE

D'une manière générale, le circuit trisynaptique de base de l'hippocampe est composé de trois voies excitatrices (**Figure 1.9**) : (1) les projections de la *voie perforante* provenant du cortex entorhinal vers les cellules granulaires du DG. Les axones des cellules granulaires forment ensuite (2) les *fibres moussues* qui projettent à leur tour vers les cellules pyramidales de la région du CA3 de l'hippocampe. Finalement, les axones de ceux-ci forment (3) les *collatérales de Schaffer* qui se projettent ensuite vers les cellules pyramidales du CA1 de l'hippocampe (Witter et al., 2000, Amaral and Witter, 1989). Les axones des cellules pyramidales du CA1 retournent vers le cortex entorhinal, ce qui fait de ce dernier à la fois la porte d'entrée et de sortie de l'information hippocampique.

##### 1.4.4.1 LA VOIE PERFORANTE

La *voie perforante* est formée des axones provenant des neurones situés dans la couche 2 du cortex entorhinal médian et latéral et forme des synapses excitatrices sur les dendrites des cellules granulaires du DG. Les axones provenant du cortex entorhinal latéral innervent le tiers distal des dendritiques du DG alors que celles provenant du cortex entorhinal médian innervent le tiers médian (Neves et al., 2008). Une proportion plus faible des projections provient des couches 5 et 6 du cortex entorhinal (Andersen et al., 2006). Des neurones de la couche 3 du cortex entorhinal projettent également vers le CA1 et le subiculum, formant la *voie temporoammonique* (Witter et al., 2000).

#### 1.4.4.2 LES FIBRES MOUSSUES

Les axones des cellules granulaires du gyrus dentelé forment les *fibres moussues*. Ceux-ci donnent naissance à de larges synapses en passant innervant les dendrites apicales proximales des cellules pyramidales du CA3. (Neves et al., 2008). Le CA3 de l'hippocampe constitue l'unique région du cerveau que le gyrus dentelé innerve (Andersen et al., 2006).

#### 1.4.4.3 LES COLLATÉRALES DE SCHAFFER

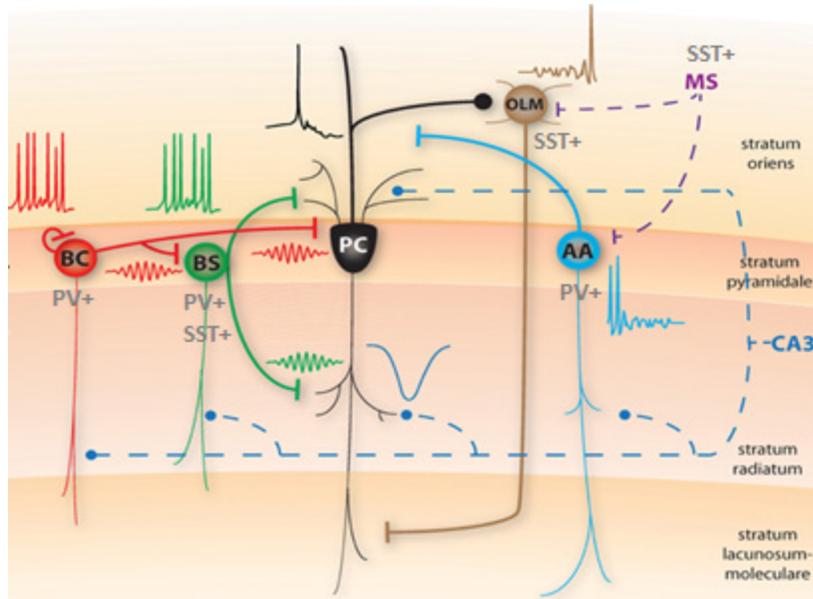
Les collatérales de Schaffer sont formées des axones des cellules principales du CA3 projetant vers le CA1 de l'hippocampe. Ces axones se projettent densément dans le stratum radiatum et le stratum oriens. Les collatérales de Schaffer innervent donc les dendrites apicales des cellules principales du CA1 dans le radiatum, mais aussi les dendrites basales dans l'oriens (Andersen et al., 2006). Les interneurons dont les dendrites sont localisées dans le radiatum reçoivent également des projections des collatérales de Schaffer permettant une inhibition proactive (Cutsuridis and Taxidis, 2013, Pouille and Scanziani, 2001).

#### 1.4.5 PARTICULARITÉS DE LA RÉGION CA1

La région CA1 de l'hippocampe constitue la principale voie de sortie de l'information synaptique. L'importance particulière de cette région dans la mémoire a été mise de l'avant en 1986 lorsque Zola-Morgan, S. et al. ont rapporté le cas du patient R.B. Suivant un épisode d'ischémie, le patient R.B. a développé une amnésie antérograde. Un examen histologique a révélé que R.B. était atteint d'une lésion restreinte au CA1 (Zola-Morgan et al., 1986). Cette étude montra l'importance de la région CA1 de l'hippocampe. Depuis, le CA1 est devenu le modèle de prédilection pour l'étude de la mémoire. Pour cette raison, ce mémoire s'attardera plus en détail sur les types cellulaires qui composent cette partie de l'hippocampe.

1.4.5.1 FONCTIONS DES INTERNEURONES DÉRIVÉS DU MGE DE LA RÉGION CA1 DE L'HIPPOCAMPE

Il existe au moins 21 types différents d'interneurones uniquement dans la région du CA1 de l'hippocampe (Klausberger and Somogyi, 2008). La description de chacun de ces types dépasse largement l'objet de ce mémoire. Seulement les interneurones PV<sup>+</sup> ou SST<sup>+</sup> qui dérivent du MGE seront décrits ici (**Figure 1.10**).



**Figure 1.10 Interneurones du CA1 de l'hippocampe.**

Représentation schématique des interneurones dérivés du MGE présents dans le CA1 de l'hippocampe. BC : cellule en panier, BS : cellule bistratifiée, AA : cellule en chandelier, OLM : cellule OLM, MS : cellule médio-septale. PC : cellule principale. Adaptée de (Cutsuridis and Taxidis, 2013).

*Cellules en chandelier ou axo-axoniques (PV<sup>+</sup>).* Les cellules en chandelier du CA1 de l'hippocampe peuvent innover jusqu'à 1200 cellules pyramidales (Somogyi and Klausberger, 2005). Elles reçoivent des connexions excitatrices provenant du cortex entorhinal et des collatérales de Schaffer provenant du CA3 de l'hippocampe (Cutsuridis and Taxidis, 2013, Klausberger and Somogyi, 2008). Les cellules en chandelier sont les premiers interneurones à répondre suivant l'excitation du CA3. Elles pourraient avoir comme rôle d'inhiber les cellules pyramidales pour préparer le réseau à recevoir l'information neuronale subséquente.

*Cellules bistratifiées (PV<sup>+</sup> et SST<sup>+</sup>)*. Les cellules bistratifiées sont appelées ainsi à cause de leur arbre axonal dans l'oriens et le radiatum. Elles innervent d'autres interneurons, dont les cellules en panier, et reçoivent des synapses excitatrices uniquement du CA3 (Somogyi and Klausberger, 2005, Klausberger and Somogyi, 2008). Elles représentent la deuxième classe d'interneurons qui répondent aux CA3 et auraient pour rôle de contrôler le rythme de décharge des cellules pyramidales (Cutsuridis and Taxidis, 2013).

*Cellules en panier (PV<sup>+</sup>)*. Elles peuvent recevoir entre 16 000 et 34 000 synapses dont la vaste majorité (94%) est excitatrice (Hu et al., 2014). Comme pour les cellules en chandelier, ces synapses excitatrices proviennent du cortex entorhinal et du CA3 (Cutsuridis and Taxidis, 2013, Klausberger and Somogyi, 2008). Elles sont la troisième classe d'interneurons à répondre au CA3. Les synapses inhibitrices proviennent essentiellement d'autres cellules en panier (Hu et al., 2014). Les cellules en panier sont impliquées à la fois dans l'inhibition rétroactive et proactive, inhibant les cellules pyramidales, mais aussi les cellules bistratifiées (Cutsuridis and Taxidis, 2013). Les cellules en panier du CA1 de l'hippocampe permettent une synchronisation à haute fréquence et sont impliquées dans la génération des rythmes thêta (4-12Hz) (Somogyi and Klausberger, 2005). Elles peuvent décharger à des fréquences très élevées jusqu'à plus de 150Hz. Cependant, leur activité varie fortement selon les oscillations de réseaux neuronaux.

*Cellules oriens-lacunosum-moleculare (O-LM) (PV<sup>+</sup> et SST<sup>+</sup>)*. Les cellules O-LM ont été nommées ainsi à cause de leurs corps cellulaires et/ou dendritiques horizontales dans l'oriens et leurs axones dans le *stratum lacunosum-moleculare*. Elles innervent la partie distale des dendrites des cellules pyramidales et reçoivent leur excitation du CA1 (Somogyi and Klausberger, 2005, Klausberger and Somogyi, 2008).

*Cellules hippocampo-septales ou médio-septales (SST<sup>+</sup>)*. Ces interneurons sont localisés dans l'oriens et innervent presque exclusivement d'autres types d'interneurons du CA1 dont les cellules en chandelier et les interneurons O-LM (Somogyi and Klausberger, 2005, Cutsuridis and Taxidis, 2013).

## 1.5 LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE

### 1.5.1 LA SYNAPSE

La notion de la synapse a été introduite pour la première fois par Sir Charles Sherrington en 1897 pour décrire le site de communication entre deux neurones (Foster and Sherrington, 1897). Le neurone transmettant l'information est défini comme étant le neurone présynaptique et celui qui la reçoit comme étant le neurone postsynaptique. Il existe deux types de synapses, la synapse électrique et la synapse chimique (Kandel et al., 2000). Ces deux modes de transmission synaptique ont divisé les neuroscientifiques en deux écoles de pensée durant les années 1940. Un mode de transmission synaptique purement électrique était proposé par John Eccles, étudiant de Sherrington (Eccles, 1945, Brooks and Eccles, 1947). Bien qu'existante, on sait aujourd'hui que ce mode de transmission est minoritaire dans le système nerveux.

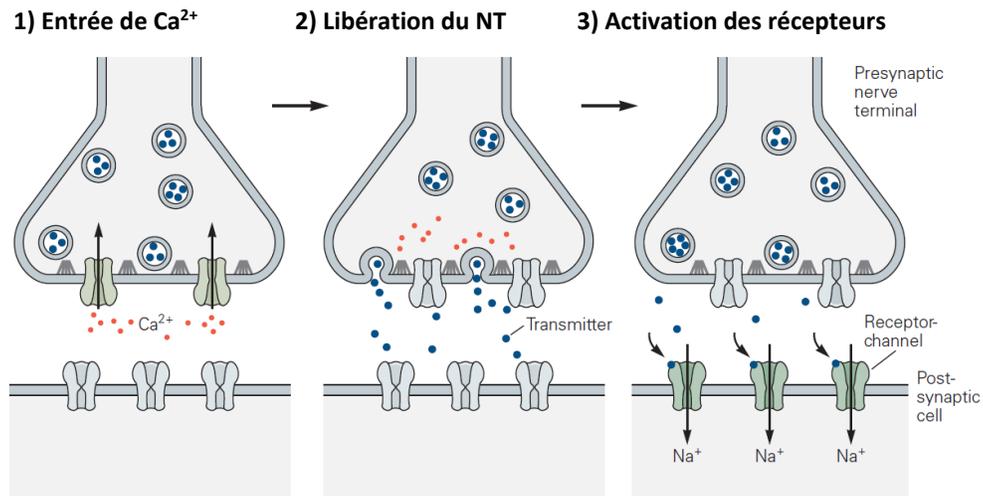
#### *1.5.1.1 LA SYNAPSE ÉLECTRIQUE*

La transmission synaptique électrique a été décrite en premier par Edwin Furshpan et David Potter dans les années 1950 chez l'écrevisse (Furshpan and Potter, 1957, Furshpan and Potter, 1959). La synapse électrique est caractérisée par un contact direct entre les membranes des neurones présynaptique et postsynaptique. L'information est transmise de manière quasi instantanée via la présence de jonctions communicantes (*gap junctions*) entre les deux neurones qui laisse passer directement les ions (Kandel et al., 2000). Cependant, la synapse électrique dépasse le sujet de ce mémoire et ne sera pas traitée davantage.

#### *1.5.1.2 LA SYNAPSE CHIMIQUE*

La synapse chimique est le type de transmission largement majoritaire dans le système nerveux. Contrairement à la synapse électrique, il n'y a pas de continuité structurelle entre le neurone présynaptique et le neurone postsynaptique, qui sont séparés par un espace de 20-40 nm appelée fente synaptique. La synapse chimique fait plutôt appel à la libération de messagers chimiques, les neurotransmetteurs, par le neurone présynaptique qui transmettent l'information via l'intermédiaire de récepteurs présents sur

le neurone postsynaptique (Kandel et al., 2000). Ce mode de transmission à l'époque d'Eccles était défendu par Henry Dale et Otto Loewi dont les travaux sur la modulation du nerf vague au niveau du cœur ont permis d'identifier le premier neurotransmetteur, l'acétylcholine (appelée *vagustoff* à l'époque) (Dale, 1914, Loewi, 1921).



**Figure 1.11 La synapse chimique.**

Étapes de la transmission synaptique à la synapse chimique. NT : neurotransmetteur. Adaptée de (Kandel et al., 2000).

C'est cependant les travaux de Bernard Katz, à l'aide d'enregistrements intracellulaires, qui ont permis d'établir les mécanismes de la transmission par la synapse chimique. Katz, en étudiant la jonction neuromusculaire de la grenouille, a pu établir que la liaison de l'acétylcholine à son récepteur active des canaux ioniques qui engendrent un courant ionique à la plaque motrice (Fatt and Katz, 1951). Finalement, en 1967, Katz établit que la libération de neurotransmetteurs est dépendante de la présence d'ions calciques (Ca<sup>2+</sup>) (Katz and Miledi, 1967). La transmission à la synapse chimique pouvait alors être résumée essentiellement en trois étapes (**Figure 1.11**) (Kandel et al., 2000) :

1) Suivant l'arrivée du potentiel d'action à la terminaison présynaptique, il y a activation des canaux Ca<sup>2+</sup>-voltage dépendant, permettant l'entrée d'ions Ca<sup>2+</sup>.

2) L'augmentation de la concentration intracellulaire de Ca<sup>2+</sup> permet aux vésicules synaptiques de se fusionner avec la membrane présynaptique et de libérer leur contenu en neurotransmetteur dans la fente synaptique par un processus appelé exocytose.

3) Le neurotransmetteur, après avoir diffusé dans la fente synaptique, se lie à son récepteur présent sur la membrane postsynaptique. Ceci mène à l'ouverture ou la fermeture de canaux ioniques, causant par la suite une dépolarisation ou une hyperpolarisation de la membrane postsynaptique.

#### 1.5.2 LA LIBÉRATION QUANTIQUE DU NEUROTRANSMETTEUR

En étudiant la transmission synaptique à la jonction neuromusculaire, Bernard Katz observa également la présence d'activité spontanée au niveau du muscle lorsqu'aucune stimulation n'était présente au niveau du neurone moteur présynaptique (Fatt and Katz, 1951). De manière intéressante, ces potentiels miniatures de plaque motrice (mEPPs) avaient une taille minimale plus ou moins fixe même si la concentration extracellulaire de  $Ca^{2+}$  était augmentée. De plus, les mEPPs de plus grandes amplitudes correspondaient à des multiples de cette réponse minimale. La présence de ces mEPPs a mené Katz à formuler l'hypothèse de la libération quantique des neurotransmetteurs : les neurotransmetteurs seraient libérés en paquet avec une quantité fixe de neurotransmetteurs, le quantum (Del Castillo and Katz, 1954). Katz proposa alors que les vésicules présentes à la terminaison synaptique servaient à stocker les neurotransmetteurs et qu'une vésicule contiendrait un quantum de neurotransmetteurs.

L'exocytose de ces vésicules de neurotransmetteur est limitée aux «zones actives», ces régions denses de la membrane présynaptique où se concentrent également les canaux calciques. Il existe également deux pools de vésicules, un de libération et un de réserve. Les zones actives contiennent des vésicules prêtes à être libérées qui sont déjà fusionnées à la membrane présynaptique. Ces vésicules sont dites «amarrées» et sont libérées suivant un potentiel d'action. Les vésicules de réserve sont présentes à la synapse, mais ne sont pas connectées aux zones actives. Elles ont pour fonction de rétablir le pool de vésicule de libération (Kandel et al., 2000).

#### 1.5.3 LES RÉCEPTEURS DES NEUROTRANSMETTEURS

Les récepteurs des neurotransmetteurs peuvent activer directement ou indirectement des canaux ioniques. Dans le premier cas, on parlera alors de récepteurs

ionotropiques, dont le récepteur du neurotransmetteur est lui-même un canal ionique alors que dans le deuxième cas on parlera de récepteurs métabotropiques qui sont des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR). Ceux-ci, par l'intermédiaire de seconds messagers, peuvent activer (ou désactiver) des canaux ioniques (Kandel et al., 2000).

Bien qu'il existe de nombreux types de neurotransmetteurs différents, pour les besoins de ce mémoire nous allons nous attarder uniquement sur les récepteurs des deux principaux : le glutamate qui est le principal neurotransmetteur excitateur et le GABA qui est le principal neurotransmetteur inhibiteur.

#### *1.5.3.1 LES RÉCEPTEURS GLUTAMATERGIQUES*

Les récepteurs glutamatergiques de type AMPA (AMPA) et de type NMDA (NMDAR) sont les principaux types de récepteurs ionotropiques du glutamate et exercent une activité excitatrice. Ceux-ci ont été nommés selon les différents agonistes pouvant les activer, soit l' $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthylisozazol-4-propionate (AMPA) et le N-méthyl-D-aspartique (NMDA). Il existe également un troisième type de récepteur du glutamate, le récepteur de type kaïnate (KAR) qui est très semblable aux AMPARs dans ses propriétés. D'ailleurs, les AMPARs et KAR sont parfois classés comme des récepteurs non-NMDA. Cependant, les KAR ne seront pas traités davantage dans ce mémoire. Il existe également des récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluRs), qui peuvent exercer un effet excitateur ou inhibiteur dépendamment de la cascade de signalisation à laquelle ils sont couplés.

##### *1.5.3.1.1 LES AMPARS*

Les AMPARs sont des récepteurs-canaux hétérotétramérique perméables au sodium ( $\text{Na}^+$ ) et au potassium ( $\text{K}^+$ ). Puisqu'ils sont des canaux ioniques, les AMPARs constituent la principale source de la transmission excitatrice rapide. Il existe quatre sous-unités différentes des AMPARs, soit GluA1, GluA2, GluA3 et GluA4 (Traynelis et al., 2010). Certains AMPARs peuvent également conduire le  $\text{Ca}^{2+}$  en l'absence de la sous-unité GluA2 (Hollmann et al., 1991, Liu and Savtchouk, 2012). Ces AMPARs perméables au  $\text{Ca}^{2+}$  sont présents au début du développement pour ensuite diminuer au cours de la maturation de cerveau. Dans l'hippocampe adulte, les AMPARs exprimés sont

majoritairement GluA1/GluA2 et dans une moindre mesure, GluA3/GluA2 (Wenthold et al., 1996).

#### 1.5.3.1.2 LES NMDARS

Les NMDARs sont des récepteurs-canaux perméables au  $\text{Na}^+$  et au  $\text{K}^+$ , mais également au calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) et jouent un rôle essentiel dans les voies intracellulaires. Les NMDARs ont la particularité d'être bloqués par le magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) en condition basale, ce qui leur confère une dépendance au voltage (Mayer et al., 1984, Nowak et al., 1984). En effet, le  $\text{Mg}^{2+}$  n'est expulsé du canal que lorsque la membrane se trouve dépolarisée. Cette propriété des NMDARs est particulièrement importante pour la modulation de la plasticité synaptique, phénomène impliqué dans les mécanismes d'apprentissage et de mémoire (voir section 1.6). L'activation des NMDARs requiert également la présence d'un co-agoniste, la glycine (Johnson and Ascher, 1987).

Sept sous-unités différentes ont été identifiées jusqu'à présent, soit une seule sous-unité GluN1, quatre sous-unités GluN2 (GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D) et deux sous-unités GluN3 (GluN3A, GluN3B) (Paoletti et al., 2013). Les NMDARs sont des hétérotétramères formés typiquement de deux sous-unités GluN1 et de deux sous-unités GluN2 ou d'une combinaison GluN2/GluN3. Alors que l'expression des sous-unités GluN1 reste inchangée du stade embryonnaire à l'âge adulte, celle des sous-unités GluN2, qui confèrent les propriétés fonctionnelles aux NMDARs, est fortement différente selon l'âge. Au stade embryonnaire, seules les sous-unités GluN2B et GluN2D sont exprimées, tandis que chez l'adulte, les sous-unités GluN2 les plus exprimées sont GluN2A et GluN2B. Le ratio de sous-unités GluN2B/2A diminue également de manière postnatale, due à l'augmentation de l'expression de la sous-unité GluN2A.

#### 1.5.3.1.3 LES MGLURS

Les mGluRs sont des GPCRs à 7 passages membranaires dimériques qui permettent une réponse synaptique lente via l'intermédiaire de seconds messagers intracellulaires. Il existe présentement 8 mGluRs identifiés, nommés de mGluR1 à mGluR8 qui ont été classés en 3 sous-familles basées sur leur similarité de séquence, leurs propriétés pharmacologiques et leurs mécanismes de transduction du signal. Les mGluRs de groupe

I incluent les mGluR1 et mGluR5, les mGluRs de groupe II incluent les mGluR2 et mGluR3 et finalement les mGluRs de groupe III incluent les mGluR4, mGluR6, mGluR7 et mGluR8 (Pin and Duvoisin, 1995, Conn and Pin, 1997).

Les mGluRs de groupe I sont couplés aux protéines  $G_q/G_{11}$  qui activent la phospholipase C (PLC). L'activation de la PLC mène à une augmentation de l'hydrolyse de la phosphoinositide et de la libération du  $Ca^{2+}$  intracellulaire. Les mGluRs de groupe II et de groupe III sont couplés avec la protéine  $G_{i/o}$  et inhibent l'adénylate cyclase, diminuant donc la production d'AMP cyclique (cAMP).

Les différents groupes de mGluRs sont également localisés différemment à la synapse. Ceux du groupe I sont essentiellement postsynaptiques tandis que ceux du groupe III sont essentiellement présynaptiques, mais ceux du groupe II sont à la fois pré- et postsynaptique (Niswender and Conn, 2010).

#### *1.5.3.2 LES RÉCEPTEURS GABAERGIQUES*

Les récepteurs du GABA peuvent essentiellement être subdivisés en deux catégories, les récepteurs  $GABA_A$  ( $GABA_{AR}$ ) qui sont ionotropiques et perméables aux ions chloriques ( $Cl^-$ ) et les récepteurs  $GABA_B$  ( $GABA_{BR}$ ) sont des GPCRs qui activent des canaux perméables aux  $K^+$  via l'intermédiaire de seconds messagers.

##### *1.5.3.2.1 LES $GABA_{AR}$ S*

En se basant sur les homologues de séquence, 7 familles de sous-unités des  $GABA_{AR}$ s ont été identifiées et ont été nommées  $\alpha(1-6)$ ,  $\beta(1-3)$ ,  $\gamma(1-3)$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon(1-3)$ ,  $\theta$  et  $\pi$  (Macdonald and Olsen, 1994, Jacob et al., 2008). Présentement, 18 sous-unités ont été identifiées. Les  $GABA_{AR}$ s sont des hétéropentamères formants un canal perméable au  $Cl^-$  généralement composés de deux sous-unités  $\alpha$ , deux sous-unités  $\beta$  et une sous-unité  $\gamma$  ou  $\delta$ . Les  $GABA_{AR}$ s étant des récepteurs canaux, ils permettent une hyperpolarisation rapide à la synapse. Cependant, certaines compositions de sous-unités forment des récepteurs  $GABA_{AR}$ s extrasynaptiques (en particulier la sous-unité  $\alpha 5$ ) qui permettent une inhibition tonique plutôt que phasique.

#### 1.5.3.2.2 LES GABA<sub>B</sub>RS

Les GABA<sub>B</sub>Rs sont principalement couplés aux protéines G<sub>iα</sub> et G<sub>oα</sub> et peuvent être pré- ou postsynaptiques (Bettler et al., 2004). Les GABA<sub>B</sub>Rs présynaptiques diminuent la libération de neurotransmetteurs en inhibant les canaux calciques via la sous-unité G<sub>βγ</sub>. Les GABA<sub>B</sub>Rs présynaptiques peuvent être des autorécepteurs qui contrôlent la libération de GABA ou des hétérorécepteurs qui inhibent la libération de glutamate (Gassmann and Bettler, 2012). Les GABA<sub>B</sub>Rs postsynaptiques, contrairement aux GABA<sub>A</sub>Rs, permettent une hyperpolarisation lente via des effecteurs intracellulaires médiés par les protéines G qui activent des canaux K<sup>+</sup> à rectification rentrante (GIRK ou Kir3). Les GABA<sub>B</sub>Rs sont des hétérodimères composés d'une sous-unité principale et une sous-unité auxiliaire. La sous-unité principale régule l'expression de surface et la distribution du récepteur, tandis que la sous-unité auxiliaire détermine la cinétique de réponse et la pharmacologie du récepteur (Gassmann and Bettler, 2012).

## 1.6 LA PLASTICITÉ SYNAPTIQUE À LONG TERME

En 1949, Donald O. Hebb, neuropsychologue canadien œuvrant à l'Université McGill à Montréal, émettait un postulat qui deviendra un des piliers de la neuroscience moderne. Hebb suggéra que lorsque deux neurones agissent de manière synchrone, les connexions synaptiques entre ceux-ci sont renforcées (Hebb, 1949). Le postulat de Hebb peut être aujourd'hui résumé ainsi : «des neurones qui déchargent en même temps sont des neurones qui se lient ensemble (*Cells that fire together, wire together*)» et serait la base de l'apprentissage. Cependant, l'idée d'un renforcement des connexions synaptiques comme mécanisme d'entreposage de la mémoire avait déjà été proposée par Ramon y Cajal au début de XXe siècle (Ramón y Cajal, 1911). La compréhension de ce processus de plasticité synaptique qui sous-tendrait l'apprentissage et la mémoire est donc essentielle pour l'étude de la déficience intellectuelle. Les prochaines sections seront donc consacrées aux mécanismes permettant cette plasticité synaptique.

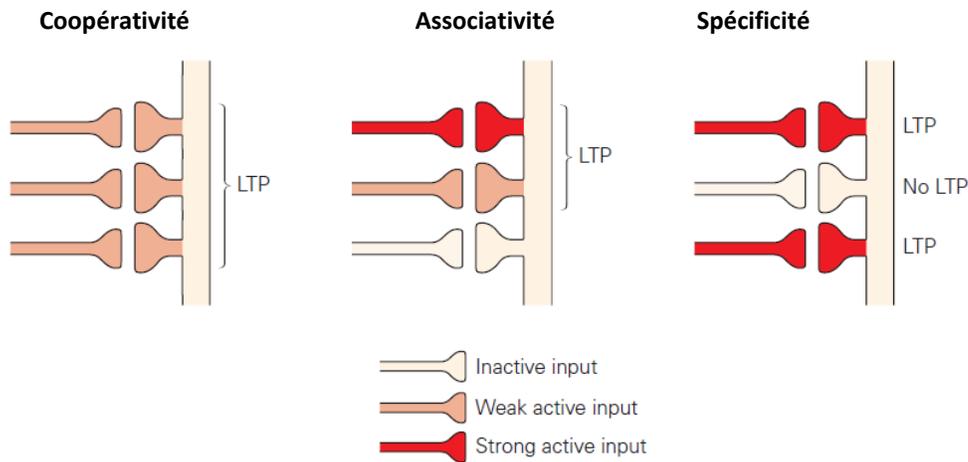
### 1.6.1 LA POTENTIALISATION À LONG TERME (LTP) NMDAR-DÉPENDANTE

Il faudra attendre jusqu'au début des années 1970 avant que les premières preuves expérimentales démontrent l'existence du principe hebbien. Les expériences sur le réflexe de retrait de l'aplysie menées par Eric Kandel suggéraient que des modifications synaptiques étaient impliquées dans l'apprentissage (Pinsker et al., 1970, Castellucci et al., 1970). C'est cependant en 1973 que Timothy Bliss et Terje Lomo rapportaient pour la première fois des changements durables de l'efficacité de la transmission synaptique *in vivo* au niveau du DG du lapin suivant une stimulation tétanique à haute fréquence (HFS) et de courte durée de la voie perforante (Bliss and Lomo, 1973). Étonnamment, cette augmentation de la transmission synaptique pouvait durer des jours, voire des semaines. Ils ont donné à ce phénomène le nom de potentialisation de longue durée (LLP, *long-lasting potentiation*), qui fut rapidement renommé potentialisation à long terme (LTP, *long-term potentiation*) (Douglas and Goddard, 1975). La LTP a été rapportée par la suite dans les autres voies excitatrices de l'hippocampe. Les chercheurs ont montré un intérêt marqué pour la LTP entre les collatérales de Schaffer et les cellules pyramidales du CA1 qui est devenu le principal modèle d'étude de la LTP (Malenka and Bear, 2004). Suivant les recherches effectuées au cours des 40 dernières années, il est aujourd'hui largement accepté que la LTP est la base cellulaire de la mémoire et sa dérégulation résulte en des déficits d'apprentissage (Kandel, 2001). La compréhension de la LTP est donc particulièrement importante dans le cadre de l'étude de la déficience intellectuelle, qui est caractérisée par des déficits d'apprentissage. C'est pourquoi nous allons voir plus en détail les mécanismes d'induction et d'expression de la LTP dans les prochaines sections.

#### 1.6.1.1 COOPÉRATIVITÉ, ASSOCIATIVITÉ ET SPÉCIFICITÉ

La LTP au niveau de la région CA1 de l'hippocampe est caractérisée par trois propriétés de base, soit la coopérativité, l'associativité et la spécificité (**Figure 1.12**) (Bliss and Collingridge, 1993). La coopérativité fait référence au fait qu'une stimulation de faible intensité n'est pas suffisante pour induire la LTP. Autrement dit, une stimulation doit être suffisamment forte pour dépasser un certain seuil afin que la LTP puisse être induite. La LTP est également associative, dans le sens qu'une stimulation de faible intensité d'une synapse en même temps qu'une stimulation de forte intensité résulte en une LTP au niveau

des deux synapses. Finalement, la LTP est dite spécifique, c'est-à-dire que les synapses qui ne sont pas activées ne seront pas potentialisées.



**Figure 1.12** Coopérativité, associativité et spécificité de la LTP.

Adaptée de (Kandel et al., 2000).

#### 1.6.1.2 MÉCANISME D'INDUCTION DE LA LTP NMDAR-DÉPENDANTE

Suivant la découverte de Bliss et Lømo en 1973, plusieurs laboratoires ont tenté d'élucider les mécanismes permettant l'induction de la LTP. En 1983, Gary Lynch observait que l'injection intracellulaire d'acide éthylène glycol tétra-acétique (EGTA), un chélateur de calcium, bloquait l'induction de la LTP dans l'hippocampe (Lynch et al., 1983). Puis, Richard Morris démontrait en 1986 que l'induction de la LTP était bloquée en présence d'acide 2-amino-5-phosphonovalérique (AP5), un antagoniste des NMDAR (Morris et al., 1986). À la même époque, des chercheurs démontraient la perméabilité au  $\text{Ca}^{2+}$  des NMDARs (MacDermott et al., 1986) et leur blocage par les ions  $\text{Mg}^{2+}$  en condition basale (Nowak et al., 1984, Mayer et al., 1984). Ce blocage par le  $\text{Mg}^{2+}$  confère aux NMDARs une dépendance au voltage puisque ce n'est que lorsque la membrane est dépolarisée que les NMDARs deviennent activés. Suite à ces observations, un modèle expliquant la LTP émerge ayant au centre le NMDAR comme «détecteur de coïncidence» (Bliss and Collingridge, 1993).

Le NMDAR est appelé ainsi, car deux événements coïncidents sont nécessaires pour son activation et donc l'induction de la LTP : 1) il doit avoir libération de glutamate par la terminaison présynaptique pour permettre l'activation du NMDAR et 2) la membrane

post-synaptique doit être suffisamment dépolarisée pour expulser les ions  $Mg^{2+}$  bloquant les NMDARs. Ce n'est cependant pas toutes les formes de LTP qui requiert la présence de NMDARs. En effet, la LTP observée entre les fibres moussues et les cellules pyramidales du CA3 n'est pas bloquée en présence d'AP5 (Zalutsky and Nicoll, 1990). Pour les besoins de ce mémoire, nous nous concentrerons uniquement sur la LTP NMDAR-dépendante, qui reste la forme prototypique de la plasticité synaptique (Malenka and Bear, 2004).

#### 1.6.1.2.1 RÔLE DE L'INHIBITION DANS L'INDUCTION DE LA LTP

Nous avons vu précédemment l'importance des interneurons GABAergiques dans diverses fonctions cérébrales. En 1983, Wigström et Gustafsson observaient que le blocage des récepteurs GABA facilitait grandement l'induction de la LTP (Wigstrom and Gustafsson, 1983). Il se trouve que les interneurons GABAergiques se trouvent également activés lors de l'induction de la LTP par HFS. Ainsi, l'hyperpolarisation subséquente des cellules pyramidales augmente le blocage des NMDARs par le  $Mg^{2+}$  (Bliss and Collingridge, 1993).

Il faut cependant voir la modulation GABAergique comme étant une composante intégrante de l'induction de la LTP. En effet, elle explique en grande partie l'efficacité de certains protocoles d'induction de la LTP comme la stimulation en bouffé à rythme thêta (TBS) (Larson et al., 1986, Larson and Munkacsy, 2014). Ce type de protocole est considéré plus physiologique que le protocole tétanique classique à 100Hz parce qu'il reproduit les rythmes thêta observés dans l'hippocampe chez les animaux en exploration (Buzsaki and Watson, 2012). Tout comme pour le HFS, la libération GABAergique induite par TBS active les GABA<sub>A</sub>R postsynaptiques, engendrant une inhibition proactive (*feed forward*) qui court-circuite la dépolarisation engendrée par les AMPARs. Cependant, le TBS permet également d'activer les autorécepteurs GABA<sub>B</sub> présents sur les terminaisons présynaptiques inhibitrices. Cette activation des autorécepteurs GABA<sub>B</sub> résulte en une rétroaction sur la libération de GABA (Davies et al., 1991). La libération de GABA suivant la première bouffée est donc considérablement diminuée. Cette deuxième bouffée et celles subséquentes sont dites amorcées (*primed*) et permettent d'engendrer une plus grande dépolarisation, facilitant donc l'activation des NMDARs et l'induction de la LTP (Larson and Munkacsy, 2014).

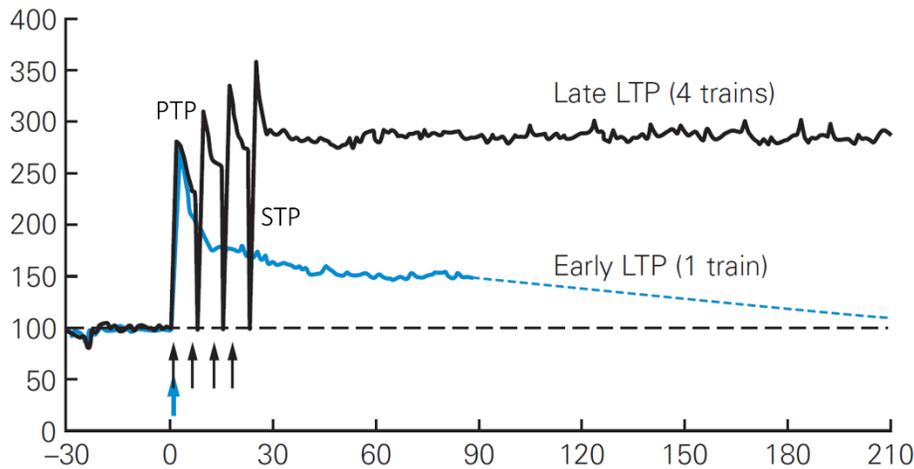
L'importance de cette modulation GABAergique dans l'induction dans la LTP, mais également dans l'apprentissage est clairement démontrée par plusieurs formes de déficience intellectuelle. En effet, la perte du gène *Nf1* uniquement dans les interneurons, qui régule la libération de GABA, engendre une hyper-inhibition qui est responsable des déficits en LTP et d'apprentissage observés chez la souris (Cui et al., 2008). Un autre exemple est le syndrome de Rett, où la perte du gène MeCP2 dans les interneurons cause une diminution de la transmission GABAergique, altère également l'expression de la LTP et reproduit en partie les déficits comportementaux (Chao et al., 2010).

#### 1.6.1.3 MÉCANISMES D'EXPRESSION DE LA LTP

La LTP NMDAR dépendante peut être donc induite grâce à une HFS à 100Hz durant une seconde, mais les mécanismes moléculaires permettant son expression restaient à être élucidés. Les études menées au cours des dernières décennies ont montré que ces mécanismes pouvaient être présynaptiques ou postsynaptiques (Bliss and Collingridge, 2013, MacDougall and Fine, 2014). Ces mécanismes seront passés brièvement en revue.

La LTP des synapses CA3-CA1 peut d'abord être divisée en trois phases (**Figure 1.13**). La phase de potentialisation observée durant la première heure après l'induction est appelée potentialisation à court terme (*short-term potentiation*, STP). La LTP en elle-même peut par la suite être divisée en deux phases : une phase précoce, la e-LTP (*early-LTP*) qui est dépendante de l'activité des kinases et une phase tardive, la l-LTP (*late LTP*) qui est dépendante de la synthèse protéique (Andersen et al., 2006, Park et al., 2014). Cette synthèse protéique serait particulièrement importante pour la consolidation de la mémoire.

## Late vs early LTP



**Figure 1.13 Les phases de la LTP NMDAR-dépendante.**

La LTP peut être divisée en trois phases : une phase de plasticité à court terme, une phase précoce (e-LTP) et une phase tardive (l-LTP). La phase observée durant les premières secondes de la STP se nomme potentialisation post-tétanique (PTP). Adaptée de (Kandel et al., 2000)

### 1.6.1.3.1 LA POTENTIALISATION À COURT TERME (STP)

La STP n'est dépendante ni de l'activité des kinases, ni de la synthèse protéique et dure moins d'une heure (Andersen et al., 2006). La STP correspond à la grande augmentation de la réponse synaptique est observée après l'induction par HFS ou TBS et finit par décroître sur une période de plusieurs dizaines de minutes pour ensuite se stabiliser (Park et al., 2014). La potentialisation observée durant les toutes premières dizaines de secondes suivant l'induction de la LTP est appelée potentialisation post-tétanique (PTP) (Regehr, 2012). La PTP serait essentiellement présynaptique et causée par une augmentation de la probabilité de libération de neurotransmetteurs due à l'accumulation présynaptique du  $Ca^{2+}$  intracellulaire. La PTP est donc indépendante de l'activation des NMDARs (Zucker and Regehr, 2002). La clairance subséquente de ce  $Ca^{2+}$  est responsable de la rapide décroissance de la PTP, qui ne dure tout au plus que quelques minutes. Puisque la STP dure plusieurs dizaines de minutes, un autre mécanisme doit être responsable de son expression. L'induction et l'expression de la STP seraient en partie dépendantes des mêmes NMDARs nécessaires pour l'expression de la LTP (Volianskis and Jensen, 2003, Volianskis et al., 2013). Il est possible que les autres NMDARs impliqués soient extrasynaptiques ou présynaptiques. L'activation de ces NMDARs augmenterait alors la

probabilité de libération du glutamate qui serait responsable de la STP (**Figure 1.14**) (Park et al., 2014).

#### 1.6.1.3.2 LA PHASE PRÉCOCE DE LA LTP (E-LTP)

Le site d'expression de la LTP a été longtemps sujet de débats et de controverses au cours des dernières décennies. Certaines observations suggéraient d'avantage des mécanismes présynaptiques alors que d'autres supportaient plutôt des changements postsynaptiques (MacDougall and Fine, 2014). Il est aujourd'hui généralement admis que la LTP serait essentiellement post-synaptique dans le CA1 de l'hippocampe (**Figure 1.14**) (Park et al., 2014, Bliss and Collingridge, 2013, Granger and Nicoll, 2014). Un élément clé dans l'expression de la LTP est l'influx de  $\text{Ca}^{2+}$  suivant l'activation des NMDARs. En effet, le  $\text{Ca}^{2+}$  est connu pour être en mesure d'activer plusieurs protéines, dont les kinases, des enzymes permettant la phosphorylation d'autres protéines. Ainsi, les premières kinases impliquées dans la LTP à avoir été identifiées sont la protéine kinase C (PKC) et la protéine kinase  $\text{Ca}^{2+}$ /calmoduline-dépendante II (CaMKII) (Malinow et al., 1988, Lovinger et al., 1987). D'autres kinases ont été identifiées par la suite, dont la protéine kinase A (PKA) (Frey et al., 1993) et la *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) (English and Sweatt, 1996). Le rôle de chacune de ces kinases dans l'expression de la LTP est fortement dépendant de l'âge (Yasuda et al., 2003) et sera abordé brièvement dans les sections suivantes.

##### 1.6.1.3.2.1 LA PROTÉINE KINASE C (PKC)

La PKC est la première kinase avoir été identifiée comme étant impliquée dans la LTP (Lovinger et al., 1987), mais les premiers inhibiteurs utilisés étaient non-spécifiques, ce qui laissait croire que l'effet observé pouvait être dû à d'autres kinases (Andersen et al., 2006). La présence de plusieurs isoformes de PKC complexifie également l'étude du rôle de cette dernière dans la LTP. Parmi ces isoformes, la protéine kinase M zêta ( $\text{PKM}\zeta$ ), une forme atypique de la PKC qui est constitutivement active, a été identifiée comme étant particulièrement importante pour l'expression de la LTP (Ling et al., 2002). Cependant, la perte de cette isoforme n'affecte pas l'expression de la LTP (Volk et al., 2013) et des travaux plus récents supportent davantage la  $\text{PKC}\gamma$ , une autre isoforme atypique de la PKC,

comme étant plutôt impliquée dans la LTP (Ren et al., 2013, Matt and Hell, 2013). La PKC $\gamma$  est activée par des lipides comme le phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PIP3). Ce dernier peut être produit par la phosphoinositide 3-kinase (P3K), qui est activée par l'influx calcique des NMDARs (Matt and Hell, 2013).

La PKC permet l'expression de la LTP notamment par l'incorporation de nouveaux AMPARs en phosphorylant la sous-unité GluA1 (Boehm et al., 2006). La PKC pourrait également réguler l'ouverture et le recrutement des sous-unités GluN2A et GluN1 des NMDARs à la membrane (Lan et al., 2001, Grosshans et al., 2002).

#### 1.6.1.3.2.2 LA PROTÉINE KINASE $Ca^{2+}$ /CALMODULINE-DÉPENDANTE II (CaMKII)

Suivant l'activation des NMDARs, les ions  $Ca^{2+}$  se lient à la calmoduline (CaM), formant un complexe  $Ca^{2+}$ /CaM. Ce complexe  $Ca^{2+}$ /CaM peut activer la CaMKII, un holoenzyme composé de 12 sous-unités formant deux anneaux hexamériques (Lisman et al., 2012). La CaMKII est une des protéines les plus abondantes du cerveau et constitue la composante principale de la densité postsynaptique (Lisman et al., 2002). De plus, suivant l'induction de la LTP, la CaMKII demeure active de manière soutenue. Pour ces raisons, la CaMKII est généralement considérée comme étant la composante majeure (mais pas unique) de l'expression de la LTP (Luscher and Malenka, 2012).

Une fois activée, la CaMKII est en mesure de phosphoryler la sous-unité GluA1 des AMPARs (Barria et al., 1997, Derkach et al., 1999). Cette phosphorylation permet dans un premier temps d'augmenter la conductance des canaux individuels des AMPARs déjà présents à la membrane postsynaptique. La CaMKII peut également phosphoryler la stargazine, une protéine de la densité postsynaptique qui permet la liaison des AMPARs. Une fois phosphorylée, la stargazine peut à son tour se lier à la PSD95, permettant donc l'insertion de nouveaux AMPARs à la synapse (Lisman et al., 2012). L'origine intracellulaire ou membranaire des nouveaux AMPARs insérés à la synapse au cours de la LTP est controversée. Il semble qu'au cours de la LTP, les AMPARs extrasynaptiques diffusent latéralement vers les synapses, mais des AMPARs intracellulaires sont également incorporés à la membrane afin de reconstituer un bassin de récepteurs extrasynaptiques (Makino and Malinow, 2009, Derkach et al., 2007).

L'insertion de ces AMPARs ne s'effectuerait pas uniquement aux synapses fonctionnelles lors de l'induction, mais également aux synapses dites «silencieuses». Ces synapses silencieuses possèdent uniquement des NMDARs et ne sont donc pas actives en condition basale (Hanse et al., 2013). Ces synapses peuvent être dé-silencées par l'insertion de nouveaux AMPARs au cours de la LTP (Isaac et al., 1995, Liao et al., 1995). Ces synapses silencieuses sont particulièrement présentes tôt durant le développement et contribueraient alors majoritairement à la LTP (Durand et al., 1996), mais elles sont également présentes chez les adultes (Sametsky et al., 2010).

#### 1.6.1.3.2.3 LA PROTÉINE KINASE A (PKA)

Cependant, la CaMKII n'est pas ou que faiblement exprimée à la naissance (Kelly and Vernon, 1985). Ainsi, un autre mécanisme doit être responsable de l'expression de la LTP tôt durant le développement postnatal. La LTP chez les animaux néonataux et juvéniles est donc dépendante non pas de la CaMKII, mais de la PKA (Yasuda et al., 2003, Hanse et al., 2013), suggérant un changement de la cascade de signalisation de la LTP s'effectue au cours du développement. Chez les animaux néonataux, le complexe  $Ca^{2+}/CaM$  se forme également suivant l'activation des NMDARs. Cependant, ce complexe  $Ca^{2+}/CaM$  active plutôt l'adénylate cyclase, menant à la production de cAMP qui active la PKA (Frey et al., 1993). Une fois activée, la PKA est en mesure de phosphoryler les sous-unités GluA4 des AMPARs, qui sont exprimées tôt dans le développement, ce qui mène à leur insertion au niveau de la membrane postsynaptique (Esteban et al., 2003, Zhu et al., 2000). Ainsi, la LTP développementale se distingue de la LTP adulte également par le type d'AMPA impliqué. La transmission glutamatergique est dépendante pratiquement uniquement des NMDARs au stade néonatal, avec une augmentation de la réponse des AMPARs au cours du développement (Petralia et al., 1999, Durand et al., 1996). L'insertion des AMPARs aux synapses silencieuses est ainsi le principal mécanisme d'expression de la LTP durant les 2 premières semaines après la naissance pour ensuite diminuer à un stade plus avancé (Hanse et al., 2013). La PKA peut également phosphoryler la sous-unité GluA1, qui est exprimée plus tard au cours du développement, mais elle doit être aussi phosphorylée par la CaMKII pour être incorporée à la membrane. Il est possible que la PKA ait pour rôle de former un bassin de AMPARs incorporable à la membrane pour

permettre ensuite à la CaMKII de les insérer à la membrane suivant l'induction de la LTP (Esteban et al., 2003).

#### 1.6.1.3.2.4 LA MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE (MAPK)

La voie des MAPK est une voie cellulaire conservée évolutivement qui est impliquée notamment dans plusieurs fonctions cellulaires comme la prolifération, la différenciation, la mort cellulaire (Pearson et al., 2001) et la plasticité synaptique (Thomas and Huganir, 2004). Cette voie possède la particularité d'impliquer une succession de différentes kinases en amont des MAPK. En effet, l'activation des MAPK nécessite leur phosphorylation par des MAP kinase kinases (MAP2K), qui sont elles-mêmes phosphorylées par des MAP kinase kinase kinases (MAP3K).

Parmi les différentes MAPK, celle de la voie de Ras-ERK1/2 (*Extracellular signal-Regulated Kinase 1/2*) est impliquée dans la plasticité synaptique (English and Sweatt, 1996, English and Sweatt, 1997). Ras fait partie d'une famille de protéines G qui agissent de manière cyclique et qui ont un rôle d'interrupteurs moléculaires (Ye and Carew, 2010). En effet, *Ras* permet d'activer des voies intracellulaires lorsque sous forme liée au GTP et de les inactiver lorsque sous forme liée au GDP. Cette alternance entre ces deux formes est possible par la présence des GEFs (*guanine-nucleotide exchange factor*) qui stimule la libération du GDP pour permettre la liaison du GTP et par la présence des GAPs (*GTPase activating proteins*) qui catalysent l'hydrolyse du Ras-GTP en Ras-GDP.

Au cours de la LTP, l'activation des NMDARs, qui sont directement couplés avec Ras-GRF (*Ras guanine nucleotide-releasing factor*), mène à l'activation de Ras (Farnsworth et al., 1995, Krapivinsky et al., 2003). Ras mène à son tour à l'activation de Raf (MAP3K), qui phosphoryle par la suite MEK (MAP2K), qui active finalement ERK (MAPK) (Thomas and Huganir, 2004). L'activation de la voie Ras-ERK est directement impliquée dans l'augmentation de la réponse des AMPARs due à l'insertion de nouveaux AMPARs possédant la sous-unité GluA1 (Zhu et al., 2002, Patterson et al., 2010).

Ras est également en mesure d'activer directement la phosphoinositide 3-kinase (PI3K) qui a pour rôle de phosphoryler des phospholipides liés à la membrane (Rodriguez-Viciana et al., 1994). Elle permet notamment la transformation du phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP<sub>2</sub>) en phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate (PIP<sub>3</sub>) qui est en

mesure d'activer plusieurs autres voies intracellulaires qui seront traitées ultérieurement dans ce mémoire.

Le rôle dans l'apprentissage de la voie de ras/ERK est d'une importance clinique. En effet, la NF1 est une condition monogénique caractérisée par la présence de déficience intellectuelle chez une proportion de patients causée par des mutations dans le gène *NFI* qui code pour une Ras-GAP. L'hyperactivité de la voie ras/ERK serait la cause des déficits cognitifs observés dans la NF1 (Costa et al., 2002).

#### 1.6.1.3.3 LA PHASE TARDIVE DE LA LTP (L-LTP)

La l-LTP est observée plusieurs heures après l'induction et peut durer plusieurs heures. L'induction de la phase tardive de la LTP (l-LTP) nécessite généralement plusieurs trains de HFS (Park et al., 2014) et, contrairement à la phase précoce, est dépendante de la synthèse protéique. En effet, la l-LTP est bloquée en présence d'anisomycine, un inhibiteur de la synthèse protéique, alors que la e-LTP reste inchangée en présence d'anisomycine (Frey et al., 1988). Elle implique la croissance synaptique, d'où la nécessité de nouvelles protéines pour assurer des modifications structurales et maintenir la LTP (Park et al., 2014). Ceci impliquerait à la fois des modifications présynaptiques, telle une augmentation des sites de libération de neurotransmetteurs, et des changements postsynaptiques telle l'insertion de nouveaux AMPARs (**Figure 1.14**).

##### 1.6.1.3.3.1 CREB

CREB (*CRE-binding protein*) est un facteur de transcription contrôlant l'expression des gènes sous le contrôle du promoteur CRE (*cAMP Response Element*). CREB peut être activé par ERK et PKA (Impey et al., 1998). L'influx calcique au cours de la LTP permet la translocation de PKA et d'ERK au noyau, mais également l'activation de la CaMKIV. Une fois CREB activée, elle permet la transcription de gènes dont les ARNm sont acheminés aux synapses pour être traduits en protéines nécessaires pour l'expression de la l-LTP.

##### 1.6.1.3.3.2 mTOR

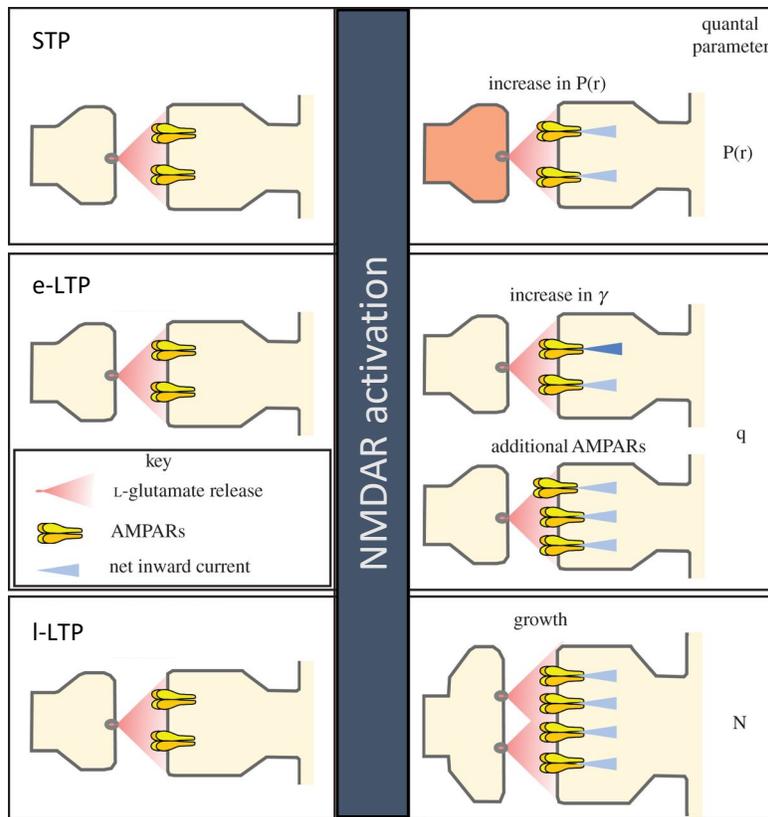
Plusieurs observations montrent que certaines formes de l-LTP ne requièrent pas de signalisation au noyau, mais dépendrait d'une synthèse protéique au niveau des dendrites

sans nécessiter de transcription de l'ADN. Cette synthèse protéique locale impliquée dans la plasticité synaptique dépendrait de la voie de mTOR (*mechanistic target of rapamycin*, autrefois *mamalian target of rapamycin*), une voie évolutivement conservée impliquée dans de nombreux processus cellulaires (Hay and Sonenberg, 2004). La dérégulation de la voie de mTOR a été associée à plusieurs maladies neuropsychiatriques (Costa-Mattioli and Monteggia, 2013). Pour cette raison, ce mémoire s'intéressera particulièrement à cette voie cellulaire.

mTOR est une protéine faisant partie de la famille des PI3K-kinase et existe sous deux complexes distincts, mTORC1 et mTORC2. Alors que mTORC1 est impliqué dans le contrôle de traduction protéique, mTORC2 est impliqué dans la régulation de la dynamique de l'actine (Costa-Mattioli and Monteggia, 2013). mTORC1 favorise la synthèse protéique en phosphorylant et inactivant 4E-BP (*eukaryotic initiation factor 4E-binding proteins*), un répresseur de la traduction des ARN messagers (ARNm), et en phosphorylant et activant les p70 S6 kinases 1/2 (S6K1/2) (Hay and Sonenberg, 2004).

L'inactivation de 4E-BP par mTORC1 cause sa dissociation d'eIF4E (*eukaryotic translation initiation factor 4E*), permettant ainsi la formation du complexe eIF4F, un complexe protéique impliqué dans l'initiation de la traduction en recrutant les ribosomes aux ARNm. Ce complexe est composé de la liaison d'eIF4E avec eIF4G, qui compétitionne avec le site de liaison commun de 4E-BP, et eIF4A (Buffington et al., 2014, Gkogkas et al., 2010). Une fois les S6K1/2 phosphorylées par mTORC1, celles-ci sont en mesure d'activer eIF4B, un cofacteur d'eIF4A, qui avec le complexe eIF4F, facilite le recrutement de ribosomes aux ARNm (Gkogkas et al., 2010).

La voie de mTORC1 peut être notamment être activée par ERK, qui peut activer S6K et inactiver TSC2 (*tuberous sclerosis complex 2*). TSC2 avec TSC1, forment un complexe qui réprime l'activité de mTOR (Costa-Mattioli et al., 2009). La voie de Ras/ERK serait également en mesure d'activer mTORC1 plus en amont via la PI3K. Cette dernière permet la conversion du PIP<sub>2</sub> en PIP<sub>3</sub> qui active PDK1 (*Phosphoinositide-dependent kinase-1*) qui phosphoryle et active à son tour la protéine Akt, un répresseur de TSC2 (Buffington et al., 2014).



**Figure 1.14 Mécanismes d'expression des trois phases de la LTP.**

Les mécanismes d'expression de la STP sont essentiellement présynaptiques et implique une augmentation de la probabilité de libération de neurotransmetteur. La e-LTP au niveau du CA1 de l'hippocampe est essentiellement postsynaptique. Elle implique une augmentation de la conductance des AMPARs mais également l'insertion de nouveaux récepteurs à la membrane postsynaptique. La I-LTP implique à la fois des changements pré- et postsynaptique. Adaptée de (Park et al., 2014)

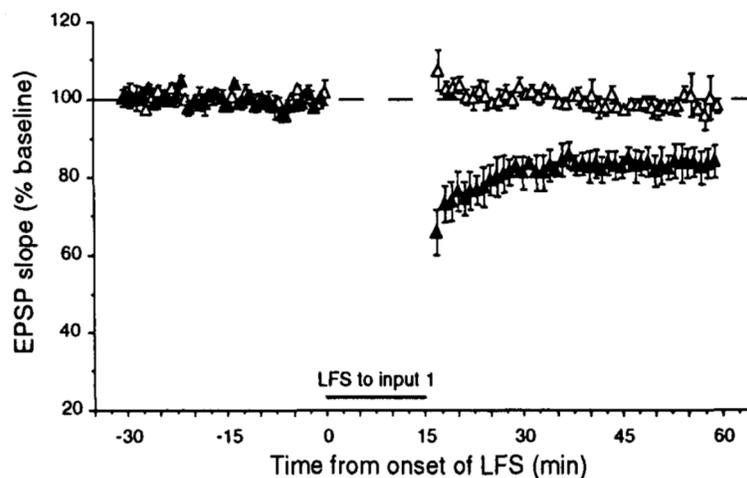
### 1.6.2 LA DÉPRESSION À LONG TERME (LTD) NMDAR-DÉPENDANTE

Si la LTP constitue un renforcement de la force synaptique, la dépression à long terme (LTD) peut être vue comme un affaiblissement de la synapse. Bien que la LTD a été observée pour la première fois vers la fin des années 1970 dans l'hippocampe (Dunwiddie and Lynch, 1978), ce n'est que plus d'une décennie plus tard que la LTD est devenue un domaine d'étude après que Mark Bear rapporte un protocole d'induction fiable de la LTD (**Figure 1.15**) (Dudek and Bear, 1992).

Une LTD dépendante des NMDARs est observée au niveau de la région du CA1 de l'hippocampe des rats néonataux ou juvéniles suivant une stimulation prolongée à basse fréquence (LFS) de 1Hz comprenant 900 stimuli (Dudek and Bear, 1992, Mulkey and

Malenka, 1992). Cependant, une forme de LTD dépendante des mGluRs de groupe I coexiste dans la région du CA1 de l'hippocampe (Oliet et al., 1997). Ces deux formes de LTD agissent par des mécanismes distincts.

L'expression de la LTD est également fortement dépendante de l'âge (Kemp et al., 2000). Par exemple, le protocole d'induction classique de LFS est inefficace pour induire la LTD chez les animaux adultes (Kamal et al., 1998). Il existe une transition vers une expression de la LTD dépendante des mGluRs chez les animaux adultes. L'expression de cette forme de LTD est possible notamment par une stimulation d'impulsions appariées de 50 ms d'intervalle à basse fréquence de 1Hz (PP-LFS) ou par une induction chimique (Oliet et al., 1997, Huber et al., 2000, Kemp and Bashir, 1999). Cependant, les mécanismes d'expression de la LTD sont forts complexes. En effet, il a été rapporté qu'il était possible d'induire une LTD dépendante des NMDARs chez les animaux adultes à l'aide d'un protocole PP-LFS, mais en augmentant l'intervalle entre les impulsions de 50 à 200 ms (Kemp et al., 2000).



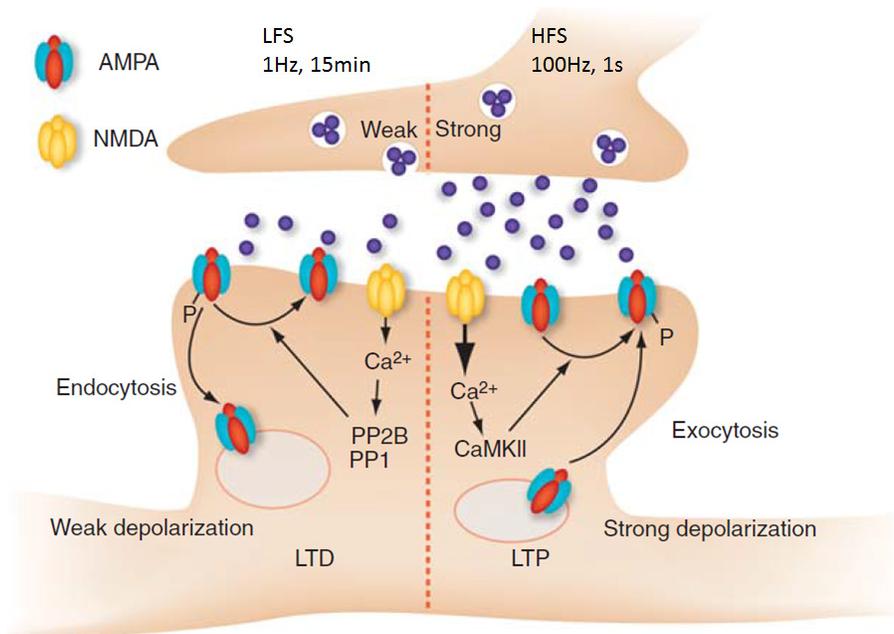
**Figure 1.15 LTD NMDAR dépendante.**

La LTD NMDAR dépendante peut être induite par un protocole de stimulation de 1Hz durant 15min. Adaptée de (Dudek and Bear, 1992)

### *1.6.2.1 MÉCANISME D'INDUCTION DE LA LTD NMDAR-DÉPENDANTE*

L'activation des NMDARs est nécessaire à la fois pour l'induction de la LTP et de la LTD et implique dans les deux cas un influx de  $Ca^{2+}$ . Un des mécanismes proposés pour

expliquer comment le même récepteur peut produire deux phénomènes totalement opposés était dû à la différence de concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  engendrée par les différents protocoles d'induction (Malenka, 1994). Alors qu'une HFS engendre une forte élévation de la concentration intracellulaire de  $\text{Ca}^{2+}$  de courte durée, une stimulation plus faible de longue durée cause également une élévation plus faible de  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire, mais qui est prolongée. Cette faible augmentation soutenue de  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire activerait préférentiellement non pas des kinases comme dans la LTP, mais des phosphatases (**Figure 1.16**) (Malenka, 1994). Supportant ce modèle, l'induction de la LTD est bloquée ou atténuée par l'application d'inhibiteur de phosphatases (Mulkey et al., 1993). Une explication alternative plus récente suggère plutôt que l'expression des différentes sous-unités des NMDARs déterminerait la direction de la force synaptique (Liu et al., 2004, Collingridge et al., 2010). Un ratio GluN2A/GluN2B élevé favoriserait l'expression de la LTP, alors qu'un ratio GluN2B/GluN2A élevé favorisait plutôt l'expression de la LTD (Yashiro and Philpot, 2008, Kim et al., 2005, Liu et al., 2004).



**Figure 1.16 Différences entre l'induction et l'expression de la LTD et LTP NMDAR-dépendante.**

L'induction de la LTD NMDAR-dépendante active des phosphatases à la place des kinases lors de l'induction de la LTP NMDAR-dépendante. Adaptée de (Luscher and Malenka, 2012).

#### 1.6.2.2 MÉCANISME D'EXPRESSION DE LA LTD NMDAR-DÉPENDANTE

L'expression de la LTD impliquerait à la fois des changements pré- et postsynaptiques (Collingridge et al., 2010). Les mécanismes présynaptiques impliqueraient la réduction de la probabilité de libération du glutamate qui pourrait être médiée par un second messager rétrograde comme l'oxyde nitrique (Stanton et al., 2003). Cependant, l'expression de la LTD serait principalement postsynaptique et, à l'opposé de la LTP, serait causée par une internalisation des AMPARs ou une diminution de leur conductance médiée par plusieurs phosphatases activées par les NMDARs. La LFS induisant la LTD induit également la libération du  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire qui pourrait activer des enzymes plus éloignées de la PSD que lors de la LTP (Nishiyama et al., 2000, Nakano et al., 2004).

##### 1.6.2.2.1 LA CALCINEURINE OU PROTÉINE PHOSPHATASE 2B (PP2B)

Tout comme pour la LTP, l'entrée de  $\text{Ca}^{2+}$  causée par l'activation des NMDARs mène à l'activation de la calmoduline, formant le complexe  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ . Cependant, au cours de la LTD, ce complexe active la protéine phosphatase 2B (PP2B), aussi appelée calcineurine. La PP2B a une sensibilité plus grande pour le complexe  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$  que la CaMKII et peut d'autre part être activée à de faibles concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire (Derkach et al., 2007). Cette plus grande sensibilité pourrait donc expliquer comment les NMDARs peuvent induire soit la LTP ou la LTD dépendamment du niveau de  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire. Une fois activée, la PP2B déphosphoryle et active à son tour la protéine phosphatase 1 (PP1) (Mulkey et al., 1993).

##### 1.6.2.2.2 LA PROTÉINE PHOSPHATASE 1 (PP1)

La PP1 peut déphosphoryler plusieurs protéines incluant la sous-unité GluA1 des AMPARs (Mulkey et al., 1993, Lee et al., 1998). La PP1 agit également sur le même site de phosphorylation de PKA de la sous-unité GluA1. Il est donc possible que la PKA et la PP1 contrôlent les propriétés d'ouverture des AMPARs possédant la sous-unité GluA1 (Banke et al., 2000). La PP1 pourrait également déphosphoryler et inactiver la CaMKII afin de prévenir l'expression d'une LTP (Kemp and Bashir, 2001).

#### 1.6.2.2.3 INTERNALISATION DES AMPARs

Plusieurs observations supportent que la LTD causerait également une internalisation des AMPARs, mais les mécanismes sont moins connus (Collingridge et al., 2010). Cette endocytose des AMPARs dépendrait plus particulièrement de la sous-unité GluA2 qui permet l'interaction des AMPARs avec plusieurs protéines cytoplasmiques dont NSF (*N-ethylmaleimide-sensitive factor*) (Luthi et al., 1999). Le NSF semble d'avoir pour rôle de permettre la stabilisation des AMPARs à la membrane postsynaptique. La dissociation de cette interaction permettrait ainsi l'internalisation des AMPARs au cours de la LTD. Cette hypothèse est supportée par le fait que le complexe protéique AP2 qui fait partie des protéines adaptatrices de clathrine (qui a pour rôle de permettre l'endocytose) se lie au même site d'interaction de NSF de la sous-unité GluA2 des AMPARs (Lee et al., 2002). Une autre protéine importante pour l'endocytose est la petite GTPase RalA (*Ras-related protein*) lorsqu'elle interagit avec sa protéine effectrice RalBP1 (*RalA-binding protein 1*). Or, RalBP1 serait également en mesure d'interagir directement avec AP2 (Jullien-Flores et al., 2000) et d'autres protéines postsynaptiques comme la PSD-95. De manière intéressante, la RalBP1 peut être déphosphorylée par la PP1 et rephosphorylée par PKA (Han et al., 2009). L'activation des NMDARs au cours de la LTD permettrait donc la déphosphorylation de RalBP1 par la PP1, qui serait alors en mesure de favoriser l'interaction d'AP2 à la sous-unité GluA2 des AMPARs au lieu de celle de NSF et d'initier l'endocytose des AMPARs.

D'autres voies intracellulaires seraient également impliquées dans la LTD. Par exemple, PICK1 (*Protein interacting with C-kinase 1*) permettrait l'expression de la LTD en compétitionnant avec d'autres protéines liant la sous-unité GluA2 des AMPARs comme ABP (*AMPA-binding protein*) et GRIP (*glutamate receptor interacting protein*) (Collingridge et al., 2010).

## 1.7 BASE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE D'UNE FORME DE DÉFICIENCE INTELLECTUELLE NON-SYNDROMIQUE CAUSÉE PAR *SYNGAPI*

### 1.7.1 *SYNGAPI* CHEZ L'HUMAIN

Comme nous l'avons vu dans la section 1.1, nos connaissances sur les bases génétiques de la déficience intellectuelle sont les plus limitées pour les formes autosomiques non-syndromiques (Basel-Vanagaite, 2007). Celles-ci constitueraient la majorité des cas de déficience intellectuelle, mais les gènes responsables nous sont essentiellement inconnus. Lorsqu'un aucun autre symptôme ne peut être utilisé pour le diagnostic, seules des techniques plus poussées permettent d'identifier les gènes responsables (Kaufman et al., 2010).

*SYNGAPI*, une protéine synaptique, est un des rares gènes autosomiques dominants qui a été associé à la déficience intellectuelle non-syndromique par notre groupe jusqu'à ce jour (Hamdan et al., 2009). Notre groupe a également montré que *SYNGAPI* cause la déficience intellectuelle par un mécanisme d'haploinsuffisance, signifiant que la perte d'un allèle résulte en l'impossibilité de l'allèle restant à produire une quantité de protéine suffisante pour assurer sa fonction normale (Berryer et al., 2013). Les individus atteints par ces mutations peuvent aussi présenter une épilepsie généralisée et un profil autistique (Hamdan et al., 2011, Klitten et al., 2011, Carvill et al., 2013, Writzl and Knegt, 2013, von Stulpnagel et al., 2015). De manière intéressante, plusieurs autres groupes ont observé que *SYNGAPI* était une cause fréquente de déficience intellectuelle, comptant pour 1-3% des cas non-syndromiques (**Tableau I**) (Vissers et al., 2010, Hamdan et al., 2011, Berryer et al., 2013, de Ligt et al., 2012, Rauch et al., 2012, Carvill et al., 2013). À titre d'exemple, le FXS, qui est la cause monogénique la plus fréquente de déficience intellectuelle, compte pour environ 2% des cas. La vaste majorité des gènes impliqués dans la déficience intellectuelle compte pour moins de 1% des cas. Cela fait donc de *SYNGAPI* un gène d'une importance clinique considérable dans le domaine de la déficience intellectuelle. C'est pourquoi cette forme particulière de DINS fera l'objet de ce mémoire.

**Tableau I. Études ayant associées *SYNGAP1* à la déficience intellectuelle**

Study	Cohort	Patients with pathogenic SYNGAP1 mutations	Mutation Yield
Hamdan et al. 2009	NSID	3/94 (Targeted sequencing)	3%
Vissers et al. 2010	NSID	1/10 (Exome sequencing)	10%
Hamdan et al. 2011	NSID	3/60 (Targeted sequencing)	5%
Berryer et al. 2012	NSID (*)	5/34 (Targeted & Exome sequencing)	15%
De Ligt et al. 2012	ID	1/100 (Exome sequencing)	1%
Rauch et al. 2012	NSID	2/51 (Exome sequencing)	4%
Carvill et al. 2013	Epileptic Encephalopathy	5/500	1%

## 1.7.2 MODÈLES EXPÉRIMENTAUX DE L'HAPLOINSUFFISANCE DE *SYNGAP1*

### 1.7.2.1 PROFIL D'EXPRESSION DE *SYNGAP1* CHEZ LA SOURIS

Chez les souris, l'expression de *Syngap1* est présente dans l'hippocampe, le cortex, le bulbe olfactif, le striatum et l'amygdale, mais absente au niveau du cervelet, du thalamus et du tronc cérébral (Porter et al., 2005). Dans le néocortex adulte, l'expression de *Syngap1* se limite aux couches les plus superficielles (couches 2/3) et entre les couches 4 et 5. *Syngap1* est exprimé dès le stade embryonnaire, aussi tôt que E8.5 au niveau du tube neural. À partir d'E14.5, *Syngap1* est exprimé au niveau du cortex, des ganglions de la base et du thalamus. À la naissance, l'expression de *Syngap1* est faible et atteint un pic entre le 7<sup>ème</sup> et 14<sup>ème</sup> jour postnatal (P7-P14) et elle se stabilise par la suite (Porter et al., 2005, Clement et al., 2012).

### 1.7.2.2 DÉFICITS COMPORTEMENTAUX

Des modèles de souris mutantes ayant des allèles nuls pour *Syngap1* (*Syngap1*<sup>-/-</sup>) ont été générés par trois groupes indépendants (Komiyama et al., 2002, Kim et al., 2003, Vazquez et al., 2004). Les trois groupes ont tous rapporté que les souris *Syngap1*<sup>-/-</sup> ne présentent pas d'anomalie anatomique à la naissance. Cependant, celles-ci meurent peu de jours après la naissance, suggérant que *Syngap1* est essentiel pour la survie postnatale (Komiyama et al., 2002, Vazquez et al., 2004). Les neurones de souris *Syngap1*<sup>-/-</sup> peuvent

être toutefois maintenus en vie en culture (Vazquez et al., 2004). Le cerveau des souris *Syngap1*<sup>-/-</sup> montre également une augmentation de l'apoptose neuronale à P0-P1 (Knuesel et al., 2005). Les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> sont viables et ont une taille et une longévité comparable aux souris sauvages. Cependant, ces souris démontrent plusieurs déficits comportementaux.

Les études comportementales suggèrent que les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> sont moins anxieuses que les souris sauvages (Muhia et al., 2010). Les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> démontrent également une plus grande activité locomotrice, suggérant qu'elles sont hyperactives. Les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> apprennent moins rapidement certaines tâches de mémoire spatiale et démontraient également des déficits dans la mémoire référentielle et la mémoire de travail (Komiyama et al., 2002, Muhia et al., 2010). Finalement, les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> montrent des déficits d'interaction sociale (Guo et al., 2009). L'ensemble des études comportementales sur les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> montre donc des déficits dans les tests cognitifs comparables à ce qui est observé en clinique, ce qui en fait un modèle de choix pour l'étude de cette forme de déficience intellectuelle (Komiyama et al., 2002, Kim et al., 2003, Muhia et al., 2010, Clement et al., 2012).

### 1.7.3 DESCRIPTION DE *SYNGAP1*

*Syngap1*, pour *Synaptic Ras GTPase-activating protein 1*, est une protéine exprimée exclusivement dans le cerveau au niveau des synapses excitatrices. Elle a été décrite pour la première fois en 1998 par deux groupes indépendants (Chen et al., 1998, Kim et al., 1998). *Syngap1* est composée d'un domaine d'homologie de pleckstrine (PH), un domaine C2, un domaine RasGAP et un domaine motif de liaison PDZ (QTRV) en C-terminal (**Figure 1.17**) (Chen et al., 1998). *Syngap1* est une des protéines les plus exprimées à la densité post-synaptique (PSD) après la CaMKII (Cheng et al., 2006) et interagit directement avec le domaine PDZ de PSD-95 et SAP102 via son domaine QTRV de sa partie C-terminale (Chen et al., 1998, Kim et al., 1998) et avec la sous-unité GluN2B des NMDARs (Kim et al., 2005). Cette interaction avec les NMDARs suggère que *Syngap1* est impliquée directement dans la plasticité synaptique à long terme des synapses excitatrices. *Syngap1* possède également plusieurs sites d'épissage alternatifs menant à la production de différentes isoformes tant en N-terminal qu'en C-terminal et interagissent

avec différents éléments de la PSD (Kim et al., 1998, Li et al., 2001, McMahon et al., 2012). L'isoforme *Syngap1-a1* est celui possédant un motif de liaison QTRV et est celui le plus largement étudié. L'appellation *Syngap1* utilisée dans ce mémoire fait référence à cette isoforme.



Figure 1.17 Composition de *Syngap1*.

#### 1.7.4 SYNGAP1 ET SES EFFECTEURS INTRACELLULAIRES

*Syngap1* est en mesure d'activer plusieurs voies intracellulaires impliquant plusieurs petites GTPases incluant celle de Ras, Rac et Rap. Ces voies seront vues brièvement dans les sections suivantes (**Figure 1.18**).

##### 1.7.4.1 VOIE DE SIGNALISATION DE RAS/MEK

*Syngap1*, de par son domaine RasGAP, présente une activité activatrice de Ras-GTPase qui régule négativement Ras au niveau des synapses excitatrices (Chen et al., 1998, Kim et al., 1998). Ras est une petite protéine GTPase qui agit de manière cyclique et fait figure d'interrupteur moléculaire (Ye and Carew, 2010). *Syngap1* régule ainsi la voie de Ras/ERK, une voie cellulaire importante qui est associée à l'insertion de nouveaux AMPARs au niveau de la membrane post-synaptique et donc à un renforcement de la force synaptique impliquée dans la LTP (voir section 1.6.1.4.2.4). De manière intéressante, la dérégulation de cette voie est également associée à une autre condition monogénétique pouvant causer la déficience intellectuelle, la NF1 (Costa et al., 2002).

*Syngap1* interagit directement avec la sous-unité GluN2B des NMDAR (Kim et al., 2005). Or, les différentes sous-unités des NMDARs semblent posséder des rôles différents. Alors que la sous-unité GluN2A augmente l'insertion de GluA1, la sous-unité GluN2B l'inhibe (Kim et al., 2005). Il est possible que GluN2B limite l'insertion de AMPARs à la membrane postsynaptique via son interaction avec *Syngap1* et par la modulation de la voie Ras/ERK (Kim et al., 2005, Rumbaugh et al., 2006). En effet, la surexpression de *Syngap1*

dans les neurones en cultures montre une diminution de la transmission synaptique alors que la diminution de son expression cause une augmentation de la force synaptique (Rumbaugh et al., 2006, Ozkan et al., 2014). Cette augmentation des AMPARs pourrait également expliquer la présence d'épilepsie chez certains patients atteints de déficience intellectuelle causée par l'haploinsuffisance de *SYNGAP1* (Writzl and Knecht, 2013, Klitten et al., 2011, Berryer et al., 2013). De manière intéressante, la diminution de *Syngap1* diminue l'expression LTP dans l'hippocampe sans affecter l'expression de la LTD (Komiyama et al., 2002, Kim et al., 2003) et ce malgré que la dérégulation de la voie de Ras augmente l'expression d'AMPARs (Rumbaugh et al., 2006). Une possibilité est que l'augmentation prématurée et aberrante d'AMPARs au niveau des synapses diminue la capacité du réseau neuronal d'augmenter davantage son activité au cours de la LTP par un phénomène d'occlusion.

L'activation du NMDAR met en jeu la phosphorylation et l'activation de la CaMKII, une autre protéine particulièrement importante pour l'expression de la LTP (voir section 1.6.1.4.2.3). La CaMKII est en mesure de phosphoryler le domaine C-terminal de *Syngap1* (Song et al., 2004, Oh et al., 2004, Araki et al., 2015). Cependant, plusieurs études contradictoires ont été publiées concernant la nature de l'interaction entre CaMKII et *Syngap1*. En effet, certaines études ont rapporté que la CaMKII inhibait *Syngap1*, alors que d'autres ont rapporté qu'elle l'activait plutôt (Chen et al., 1998, Chen et al., 2002, Krapivinsky et al., 2004, Rockliffe and Gawler, 2006, Yang et al., 2013). Il était généralement admis que l'entrée de  $Ca^{2+}$  suivant l'activation de NMDARs mène à l'autophosphorylation de la CaMKII, qui mène à son tour à l'activation de *Syngap1* afin de réguler précisément l'activité de Ras. Cependant, une étude récente propose un rôle différent de la CaMKII. Cette étude suggère plutôt que la phosphorylation de *Syngap1* par la CaMKII permet la dispersion de *Syngap1* de la synapse et par le fait même l'activation de la voie Ras/ERK (Araki et al., 2015). Cette dispersion rapide de *Syngap1* permettrait ainsi l'insertion d'AMPARs à la synapse et l'expression de la LTP. Un tel rôle est supporté par des observations similaires sur la dispersion de *Syngap1* de la PSD rapportées précédemment par un autre groupe de recherche (Yang et al., 2011).

#### 1.7.4.2 VOIE DE SIGNALISATION DE MTOR

Une étude récente suggère que *Syngap1* limiterait la synthèse protéique en réprimant la voie de mTOR (Wang et al., 2013), une voie qui est déjà associée à plusieurs troubles neurocognitifs. En effet, des mutations dans les régulateurs négatifs de mTOR sont associées à plusieurs formes de déficience intellectuelle telles que la sclérose tubéreuse et le FXS (Costa-Mattioli and Monteggia, 2013). *Syngap1* peut réguler mTOR via la voie de Ras-ERK, dont ERK phosphoryle et inhibe TSC2, un répresseur de mTOR (Krab et al., 2008). *Syngap1* pourrait réguler mTOR via la PI3K qui peut être activée par le Ras-GTP. La voie de la PI3K est en mesure d'activer mTOR en menant à l'activation d'Akt, qui inhibe également TSC2.

#### 1.7.4.3 VOIE DE SIGNALISATION DE RAC

La diminution d'expression de *Syngap1* mène également à une augmentation de l'activité de Rac (Carlisle et al., 2008, Carlisle and Kennedy, 2005). Rac, tout comme Ras, est une petite GTPase qui agit de manière cyclique et qui est notamment impliquée dans la régulation de la polymérisation du cytosquelette d'actine (Tapon and Hall, 1997). Il n'a pas été montré que *Syngap1* puisse hydrolyser directement Rac-GTP en Rac-GDP et il ne semble pas avoir d'interaction physique entre les deux. Cependant, *Syngap1* pourrait réguler indirectement la voie de Rac via Ras de deux manières : le Ras-GTP est en mesure de se lier et d'activer Tiam1 (*T-lymphoma invasion and metastasis 1*) qui est une RacGEF (Leeuwen et al., 1997). Le Ras-GTP peut aussi activer la PI3K qui active à son tour Tiam1 (Carlisle and Kennedy, 2005, Welch et al., 2003). La perte de *Syngap1* menant à une augmentation de Ras-GTP et peut également mener à une augmentation de l'activité de l'une ou l'autre de ses deux voies. Rac régule différentes voies intracellulaires impliquées dans plusieurs fonctions cellulaires, dont celle de cofilin, une protéine qui permet la réorganisation des filaments d'actine (Lappalainen and Drubin, 1997). Cofilin est phosphorylé et inactivé par la LIM kinase (LIMK) suivant l'activation Rac (Yang et al., 1998, Arber et al., 1998). De manière intéressante, cette phosphorylation de cofilin se trouve augmentée lorsque l'expression de *Syngap1* est diminuée, ce qui mène à une augmentation de la polymérisation de l'actine (Carlisle et al., 2008). Dans les neurones, le

remodelage du cytosquelette d'actine est notamment impliqué dans les changements dans la morphologie des épines dendritiques (Tada and Sheng, 2006, Sekino et al., 2007).

Or, il a justement été rapporté que *Syngap1* est également impliqué dans la formation et la maturation des épines dendritiques des neurones excitateurs (Carlisle et al., 2008, Vazquez et al., 2004, Aceti et al., 2014, Araki et al., 2015). La diminution d'expression de *Syngap1* dans les neurones en culture résulte notamment en la formation d'épines de plus grande taille, marquée essentiellement par une plus grande proportion d'épines en champignon (*mushroom*) (Carlisle et al., 2008). Les épines dendritiques peuvent être classées selon leur morphologie en trois groupes, les épines minces (*thin*), trapues (*stubby*) et en champignon (Tada and Sheng, 2006). *Syngap1* posséderait ainsi également le rôle de limiter la taille des épines dendritiques en régulant la voie de Rac/tiam1/cofilin durant le développement, mais également au cours de la LTP (Carlisle et al., 2008, Vazquez et al., 2004, Araki et al., 2015).

#### 1.7.4.4 VOIE DE SIGNALISATION DE RAP

*Syngap1* possède également une activité RapGAP via son domaine C2 (Pena et al., 2008). De manière inattendue, *Syngap1* inactive Rap plus efficacement que Ras (Pena et al., 2008, Krapivinsky et al., 2004). *Syngap1* est en mesure d'activer à la fois Rap1 et Rap2 (Krapivinsky et al., 2004) qui possèdent des fonctions différentes (Stornetta and Zhu, 2011). Alors que Rap1 contrôle l'internalisation des AMPARs durant la LTP, Rap2 contrôle l'internalisation des AMPARs durant la dépotentialisation. Une étude récente suggère que la balance entre l'activité RasGAP/RaGAP de *Syngap1* est contrôlée par les phosphorylases CaMKII et CDK5 (*cyclin-dependent kinase 5*) (Walkup et al., 2015). Alors que la phosphorylation de *Syngap1* par la CaMKII augmente davantage son activité Rap1 GAP, la phosphorylation par la CDK5 augmente davantage son activité RasGap.

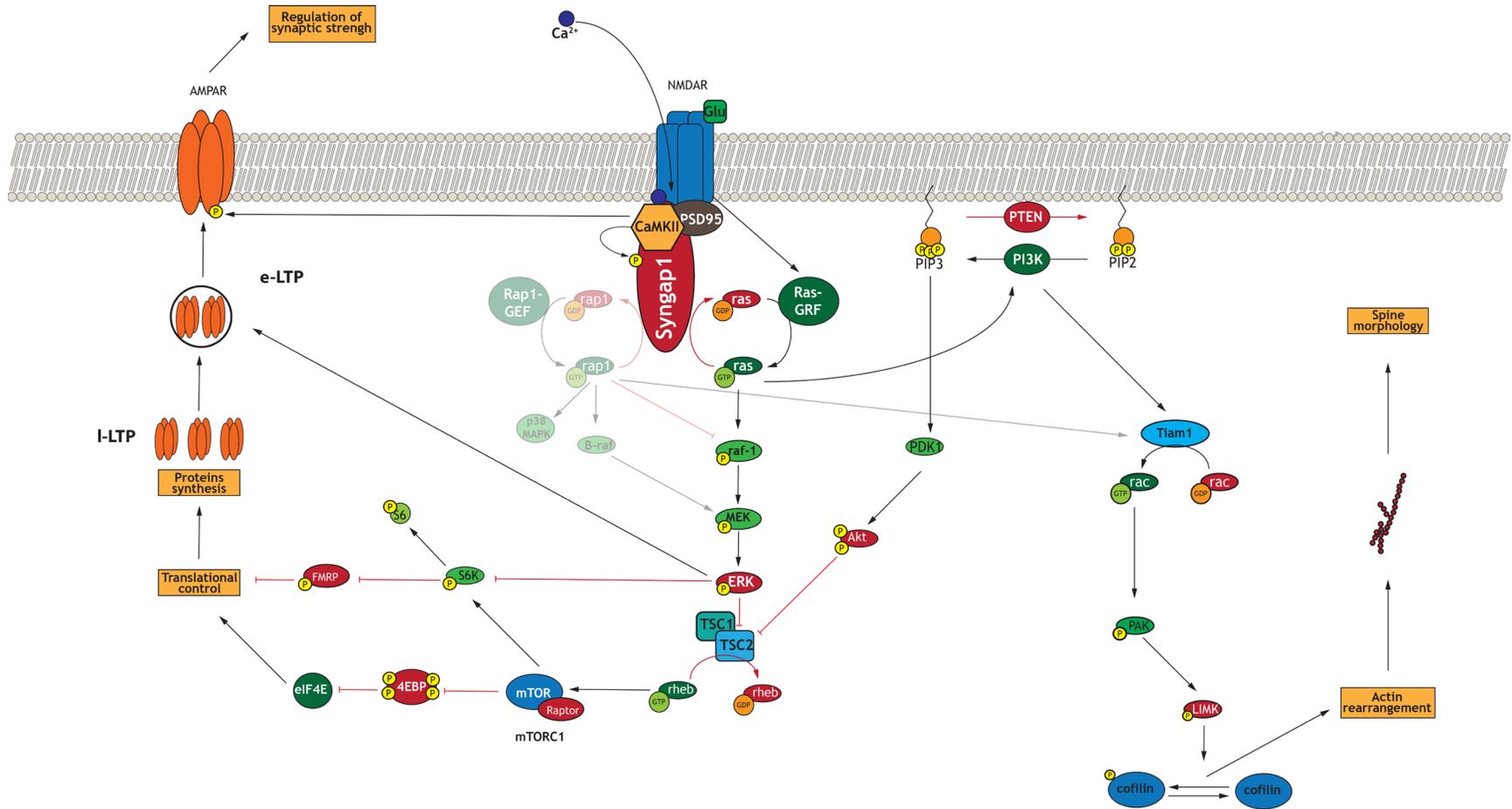


Figure 1.18. Voie de signalisation de *Syngap1*

## CHAPITRE II : BUT DE CE MÉMOIRE

### 2.1 CONTEXTE DE RECHERCHE

#### 2.1.1 CONTEXTE GÉNÉRAL

Notre groupe a donc découvert que des mutations dans *SYNGAPI*, qui code pour une protéine activatrice de GTPase régulant négativement Ras, sont une cause fréquente de déficience intellectuelle via un mécanisme d'haploinsuffisance (Hamdan et al., 2009, Berryer et al., 2013). Les souris hétérozygotes pour un allèle nul de *Syngap1* (*Syngap1*<sup>+/-</sup>) sont en bonne santé, mais présentent des anomalies de comportement et des déficits cognitifs (Komiyama et al., 2002, Clement et al., 2012). Certaines observations suggèrent que l'haploinsuffisance de *Syngap1* affecte le développement cérébral en perturbant l'activité et la plasticité des neurones excitateurs en accélérant la maturation de leurs synapses (Rumbaugh et al., 2006, Clement et al., 2012, Clement et al., 2013, Ozkan et al., 2014). La grande majorité des études sur *Syngap1* s'est également concentrée sur les neurones excitateurs.

Or, plusieurs groupes ont rapporté que *Syngap1* est également exprimé dans au moins une sous-population d'interneurones (Zhang et al., 1999, Moon et al., 2008, Muhia et al., 2012, Kozol et al., 2015). La fonction de *Syngap1* dans ces interneurones, si son expression est effectivement présente, est inconnue. Or, les interneurones jouent un rôle essentiel dans le modelage de l'activité neurale et dans les oscillations rythmiques impliquées dans diverses fonctions cérébrales comme la perception sensorielle, l'attention et la consolidation de la mémoire (Sultan et al., 2014, Bennett and Zukin, 2004). Cela suggère que la diminution de *Syngap1* dans les interneurones pourrait être impliquée dans les déficits cognitifs de la déficience intellectuelle.

## 2.1.2 CONTEXTE SPÉCIFIQUE

### 2.1.2.1 EXPRESSION DE SYNGAP1 DANS LES INTERNEURONES GABAÉRIQUES

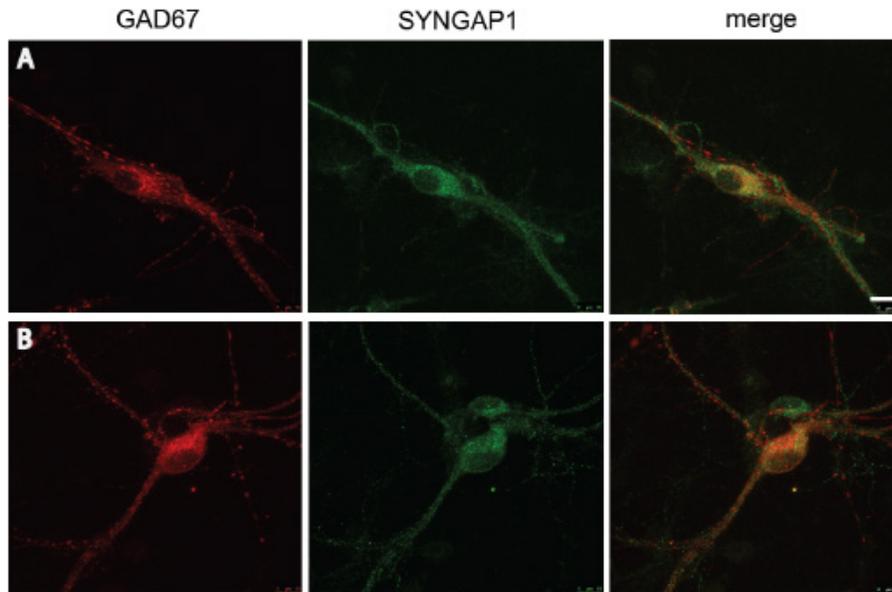
Notre groupe a été en mesure de confirmer que *Syngap1* est exprimé dans les neurones GABAérgiques du cortex en culture dissociée (**Figure 2.1**) marqués par colocalisation de GAD67, qui est spécifique des interneurones, et de *Syngap1*.

### 2.1.2.2 SYNGAP1 RÉGULE LE DÉVELOPPEMENT DES INTERNEURONES GABAÉRIQUES

Suite à cette observation, nous avons voulu déterminer plus précisément si *Syngap1* possède un rôle fonctionnel dans les interneurones. Nous avons donc réalisé une suppression de l'expression de *Syngap1* à l'échelle d'une cellule en culture *in vitro*. Pour ce faire, nous avons utilisé une transfection biolistique en utilisant le promoteur P<sub>G67</sub> décrit précédemment (Chattopadhyaya et al., 2004). De manière intéressante, nous avons observé que la perte de *Syngap1* dans les interneurones affectait leur capacité à développer leur arborisation axonale sur les neurones pyramidaux sans affecter le nombre de cellules innervées *in vitro* (**Figure 2.2**). Afin de caractériser davantage le rôle de *Syngap1* dans les interneurones, nous avons généré une souris transgénique où l'expression de *Syngap1* a été diminuée spécifiquement dans les interneurones grâce au système Cre-lox (voir section 3.1.2). Nous avons observé que l'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurones cause une diminution de l'innervation des interneurones (**Figure 2.3**). Grâce à l'immunomarquage contre la PV, nous avons également observé une baisse de l'innervation des cellules en panier *in vivo* chez les souris adultes (**Figure 2.4**).

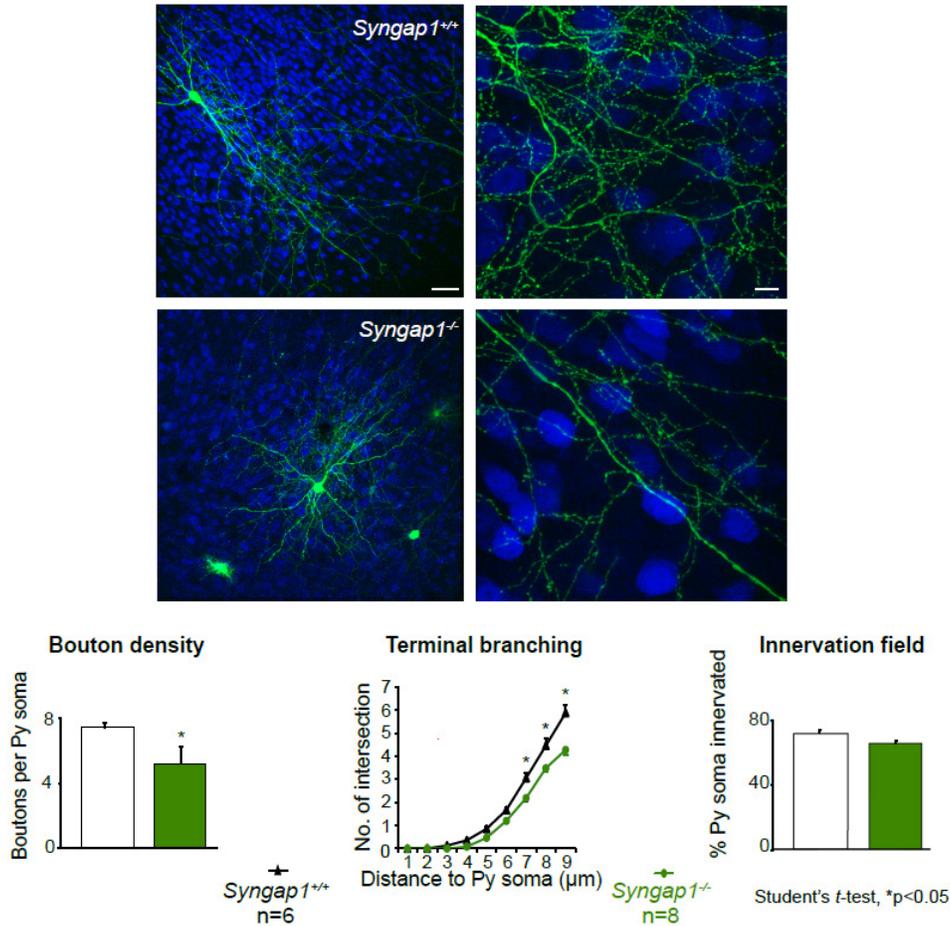
### 2.1.2.3 LA PERTE DE SYNGAP1 SPÉCIFIQUEMENT DANS LES INTERNEURONES CAUSE DES DÉFICITS COGNITIFS

Nous avons récemment découvert que les souris dont l'expression de *Syngap1* a été diminuée spécifiquement dans les interneurones dérivés du MGE démontrent des déficits comportementaux qui reproduisent partiellement ceux des souris hétérozygotes pour *Syngap1* (**Figure 2.5**). Ces souris montraient des déficits dans la mémoire de travail et dans l'interaction sociale.



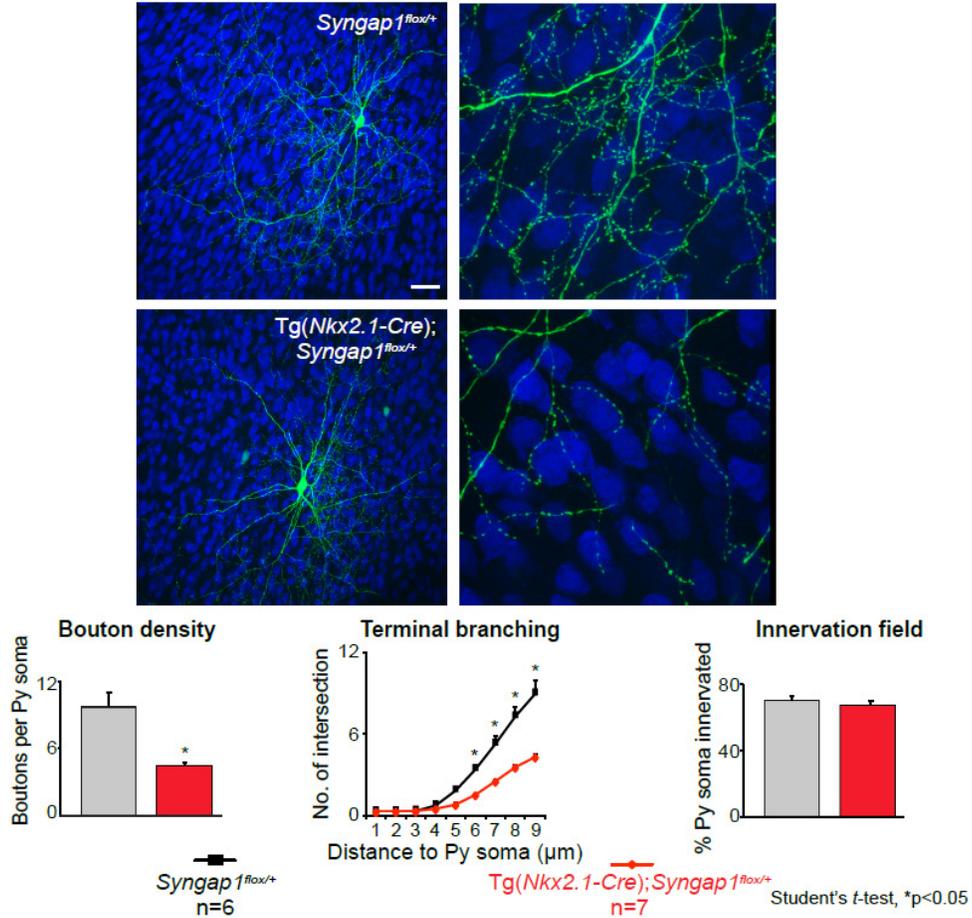
**Figure 2.1** Expression de *Syngap1* par les interneurons GABAergiques.

(a, b) Neurones corticaux dissociés d'embryons de rat à E18 cultivés pendant 21 jours *in vitro*. L'immunomarquage pour GAD67 (rouge) et *Syngap1* (vert) montre une colocalisation des deux marqueurs. Échelle = 10µm (Adaptée de Berryer et al. 2015, en révision).



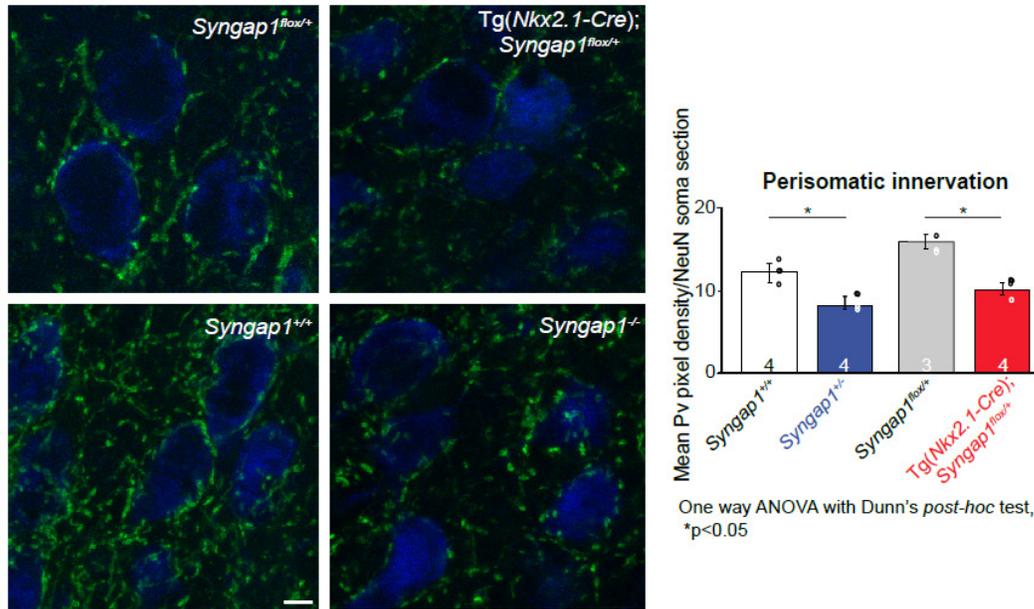
**Figure 2.2. L'inactivation de *Syngap1* à l'échelle d'une seule cellule affecte la maturation de l'innervation des interneurons GABAergiques.**

Les cellules en panier provenant de souris *Syngap1*<sup>flox/flox</sup> ont été transfectées avec le plasmide P<sub>G67</sub>-GFP pour les contrôles et par le plasmide P<sub>G67</sub>-Cre-GFP (en vert) pour réaliser une suppression de *Syngap1* à l'échelle d'une seule cellule. À 24 jours équivalents postnatals (EP24), les cellules en panier démontrent une innervation mature sur les cellules pyramidales dont leurs somas ont été marqués au NeuN (en bleu). La perte de *Syngap1* dans les interneurons cause une diminution de leur champ d'innervation, mais pas du nombre de cellules pyramidales innervées. Ces résultats suggèrent que *Syngap1* régule le développement et la maturation de l'arborisation axonale des interneurons GABAergiques d'une manière cellule autonome (*cell autonomous*) Échelle : gauche = 50µm, droite = 10µm (Adaptée de Berryer et al. 2015, en révision).



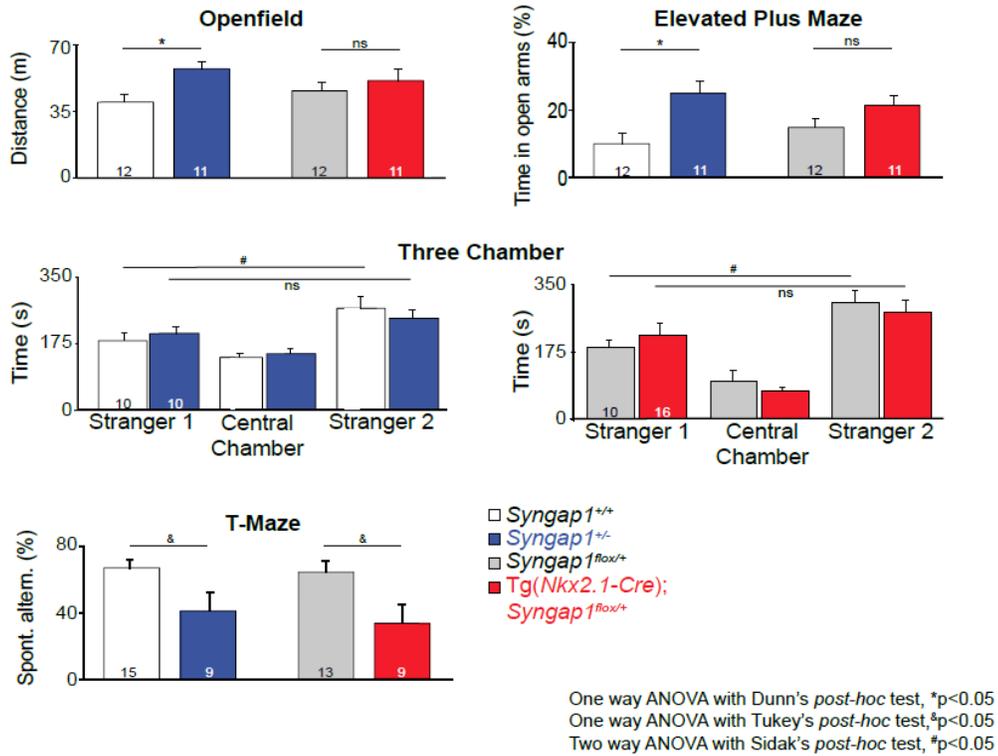
**Figure 2.3. L'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurons dérivés du MGE affecte leur capacité à former des synapses.**

Les cellules en panier provenant de souris *Syngap1<sup>flox/+</sup>* et *Tg(Nkx2.1-Cre); Syngap1<sup>flox/+</sup>* ont été transfectées avec le plasmide P<sub>G67</sub>-GFP (en vert) afin de les marquer à l'échelle d'une seule cellule. Les interneurons provenant des souris *Tg(Nkx2.1-Cre); Syngap1<sup>flox/+</sup>* à EP24 montrent également une réduction de leur innervation sur le soma des cellules pyramidales (en bleu) en culture. Ces résultats montrent que l'haploinsuffisance de *Syngap1* affecte le développement synaptique des interneurons GABAergiques. Échelle : gauche = 50µm, droite = 10µm (Adaptée de Berryer et al. 2015, en révision).



**Figure 2.4. L'innervation PV<sup>+</sup> est diminuée par l'haploinsuffisance de *Syngap1*.**

Les images confocales proviennent des couches 2/3 du cortex S1 de souris âgées de P45. L'immunomarquage contre la PV (en vert) montre que les cellules en panier font moins de connexions sur les cellules pyramidales (en bleu) chez les souris *Syngap1<sup>+/-</sup>* et les souris *Tg(Nkx2.1-Cre); Syngap1<sup>flax/+</sup>*. Échelle = 10µm (Adaptée de Berryer et al. 2015, en révision).



**Figure 2.5 L'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurons dérivés du MGE cause des déficits cognitifs.**

Les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> parcourent une plus grande distance durant le test à champ ouvert (*openfield*), suggérant qu'elles sont hyperactives. Au test du labyrinthe en croix surélevé (*elevated plus maze*), les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> passaient plus de temps dans les bras ouverts, suggérant qu'elles sont moins anxieuses. Les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et les souris *Tg(Nkx2.1-Cre); Syngap1*<sup>fllox/+</sup> démontrent une diminution de la reconnaissance de la nouveauté sociale. Au test du labyrinthe en T, les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et les souris *Tg(Nkx2.1-Cre); Syngap1*<sup>fllox/+</sup> démontrent une diminution de la mémoire de travail (Adaptée de Berryer et al. 2015, en révision).

## 2.2 OBJECTIFS DE RECHERCHE

### 2.2.1 OBJECTIF PRINCIPAL

L'objectif principal de ce mémoire est donc d'étudier le rôle de *Syngap1* spécifiquement dans les neurones GABAergiques du cortex. Notre hypothèse est que l'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les neurones GABAergiques affecte le développement des réseaux synaptiques, contribuant ainsi en partie au déséquilibre d'excitation/inhibition et aux déficits cognitifs observés chez les patients atteints de déficience intellectuelle ainsi que chez les modèles animaux caractérisés par une diminution de *Syngap1*.

### 2.2.2 OBJECTIFS SPÉCIFIQUES

#### 2.2.2.1 DÉBALANCEMENT EXCITATION/INHIBITION

Le déséquilibre de l'excitation/inhibition est une théorie émergente de la déficience intellectuelle et l'autisme (Gkogkas et al., 2013, Bateup et al., 2013, Yizhar et al., 2011). À l'aide de techniques électrophysiologiques, nous allons déterminer si un déséquilibre d'excitation/inhibition est présent chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>. Pour ce faire, nous allons mesurer la transmission synaptique glutamatergique et GABAergique de base au niveau des cellules pyramidales des couches 2/3 du néocortex somatosensoriel, qui semble être affectée dans différents modèles d'autisme et de déficience intellectuelle (Khan et al., 2015, Goncalves et al., 2013, Harlow et al., 2010). La transmission synaptique au niveau de l'hippocampe, une structure importante pour la mémoire et l'apprentissage, sera également étudiée dans le cadre de ce mémoire. Grâce à un modèle de souris transgénique dont l'expression de *Syngap1* a été diminuée spécifiquement dans les interneurons dérivés du MGE, nous allons également déterminer si un déséquilibre excitation/inhibition est présent dans le néocortex et l'hippocampe lorsqu'uniquement ces interneurons GABAergiques sont affectés par une haploinsuffisance.

#### 2.2.2.2 DÉFICITS DANS LA PLASTICITÉ SYNAPTIQUE À LONG TERME

Plusieurs études ont rapporté que l'haploinsuffisance de *Syngap1* cause des déficits de plasticité synaptique (Ozkan et al., 2014, Komiyama et al., 2002, Kim et al., 2003). Nous

allons donc déterminer si ces mécanismes de plasticité synaptique qui sous-tendent l'apprentissage sont également présents lorsque l'haploinsuffisance de *Syngap1* n'affecte que les interneurons GABAergiques. Nous nous intéresserons particulièrement à la LTP NMDAR-dépendante dont l'expression est diminuée chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>. Dû à l'interaction de *Syngap1* avec la sous-unité GluN2B des NMDARs observée dans les cellules pyramidales, nous allons également nous intéresser à la LTD NMDAR-dépendante chez ces souris.

## CHAPITRE III : MÉTHODES

### 3.1 GÉNÉRATIONS DES MODÈLES ANIMAUX

#### 3.1.1 SOURIS KNOCK-OUT (KO)

##### 3.1.1.1 SOURIS SYNGAP1 HÉTÉROZYGOTES

Les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> nous ont été gracieusement offertes par le laboratoire de Seth G.N. Grant de la Division of Neuroscience, University of Edinburg, Royaume-Uni (Komiya et al., 2002). Elles ont été maintenues dans une lignée pure C57Bl/6 dans les animaleries du CHU Sainte-Justine (**Figure 3.1**). Les souris ont été sevrées et génotypées par PCR selon les procédures standards à l'âge de 3 semaines.

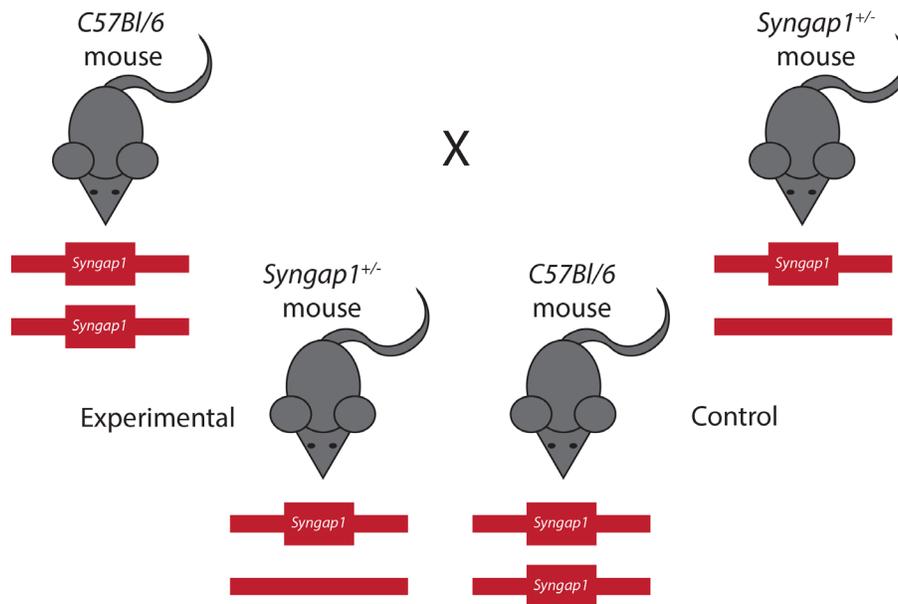


Figure 3.1. Croisement utilisé pour générer les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et leur contrôle.

### 3.1.2 SOURIS KO CONDITIONNELLES

#### 3.1.2.1 SYSTÈME CRE-LOXP

Le système de recombinaison *Cre-loxP* est une technique biomoléculaire permettant de manipuler l'expression d'un gène dans un sous type cellulaire ou à un stade du développement. Cette technique a d'abord été développée par Brian Sauer vers la fin des années 1980 chez la levure, dont la recombinase Cre et les sites loxP proviennent du bactériophage P1 (Sauer, 1987, Sauer and Henderson, 1988). Cette technique a par la suite été transposée chez la souris par le laboratoire de Klaus Rajewsky (Schwenk et al., 1995).

La Cre recombinase catalyse une recombinaison de l'ADN spécifiquement aux sites loxP (locus of X-over P1). L'insertion de deux sites loxP au niveau du même locus permet donc la délétion de la séquence d'ADN flanquée par ces deux sites en présence de l'expression de la Cre recombinase (Schwenk et al., 1995). Cela nécessite habituellement de générer deux lignées de souris, une première portant le gène n'intérêt entre deux sites loxP introduite artificiellement et une deuxième exprimant le transgène Cre recombinase sous le contrôle du promoteur désiré. Ces deux lignées peuvent être ensuite croisées pour obtenir une lignée dont l'expression du gène ciblée a été réduite uniquement dans le type cellulaire où le promoteur choisi est exprimé.

#### 3.1.2.2 SOURIS SYNGAP1 CONDITIONNELLES

Les souris *Syngap1<sup>lox/lox</sup>* nous ont été gracieusement offertes par le laboratoire de Mary B. Kennedy de la Division of Biology, California Institute of Technology, États-Unis (Vazquez et al., 2004). Les souris *Syngap1<sup>lox/lox</sup>* ont été croisées dans nos animaleries avec des souris transgéniques de chez *Jackson Laboratory* (#008661) portant un transgène codant pour la Cre recombinase sous le contrôle du promoteur *Nkx2.1* (**Figure 3.2**). Ce croisement permet une délétion des séquences entre les exons 4 et 9 de tous les isoformes de *Syngap1* dans les interneurons GABAergiques dérivés du MGE (Xu et al., 2008, Butt et al., 2008, Sussel et al., 1999). Les souris issues de ce croisement ont été nommées *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>lox/+</sup>*. Les souris ont été sevrées et génotypées par PCR selon les procédures standards à l'âge de 3 semaines.

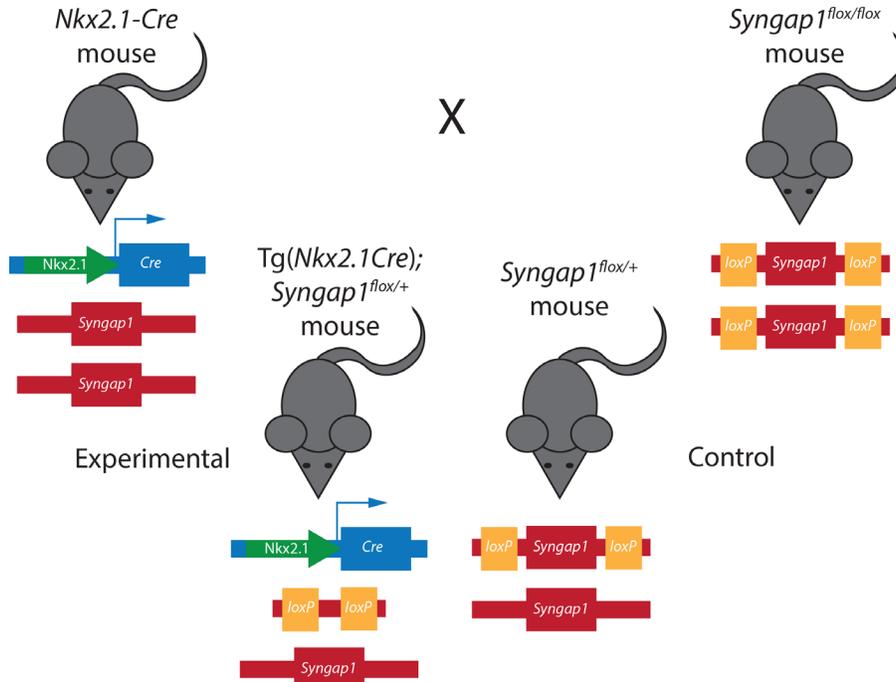


Figure 3.2 Croisement utilisé pour générer les souris  $Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1^{flox/+}$  et leur contrôle.

## 3.2 ÉLECTROPHYSIOLOGIE

### 3.2.1 PRÉPARATION DE TRANCHES CORTICALES ET HIPPOCAMPIQUES

#### 3.2.1.1 PRINCIPES THÉORIQUES

L'utilisation de tranches corticales coronales permet de préserver les connexions du cortex (Staiger et al., 1999). Pour cette raison, elles ont été utilisées dans ce mémoire pour permettre l'étude de la transmission GABAergique et glutamatergique que reçoivent les cellules pyramidales du cortex.

L'hippocampe a la particularité d'être organisé de manière laminaire (Andersen et al., 1969, Andersen et al., 1971). Ainsi, les préparations de tranches transverses d'hippocampes, généralement entre 300 et 400 $\mu$ m d'épaisseur, permettent de préserver l'intégrité du circuit trisynaptique. Il est possible avec ce genre de préparation d'étudier à la fois la transmission synaptique de base et la plasticité synaptique dans la région du CA1 de l'hippocampe.

### 3.2.1.2 TRANCHES CORONALES DE CORTEX TRANSVERSES D'HIPPOCAMPE

Les tranches coronales de cortex et les tranches transverses d'hippocampe de 300µm d'épaisseur ont été réalisées à partir de souris âgées de 7-9 semaines. Les tranches ont été coupées à l'aide d'un vibratome Leica dans une solution de coupe froide sur glace oxygénée (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) contenant 87mM de NaCl, 2,5mM de KCl, 25mM de NaHCO<sub>3</sub>, 0,5mM de CaCl<sub>2</sub>, 1,25mM de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 7mM de MgCl<sub>2</sub>, 25mM de glucose, 75mM de sucrose, 3mM d'acide pyruvique et 1mM d'acide ascorbique. Les tranches ont par la suite été transférées dans une solution oxygénée (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) d'ACSF (*artificial cerebrospinal fluid*) contenant 124mM de NaCl, 2,5mM de KCl, 1,25mM de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2mM de MgSO<sub>4</sub>, 2mM de CaCl<sub>2</sub>, de 26mM NaHCO<sub>3</sub> et 10mM de glucose (pH 7,2-7,3; 300mOsm). Les tranches ont récupéré pendant au moins 1h à température pièce avant le début des enregistrements.

## 3.2.2 COURANTS POST-SYNAPTIQUES MINIATURES

### 3.2.2.1 HISTORIQUES ET PRINCIPES THÉORIQUES

Nous avons vu précédemment la théorie de libération quantique du neurotransmetteur que Bernard Katz avait émis suivant ses observations après avoir enregistré les mEPPs à la jonction musculaire (section 1.5.2). Avec le développement de la technique du patch-clamp par Erwin Neher et Bert Sakmann à la fin des années 1970 et début des années 1980 (Neher and Sakmann, 1976a, Neher and Sakmann, 1976b, Hamill et al., 1981), il était devenu possible d'enregistrer des courants excitateurs postsynaptiques miniatures (mEPSCs) (Selyanko et al., 1979). Ce n'est cependant que quelques années plus tard que des enregistrements de courants synaptiques miniatures dans le système nerveux central sont devenus possibles (Collingridge et al., 1984, Korn et al., 1987). Contrairement à la jonction neuromusculaire, ces enregistrements nécessitaient également que le déclenchement de potentiels d'action soit bloqué par l'application de tétródotoxine (TTX). C'est alors que plusieurs neurophysiologistes se sont mis à étudier la transmission et la plasticité synaptique en enregistrant ces mEPSCs dans l'hippocampe (Bekkers and Stevens, 1989, Bekkers et al., 1990, Manabe et al., 1992, Malgaroli and Tsien, 1992).

Historiquement, l'analyse quantique, c'est-à-dire l'analyse des changements de fréquence et d'amplitude des mEPSCs a servi à distinguer les changements pré- et

postsynaptiques (Del Castillo and Katz, 1954, Redman, 1990, Kerchner and Nicoll, 2008). Une augmentation de la fréquence était interprétée comme une augmentation de la probabilité de libération de neurotransmetteurs ou une augmentation de contacts présynaptiques (Bekkers and Stevens, 1990) alors qu'une augmentation de l'amplitude suggérait une augmentation de la sensibilité de la détection de neurotransmetteurs due à une augmentation du nombre de récepteurs postsynaptiques (Manabe et al., 1992).

Cependant, la découverte des synapses silencieuses a rendu cette ségrégation pré- et postsynaptique moins claire. Ce concept de synapses silencieuses vient de la discordance entre le nombre de synapses identifiées morphologiquement et identifiées fonctionnellement (Atwood and Wojtowicz, 1999). Sous certaines conditions, ces synapses silencieuses peuvent devenir fonctionnelles et être «*dé-silencées (unsilencing)*» dû à l'insertion des AMPARs à la membrane postsynaptique (Kerchner and Nicoll, 2008, Hanse et al., 2013). L'analyse quantique donnerait alors une augmentation de la fréquence qui n'est pas causée par un changement présynaptique, mais postsynaptique. De nouvelles évidences démontrent également que les changements d'amplitude peuvent aussi avoir une origine présynaptique. Il existe des mécanismes qui régulent l'incorporation des neurotransmetteurs dans les vésicules et des mécanismes qui régulent la taille elle-même des vésicules (Edwards, 2007), ce qui rend des changements de la taille quantique possible sans la présence de modifications postsynaptique. Bien que la distinction post- et présynaptique est plus difficile, il reste que l'enregistrement des mEPSCs est un moyen pour évaluer les changements de l'efficacité synaptiques.

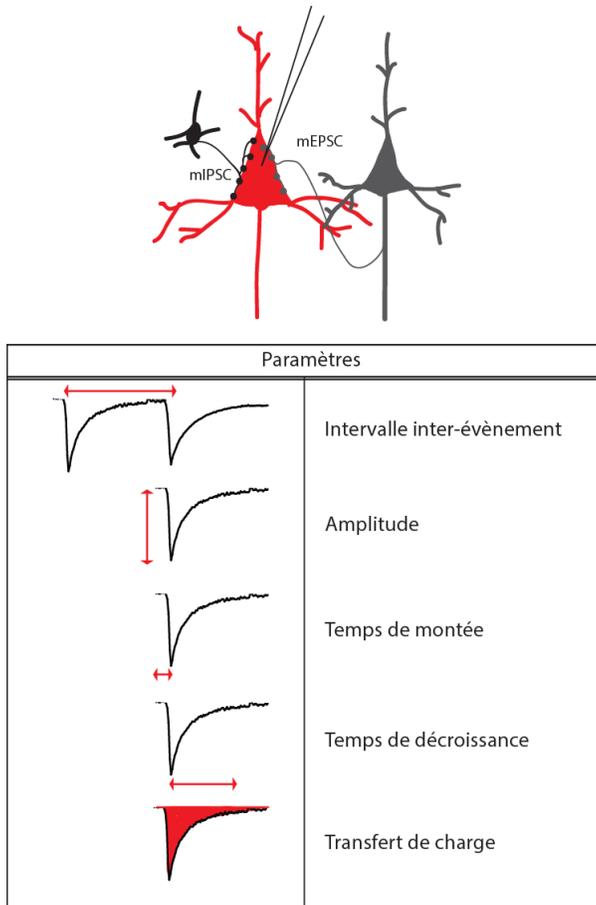
#### 3.2.2.2 PROTOCOLES D'ENREGISTREMENT DES mIPSCS ET MEPSCS

Les enregistrements de patch-clamp en configuration cellule-entière ont été réalisés à l'aide des micropipettes de borosilicate d'impédance de 3-5M $\Omega$ . Pour mesurer les courants postsynaptiques inhibiteurs (*miniature inhibitory post-synaptic currents*, mIPSCs), les pipettes ont été remplies avec une solution interne contenant 130mM de CsCl, 10mM d'HEPES, 2mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,5mM d'EGTA, 5mM de di-Na-phosphocréatine, 2mM d'ATP-Tris, 0,4mM de GTP-Tris et 5mM de QX-134 (pH 7,2-7,3; 280mOsm). Les mIPSCs ont été mesurés en maintenant le potentiel membranaire à -60mV en présence de

10 $\mu$ M CNQX (6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione), 50 $\mu$ M D-APV et 0,5 $\mu$ M TTX pour bloquer les AMPAR, NMDAR et les potentiels d’actions.

Pour mesurer les courants postsynaptiques excitateurs (*miniature excitatory post-synaptic currents*, mEPSCs), les pipettes ont été remplies avec une solution interne contenant 120mM de CsMeSO<sub>3</sub>, 5mM de NaCl, 10mM d’HEPES, 1mM de MgCl<sub>2</sub>, 10mM de di-Na-phosphocréatine, 2mM d’ATP-Tris, 0,4mM de GTP-Tris, 0,5mM de spermine et 2mM de QX-134 (pH 7,2-7,3; 280mOsm). Les mEPSCs ont été mesuré en maintenant le potentiel membranaire à -60mV en présence de 10 $\mu$ M gabazine, 50 $\mu$ M D-APV et 0,5 $\mu$ M TTX pour bloquer les GABA<sub>A</sub>R, NMDAR et les potentiels d’actions. Les différents paramètres des mIPSCs et des mEPSCs (**Tableau II**) ont été analysés à l’aide du logiciel Mini-Analysis 6.0.3 (Synaptosoft).

**Tableau II. Paramètres des mIPSCs et mEPSCs**

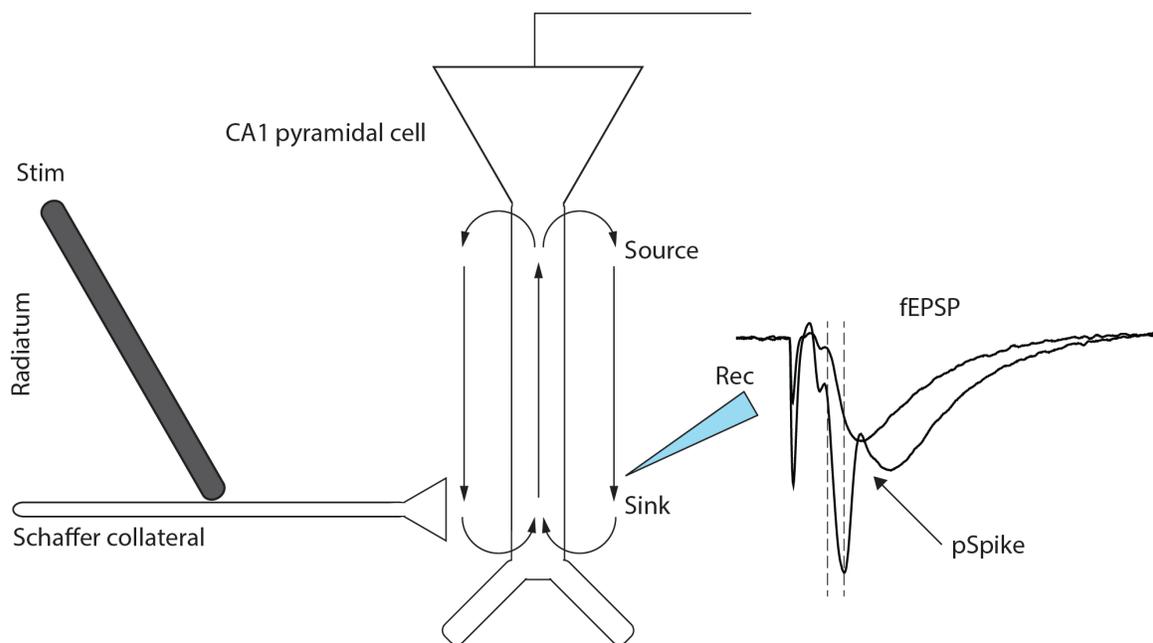


### 3.2.3 POTENTIEL DE CHAMPS EXCITATEUR POST-SYNAPTIQUE (fEPSPs)

#### 3.2.3.1 PRINCIPES THÉORIQUES

Les signaux synaptiques extracellulaires d'un seul neurone sont généralement trop petits pour pouvoir être enregistrés. Cependant, dans certaines structures du cerveau comme l'hippocampe, dû à l'organisation laminaire des neurones, il est possible d'enregistrer les potentiels extracellulaires d'un groupe de neurones. Ceux-ci portent le nom de potentiels de champs excitateurs post-synaptiques (*field excitatory post-synaptic potentials*, fEPSPs) (Andersen et al., 2006).

Le milieu extracellulaire dans lequel baignent les neurones constitue un milieu conducteur. Au repos, la membrane cellulaire des neurones est polarisée de manière uniforme et ne génère aucun courant net. Un neurone actif cependant sera polarisé de manière non uniforme due au fait que différentes régions peuvent être à différents potentiels membranaires. Ces différences de potentiel génèrent un flot de courant le long des neurones et le milieu extracellulaire formera alors ce qui est appelé un volume conducteur (Johnston and Wu, 1995). Le site où courant est entrant et alors appelé le puits de courant (*current sink*) et le site où le courant est sortant est appelé la source de courant (*current source*) (**Figure 3.3**).



**Figure 3.3** Représentation schématique de l'enregistrement de fEPSPs dans la région du CA1 de l'hippocampe

L'enregistrement des fEPSPs générés au niveau de la région du CA1 de l'hippocampe suivant la stimulation des collatérales de Schaffer est un modèle de prédilection pour l'étude de la plasticité synaptique. Le puits de courant se retrouve alors au niveau des dendrites des cellules pyramidales du CA1 où les collatérales de Schaffer font contact et la source de courant se retrouve au niveau de leur soma. À des stimulations de hautes intensités, il est possible de générer des potentiels d'action au niveau des somas des cellules pyramidales. L'amplitude du fEPSP peut être contaminée par un pic de population (*population spike*, pSpike), qui correspond aux potentiels de champs extracellulaires générés par ces potentiels d'action (voir figure 3.3) (Johnston and Wu, 1995). Pour cette raison, il est préférable d'analyser les changements synaptiques en prenant la pente de la phase de montée des fEPSPs au lieu de l'amplitude.

#### 3.2.3.2 POTENTIALISATION À LONG TERME (LTP)

Les tranches transverses d'hippocampe ont été réalisées comme décrites précédemment. Une incision chirurgicale entre le CA3 et CA1 a été réalisée afin d'éviter l'activité épileptique lors de l'enregistrement. Les tranches ont été transférées dans une solution d'ACSF contenant 124mM de NaCl, 2,5mM de KCl, 1,25mM de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,3mM de MgSO<sub>4</sub>, 2,5mM de CaCl<sub>2</sub>, 26mM de NaHCO<sub>3</sub> et 10mM de glucose (pH 7,2-7,3; 300mOsm). Le ratio Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> a été modifié afin de faciliter l'induction de la LTP. Les tranches ont récupéré durant au moins 2h à 31°C avant le début de l'enregistrement. Les fEPSPs ont été enregistrés à 29°C dans le radiatum de la région du CA1 de l'hippocampe à l'aide d'une pipette de verre (1-3MΩ d'impédance) remplie d'ACSF. Des pulses de 0,05Hz ont été administrés en alternance à l'aide de deux électrodes de stimulation concentrique bipolaire (pôle externe en acier inoxydable de 200µm de diamètre et pôle interne en fil de platine/iridium de 25 µm de diamètre) placées de chaque côté de l'électrode d'enregistrement. Une des électrodes a servi de voie expérimentale tandis que la deuxième électrode a servi de voie contrôle. Après une période de 30 minutes d'activité de base stable fixée à 30-35% de la réponse maximale, la LTP a été induite par une des deux électrodes par un protocole de stimulation comprenant 5 bouffées thêta (*theta burst stimulation*, TBS). Chaque bouffée comprenait quatre pulses de 100Hz séparés par 200ms. Des stimulations de base à 0,05Hz étaient données par la deuxième électrode pour servir à surveiller la

qualité de la stabilité de la transmission synaptique de base. Les fEPSPs ont par la suite été enregistrés durant 60 minutes après induction.

Les expériences de facilitation par impulsions appariées (*paired-pulse facilitation*, PPF) et d'entrée/sortie synaptique (*input/output*) ont également été enregistrées durant la période d'activité basale. Des intervalles de 20, 50, 100 et 150 ms ont été utilisés pour les expériences de PPF et des sauts de courants de 20 $\mu$ A entre 20 et 300 $\mu$ A ont servi pour les expériences d'entrée/sortie synaptique.

Les enregistrements des fEPSPs en présence de gabazine (5 $\mu$ M) ont été réalisés de manière similaire. L'intensité de stimulation a été diminuée jusqu'à ce que les fEPSPs ne présentent plus de décharge ( $\pm 0,5$ mV). Une période de 15 minutes d'activité stable a été enregistrée avant l'induction de la LTP par TBS. Les fEPSPs ont par la suite été enregistrés durant 45 minutes après induction. Les durées d'enregistrement ont été réduites dû à l'instabilité des fEPSPs en présence de gabazine. Les expériences de PPF et d'entrée/sortie synaptique ont également été réalisées en présence de gabazine 5 $\mu$ M avant le début de l'enregistrement de l'activité basale. L'analyse a été réalisée avec le logiciel Clampfit 10.4 (*Molecular Devices*). La pente des fEPSPs a été utilisée pour la mesure d'efficacité synaptique.

### 3.2.3.3 DÉPRESSION À LONG TERME (LTD)

Les tranches transverses d'hippocampe ont été réalisées comme décrit précédemment. Des pulses de 0,05Hz ont été administrés en alternance à l'aide de deux électrodes de stimulation. Après une période de 30min d'activité de base stable fixée à 50% de la réponse maximale, la LTD a été induite par un protocole d'impulsions appariées avec stimulation à base fréquence (*paired-pulse low frequency stimulation*, PP-LFS) pendant 15 min pour obtenir 900 stimulations. Un intervalle de 200ms entre les deux impulsions appariées a été utilisé, un protocole qui a été rapporté dans la littérature pour pouvoir induire de la LTD NMDAR-dépendante chez les souris adultes (Kemp et al., 2000). Les fEPSPs ont par la suite été enregistrés durant 45 minutes après induction.

### 3.3 ANALYSE STATISTIQUE

#### 3.3.1 CATÉGORISATION DES ÉVÈNEMENTS DES mIPSCs ET mEPSCs

Pour l'analyse de la distribution des mIPSCs et mEPSCs, les 150 évènements de chaque cellule ont été répartis en vingtile. Les données ont donc été divisées en 20 groupes comprenant un nombre égal d'évènements, le 1<sup>er</sup> groupe comprenant les 5% des plus petits évènements et le 20<sup>ième</sup> groupe comprenant les 5% des évènements les plus grands. La répartition des données a été réalisée avec le logiciel IGOR Pro 6.3.5.5 (WaveMetrics, Inc, Orégon, É.-U.).

#### 3.3.2 TESTS STATISTIQUES

L'ensemble des tests statistiques a été réalisé avec le logiciel GraphPad Prism 6.01 (GraphPad Software, Inc., Californie, É.-U.). Le test de Kolmogorov-Smirnov (K-S) a été utilisé pour l'analyse de la distribution des mIPSCs et mEPSCs. Le test de Student (test t) a été utilisé pour évaluer les différences entre groupes. Lorsqu'une ANOVA à deux facteurs a été utilisée, un test *post-hoc* de Sidak a été ensuite appliqué pour les comparaisons multiples. L'ensemble des données a été représenté par la moyenne  $\pm$  l'erreur type.

## CHAPITRE IV : RÉSULTATS

### 4.1 LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE DANS LE CORTEX

Le traitement sensoriel est altéré chez plusieurs patients atteints de déficience intellectuelle et d'autisme (Carvill, 2001, Tomchek and Dunn, 2007, Khan et al., 2015, Iarocci and McDonald, 2006). Un dysfonctionnement du cortex somatosensoriel primaire (S1) a également été rapporté chez plusieurs modèles murins de déficience intellectuelle et d'autisme tel que le FXS, le syndrome de Down et le syndrome de Rett (Till et al., 2012, Perez-Cremades et al., 2010, Harlow et al., 2010, Bureau et al., 2008, Tabuchi et al., 2007).

Le cortex S1 a donc été choisi pour l'étude d'un déséquilibre E/I dans ce mémoire. Le but premier de ce mémoire était de confirmer si la diminution de l'arborisation axonale des interneurons sur les cellules pyramidales que nous avons observée en culture se reflète également au niveau fonctionnel. Pour ce faire, nous avons enregistré les mIPSCs et mEPSCs dans les cellules pyramidales des couches 2/3 de cortex S1 des souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup> adultes âgées de 7-9 semaines ainsi que leurs contrôles respectifs (**Figure 4.1** et **Figure 4.2**). Ces mIPSCs/mEPSCs représentent le relargage aléatoire et constitutif de neurotransmetteurs indépendant de l'activité neuronale. Ils sont un moyen d'estimer si les synapses inhibitrices et excitatrices présentes sont modifiées.

#### 4.1.1 LA TRANSMISSION INHIBITRICE DANS LES COUCHES 2/3 DU CORTEX S1 EST DIMINUÉE PAR L'HAPLOINSUFFISANCE DE *SYNGAP1* DANS LES INTERNEURONES DÉRIVÉS DU MGE

Au niveau des couches 2/3 du cortex SI, ni l'intervalle inter-événement (IEI) ni l'amplitude des mIPSCs n'étaient modifiés chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> comparées aux souris WT (**Figure 4.1b<sub>1</sub>-c<sub>1</sub>**). Cependant, l'IEI était augmenté d'environ 38% chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup> lorsque comparées à leurs contrôles *Syngap1*<sup>flox/+</sup> (**Figure 4.1b<sub>2</sub>**; 127,3 ± 11,7 ms vs. 92,3 ± 7,2 ms, test K-S, \*p < 0,05, D = 0,12 et test t non apparié, \*p < 0,05), signifiant une diminution de la fréquence des événements mIPSCs chez ces souris. Les propriétés cinétiques des mIPSCs, soit le temps de montée (*rise time*), le temps

de décroissance (*decay time*) et le transfert de charge (*charge transfer*) étaient essentiellement inchangées (**Figure 4.3a-d**). Cependant, le temps de montée était légèrement augmenté chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup>* comparé aux souris *Syngap1<sup>fllox/+</sup>* (**Figure 4.3a**; test t non apparié, \*p < 0,05). Ces résultats montrent l'enregistrement des mEPSCs est en accord avec la diminution de l'innervation GABAergique observée en culture chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup>*, mais pas chez les souris *Syngap1<sup>+/-</sup>*. Il semble donc qu'une compensation soit présente lorsque l'expression de *Syngap1* est altérée de manière simultanée dans les cellules pyramidales et les interneurons.

#### 4.1.2 LA TRANSMISSION EXCITATRICE DANS LES COUCHES 2/3 DU CORTEX S1 EST AUGMENTÉE PAR L'HAPLOINSUFFISANCE DE *SYNGAP1* DANS LES INTERNEURONES DÉRIVÉS DU MGE

Les mEPSCs ont également été enregistrés chez les souris *Syngap1<sup>+/-</sup>* et *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup>* afin de déterminer si la transmission glutamatergique que reçoit les cellules pyramidales de la couche 2/3 du cortex S1 était affectée par l'haploinsuffisance de *Syngap1* (**Figure 4.2**). Les souris *Syngap1<sup>+/-</sup>* avaient démontré une augmentation de l'amplitude des mEPSCs (figure 4.2c<sub>1</sub>; test K-S, \*\*\*p < 0,001, D = 0,16 et test t non apparié, \*p < 0,05) sans changement de l'IEI (**Figure 4.2b<sub>1</sub>**). Cette augmentation de l'amplitude des mEPSCs correspond à l'effet cellule autonome attendu d'une diminution de l'expression de *Syngap1* qui avait déjà été rapporté auparavant dans d'autres régions du cortex (Ozkan et al., 2014) et en culture (Rumbaugh et al., 2006). Les propriétés cinétiques ont également été analysées (**Figure 4.3e-h**). Seul le transfert de charge des mEPSCs des souris *Syngap1<sup>+/-</sup>* était augmenté par rapport aux souris WT (**Figure 4.3h**; test t non apparié, \*p < 0,05). Le transfert de charge correspondant à l'aire sous la courbe des mEPSCs, cette augmentation va de pair avec l'augmentation d'amplitude observée chez les mêmes souris. De manière intéressante, l'IEI des mEPSCs était diminué dans les couches 2/3 du cortex S1 chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup>* (**Figure 4.2b<sub>2</sub>**; test K-S, \*\*p < 0,01, D = 0,16 et test t non apparié, \*p < 0,05), signifiant une fréquence plus élevée des événements mEPSCs par rapport aux souris *Syngap1<sup>fllox/+</sup>*. De plus, l'amplitude des mEPSCs était également légèrement augmentée chez ces souris (**Figure 4.2c<sub>2</sub>**; test K-

S,  $**p < 0,01$ ,  $D = 0,14$  et test t non apparié,  $p = 0,06$ ). Cependant, aucun des paramètres cinétiques n'était changé (**Figure 4.3e-h**). Ainsi, la diminution spécifique de l'expression de *Syngap1* dans les interneurons dérivés du MGE, altère la transmission glutamatergique dans le cortex S1.

## 4.2 LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE DANS L'HIPPOCAMPE

La région CA1 de l'hippocampe est particulièrement importante pour la mémoire et l'apprentissage. Pour cette raison, l'étude d'un modèle de déficience intellectuelle impliquait de manière raisonnée d'investiguer si un déficit de la transmission synaptique est présent également dans cette région en enregistrant les mIPSCs et mEPSCs (**Figure 4.4** et **Figure 4.5**).

### 4.2.1 LA TRANSMISSION INHIBITRICE DANS LA RÉGION DU CA1 DE L'HIPPOCAMPE EST DIMINUÉE PAR L'HAPLOINSUFFISANCE DE *SYNGAP1* DANS LES INTERNEURONES DÉRIVÉS DU MGE

De manière similaire que dans les couches 2/3 du cortex S1, ni l'IEI, ni l'amplitude des mIPSCs n'étaient modifiés dans le CA1 de l'hippocampe des souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> comparées aux souris WT (**Figure 4.4b<sub>1</sub>-c<sub>1</sub>**). Les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fl<sup>ox</sup>/+</sup> démontraient une augmentation de plus de 4 fois de l'IEI des mIPSCs par rapport à leurs contrôles (**Figure 4.4b<sub>2</sub>**; test K-S,  $****p < 0,0001$ ,  $D = 0,41$  et test t non apparié,  $**p < 0,01$ ), mais aucun changement d'amplitude (**Figure 4.4c<sub>2</sub>**). Aucun changement des paramètres cinétiques n'a été observé tant chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> que chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fl<sup>ox</sup>/+</sup> (**Figure 4.6a-d**). Ces résultats montrent que la diminution de l'expression de *Syngap1* dans les interneurons dérivés du MGE cause une diminution de la fréquence des événements mIPSCs. Ces résultats concordent avec ce qui est observé en culture et *in vivo* pour les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fl<sup>ox</sup>/+</sup>, mais pas pour les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (Berryer et al. 2015, en révision).

#### 4.2.2 LA TRANSMISSION EXCITATRICE DANS LA RÉGION DU CA1 DE L'HIPPOCAMPE EST DIMINUÉE PAR L'HAPLOINSUFFISANCE DE *SYNGAP1* DANS LES INTERNEURONES DÉRIVÉS DU MGE

La transmission glutamatergique que reçoivent les cellules pyramidales du CA1 de l'hippocampe a également été étudiée. Aucun phénotype n'a été observé chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (**Figure 4.5a1-c1** et **Figure 4.6a-d**). Ces résultats sont compatibles avec des observations antérieures indiquant une augmentation des mEPSCs chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> juvéniles, mais absentes chez les adultes (Clement et al., 2012). Contrairement à ce qui est observé dans le cortex, l'IEI des mEPSCs était augmenté chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup> comparé aux souris *Syngap1*<sup>fllox/+</sup> (**Figure 4.5b2**; test K-S, \*p < 0,05, D = 0,14 et test t non apparié, \*p < 0,05) sans modification de l'amplitude (**Figure 4.5c2**) ou des paramètres cinétiques (**Figure 4.6e-h**). Ces résultats montrent donc une diminution de la fréquence des événements mEPSCs dans la région du CA1 de l'hippocampe des souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup>, alors que ceux-ci étaient augmentés dans le cortex. Il se peut donc que contrairement au cortex, qu'un mécanisme homéostatique soit déclenché dans le CA1 de l'hippocampe, de sorte que la diminution de l'inhibition engendre une diminution compensatoire de l'excitation également.

### 4.3 LA PLASTICITÉ SYNAPTIQUE DANS L'HIPPOCAMPE

#### 4.3.1 LA LTP NMDAR-DÉPENDANTE EST DIMINUÉE PAR L'HAPLOINSUFFISANCE DE *SYNGAP1* DANS LES INTERNEURONES DÉRIVÉS DU MGE

Nous avons voulu déterminer par la suite si les mécanismes de plasticité NMDAR-dépendante étaient affectés chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup>. La transmission synaptique de base a d'abord été évaluée en fEPSPs entre les collatérales de Schaffer et les cellules pyramidales du CA1 de l'hippocampe (**Figure 4.7**). Les réponses de fEPSPs suivant la facilitation par impulsion appariée (PPF) (**Figure 4.7a-b**) n'étaient modifiées ni chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (ANOVA à deux facteurs,

$F_{(1,29)} = 0,72$  et  $p = 0,40$ ) ni chez les souris  $Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1^{lox/+}$  (ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,21)} = 0,74$ ,  $p = 0,40$ ). Ces résultats suggèrent donc que la probabilité de libération de neurotransmetteurs n'était pas modifiée (Bliss and Collingridge, 2013) par la diminution d'expression de *Syngap1*. La relation entrée/sortie (*input/output*) de la transmission synaptique (pente du fEPSP en fonction de l'intensité de stimulation) suivant des intensités de stimulation entre 20 et 300  $\mu A$  (**Figure 4.7c-d**) étaient également semblables pour les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,26)} = 0,10$  et  $p = 0,75$ ) et entre les souris  $Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1^{lox/+}$  (ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,26)} = 0,65$ ,  $p = 0,42$ ) lorsque comparées à leurs contrôles respectifs. Ces résultats suggèrent donc une réponse synaptique de base et une plasticité synaptique à court terme semblable chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et les souris  $Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1^{lox/+}$  lorsque comparées à leurs contrôles respectifs.

La LTP a par la suite étudiée suite à un protocole de stimulation en bouffées thêta (Ozkan et al., 2014) (**Figure 4.8a-b**). Alors que les souris WT démontraient une PTP (observée durant les premières dizaines de secondes suivant l'induction) de  $258,8 \pm 10,4$  %, celle des souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> n'était que de  $191,1 \pm 13,2$  % (4.8c, test t non apparié, \*\*\* $p < 0,001$ ). Ainsi, le même protocole de stimulation était moins efficace pour produire une PTP chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>. La LTP exprimée par les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> n'était que de  $121,3 \pm 5,8$  % une heure après l'induction alors qu'elle était de  $150,7 \pm 10,1$  % chez les souris WT (4.8e, test t non apparié, \* $p < 0,05$ ). Ces résultats reproduisent essentiellement les déficits de LTP rapportés par d'autres groupes chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (Komiyama et al., 2002, Kim et al., 2003, Ozkan et al., 2014). La PTP des souris  $Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1^{lox/+}$  était de  $215,8 \pm 10,5$  %, ce qui est semblable aux  $248,0 \pm 17,9$  % des *Syngap1*<sup>lox/+</sup> (**Figure 4.8d**, test t non apparié,  $p = 0,14$ ). Cependant, la LTP exprimée 60 minutes après induction des souris  $Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1^{lox/+}$  était de  $131,6 \pm 5,6$  %, ce qui est significativement plus faible que les  $149,0 \pm 5,8$  % des souris *Syngap1*<sup>lox/+</sup> (**Figure 4.8f**, test t non apparié, \* $p < 0,5$ ). Ces résultats montrent que l'haploinsuffisance de *Syngap1* uniquement dans les interneurons dérivés du MGE est suffisante pour causer des déficits de plasticité synaptique.

#### 4.3.2 LA LTP NMDAR-DÉPENDANTE EST PARTIELLEMENT RÉTABLIE CHEZ LES SOURIS *SYNGAP1*<sup>+/-</sup> EN PRÉSENCE D'UN BLOQUEUR GABAERGIQUE

Bien que les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> démontrent un déficit de LTP, un déficit était aussi présent au niveau de la PTP. Il n'était donc pas clair si les déficits observés étaient réellement dus à un déficit d'expression ou à un déficit au niveau de l'induction de la LTP. Puisque le PPF et l'entrée/sortie synaptique n'étaient pas modifiées, cette PTP réduite des souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> pourrait, entre autres, être due à une diminution de la désinhibition au niveau du CA1. Pour tester cette hypothèse, la LTP a été enregistrée en présence de 5 $\mu$ M de gabazine (**Figure 4.9**), un bloqueur sélectif des GABA<sub>A</sub>R. La transmission synaptique a de nouveau été évaluée, mais en présence de gabazine. La PPF n'était pas différente entre les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et les souris WT (**Figure 4.9a**, ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,68)} = 0,23$ ,  $p = 0,62$ ). Cependant, la facilitation pour un intervalle de 20 ms entre les impulsions appariées était environ 2 fois plus grande qu'en absence de gabazine (**Figure 4.7a-b** et **Figure 4.9a**). La relation entrée/sortie de la transmission synaptique a par la suite été testée (**Figure 4.9b**). Bien qu'il n'y avait pas de différence entre les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et les souris WT (ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,15)} = 0,001$ ,  $p = 0,97$ ), le nombre de décharge au niveau CA1 représenté par le nombre de pSpike était 5 fois plus grand qu'en absence de gabazine, impliquant des décharges répétitifs. Ceci montre l'importance de l'inhibition au niveau du réseau du CA1 de l'hippocampe.

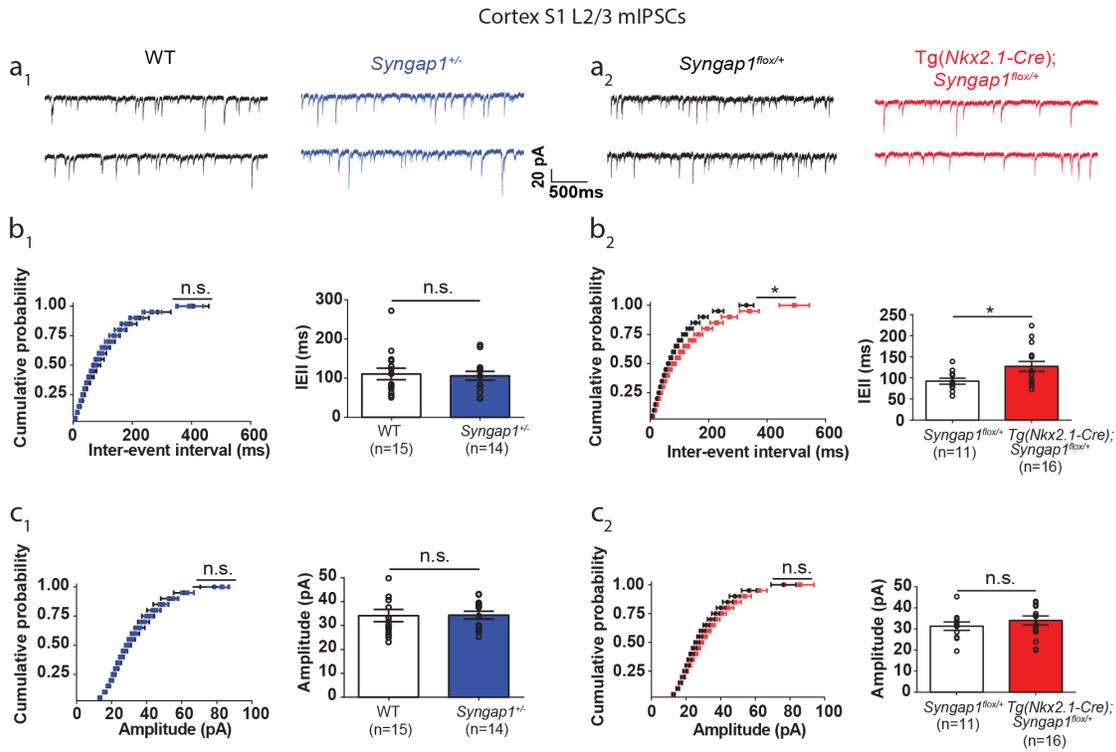
La LTP a par la suite été induite par le même protocole TBS qu'utilisé précédemment (**Figure 4.9c**). De manière intéressante, en présence de gabazine, les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> démontraient une PTP  $220,6 \pm 10,5$  % qui était comparable aux  $236,5 \pm 9,0$  % de PTP des souris WT (**Figure 4.9d**, test t non apparié,  $p = 0,26$ ). Ces résultats suggèrent que le déficit de PTP observé chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> pourrait être dû à un manque de désinhibition au niveau du CA1 de l'hippocampe. Les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> montraient une LTP de  $118,3 \pm 6,7$  % alors que les souris WT en montraient une de  $139,8 \pm 7,5$  % (**Figure 4.9e**). Ces résultats montrent donc que l'expression de la LTP est diminuée chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (test t non apparié,  $p < 0,05$ ) et que cette diminution n'est pas due à un déficit au niveau de l'induction de la LTP.

#### 4.3.3 LA LTD NMDAR-DÉPENDANTE N'EST PAS AFFECTÉE PAR L'HAPLOINSUFFISANCE DE *SYNGAP1* DANS LES INTERNEURONES DÉRIVÉS DU MGE

La LTD NMDAR-dépendante a été peu étudiée chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>. Il se trouve que cette forme de LTD est beaucoup plus difficile à induire chez les animaux adultes (Kemp et al., 2000). Richard L. Huganir et ses collaborateurs ont entre autres rapporté que la LTD était inchangée suivant un protocole d'induction composée d'impulsions appariées de 50 ms d'intervalle à basse fréquence (50ms PP-LFS) (Kim et al., 2003). Cependant, ce genre de protocole est reconnu pour induire une LTD non pas NMDAR-dépendante, mais mGluR-dépendante (Huber et al., 2000, Kemp et al., 2000, Kemp and Bashir, 1999, Bateup et al., 2011). Le groupe de Mary B. Kennedy a également tenté d'induire chimiquement une LTD NMDAR-dépendante par application de NMDA (Carlisle et al., 2008). Ceux-ci ont rapporté que les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> démontraient un déficit de LTD. L'induction étant chimique, il n'est pas clair si cet effet est réellement dû à un déficit d'expression de la LTD au niveau des synapses CA3-CA1 ou un effet global du NMDA sur l'ensemble du réseau du CA1, y compris les interneurons.

Or, il se trouve que le groupe de Zafar I. Bashir a rapporté un protocole d'induction de la LTD NMDAR-dépendante chez les animaux adultes (Kemp et al., 2000). Ceux-ci ont utilisé un protocole composé de 900 stimuli d'impulsions appariées à basse fréquence de 1Hz, mais avec un intervalle entre les impulsions appariées de 200ms. Ce protocole pouvait induire une LTD qui était bloquée en présence d'AP5, un bloqueur des NMDAR. Ce protocole a donc été utilisé pour induire une LTD NMDAR-dépendante chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup> (**Figure 4.10a-b**). Les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> montraient une LTD de  $77,6 \pm 5,6$  % qui était comparable aux  $78,4 \pm 4,3$  % des WT (**Figure 4.10c**, test t non apparié,  $p = 0,91$ ). De même, les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup> montraient une LTD de  $74,5 \pm 4,5$  % qui était également semblable aux  $79,7 \pm 3,8$  % des souris *Syngap1*<sup>fllox/+</sup> (**Figure 4.10d**, test t non apparié,  $p = 0,38$ ). Ces résultats suggèrent donc que l'haploinsuffisance de *Syngap1* n'affecte pas la capacité d'exprimer la LTD NMDAR-dépendante dans le CA1 de l'hippocampe.

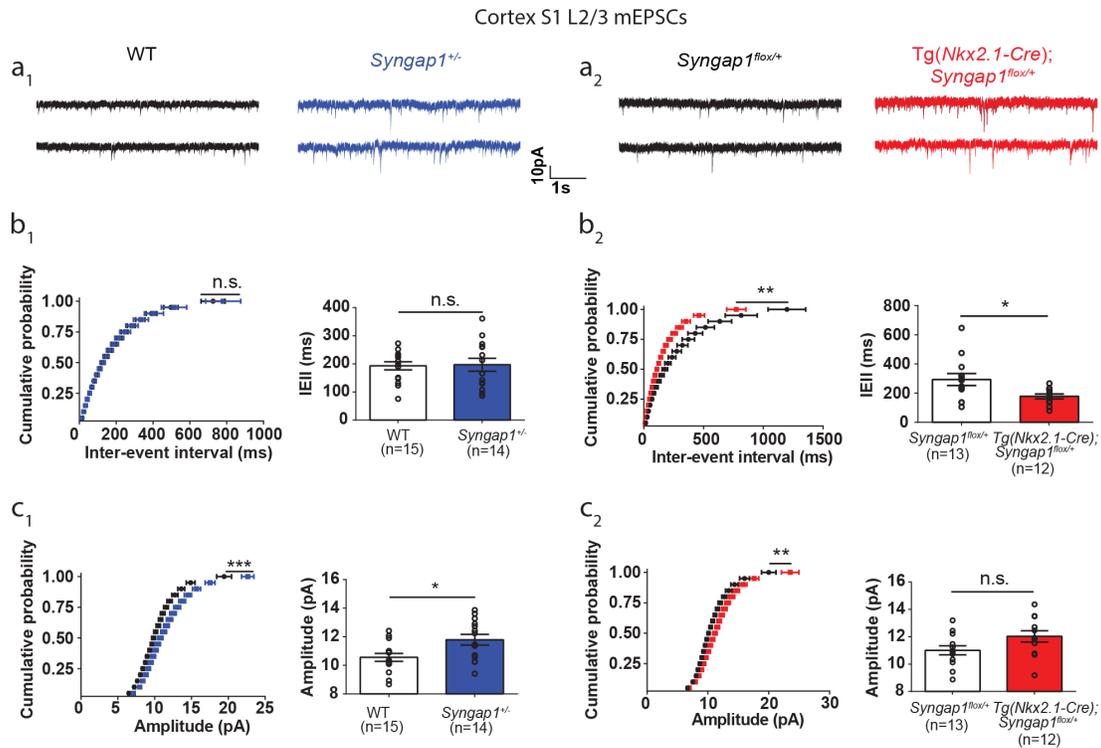
## 4.4 FIGURES



**Figure 4.1** L'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurons dérivés du MGE cause une diminution de la transmission GABAergique dans les couches 2/3 du cortex S1.

Tracés représentatifs des mIPSCs enregistrés de cellules pyramidales dans les couches 2/3 du cortex somatosensoriel des souris WT vs. *Syngap1*<sup>+/-</sup> (*a*<sub>1</sub>) et des souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup> vs. *Tg(Nkx2.1-cre); Syngap1*<sup>flox/+</sup> (*a*<sub>2</sub>). L'intervalle inter-événement (IEI) des mIPSCs reste inchangé chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (106,0 ± 11,4 ms) comparé au souris WT (110,7 ± 14,9 ms) (*b*<sub>1</sub>, test K-S, *p* = 0,99, *D* = 0,03 et test *t* non apparié, *p* = 0,80), mais est augmenté chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre); Syngap1*<sup>flox/+</sup> (127,3 ± 11,7 ms) comparé aux souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup> (92,3 ± 7,2 ms) (*b*<sub>2</sub>, test K-S, \**p* < 0,05, *D* = 0,12 et test *t* non apparié, \**p* < 0,05). L'amplitude des mIPSCs reste inchangée chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (34,4 ± 1,6 pA) comparé au souris WT (34,2 ± 2,6 pA) (*c*<sub>1</sub>, test K-S, *p* = 0,90, *D* = 0,04 et test *t* non apparié, *p* = 0,94) et chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre); Syngap1*<sup>flox/+</sup> (34,0 ± 2,1 pA) comparé aux souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup> (31,3 ± 2,0 pA) (*c*<sub>2</sub>, test K-S, *p* = 0,54, *D* = 0,07 et test *t* non apparié, *p* = 0,38).

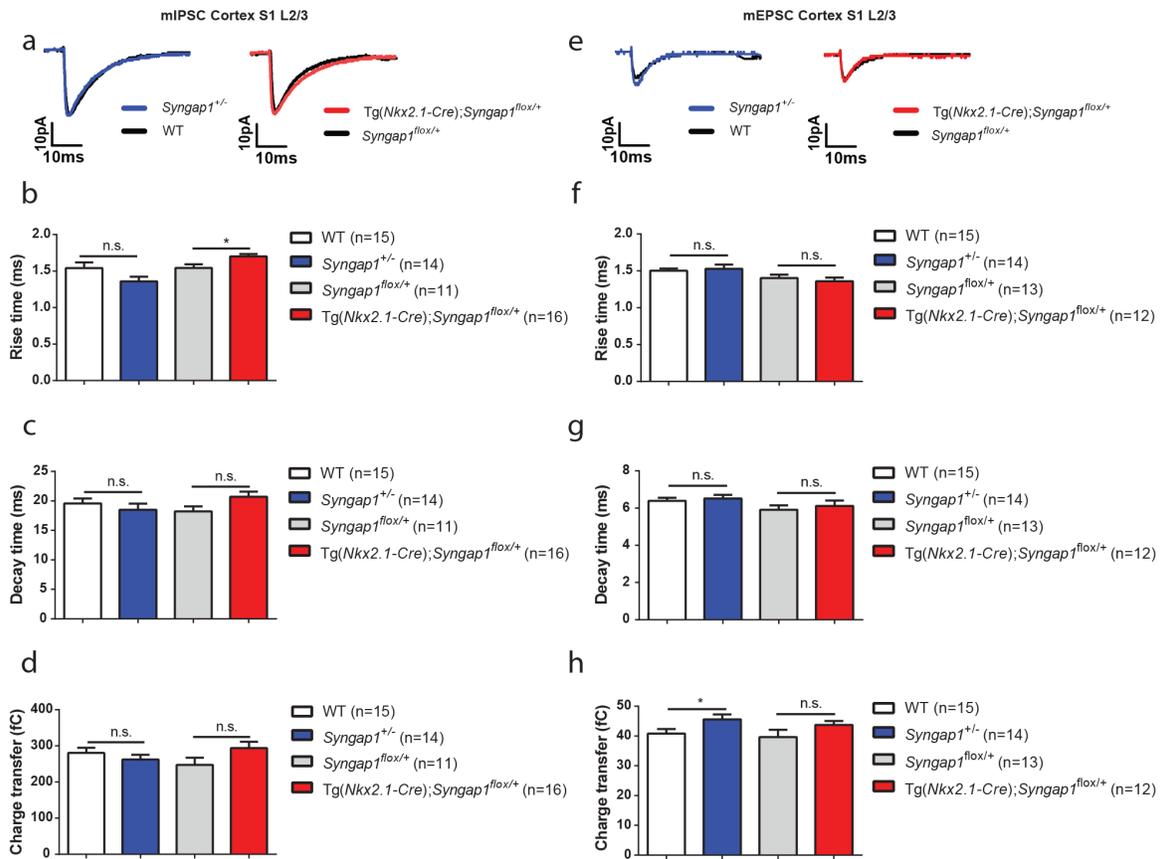
*n* = 15 neurones provenant de 6 souris WT, *n* = 14 provenant de 4 souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>, *n* = 11 neurones provenant de 3 souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup>, *n* = 16 provenant de 4 souris *Tg(Nkx2.1-cre); Syngap1*<sup>flox/+</sup>. Les barres d'erreur représentent la moyenne ± l'erreur type dans cette figure et les suivantes.



**Figure 4.2** La transmission glutamatergique dans les couches 2/3 du cortex S1 est augmentée à la fois chez les souris *Syngap1<sup>+/-</sup>* et les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup>*.

Tracés représentatifs des mEPSCs enregistrés de cellules pyramidales dans les couches 2/3 du cortex somatosensoriel des souris WT vs. *Syngap1<sup>+/-</sup>* (a<sub>1</sub>) et des souris *Syngap1<sup>fllox/+</sup>* vs. *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup>* (a<sub>2</sub>). L'intervalle inter-évènement (IEI) des mEPSCs reste inchangé chez les souris *Syngap1<sup>+/-</sup>* comparé au souris WT (b<sub>1</sub>, test K-S,  $p = 0,99$ ,  $D = 0,03$  et test t non apparié,  $p = 0,88$ ), mais est diminué chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup>* ( $177,8 \pm 16,7$  ms) comparé aux souris *Syngap1<sup>fllox/+</sup>* ( $293,1 \pm 41,0$  ms) (b<sub>2</sub>, test K-S,  $**p < 0,01$ ,  $D = 0,16$  et test t non apparié,  $*p < 0,05$ ). L'amplitude des mEPSCs est augmentée chez les souris *Syngap1<sup>+/-</sup>* comparé au souris WT (c<sub>1</sub>, test K-S,  $***p < 0,001$ ,  $D = 0,16$  et test t non apparié,  $*p < 0,05$ ) et chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup>* ( $12,0 \pm 0,4$  pA) comparé aux souris *Syngap1<sup>fllox/+</sup>* ( $11,0 \pm 0,3$  pA) (c<sub>2</sub>, test K-S,  $**p < 0,01$ ,  $D = 0,14$  et test t non apparié,  $p = 0,06$ ).

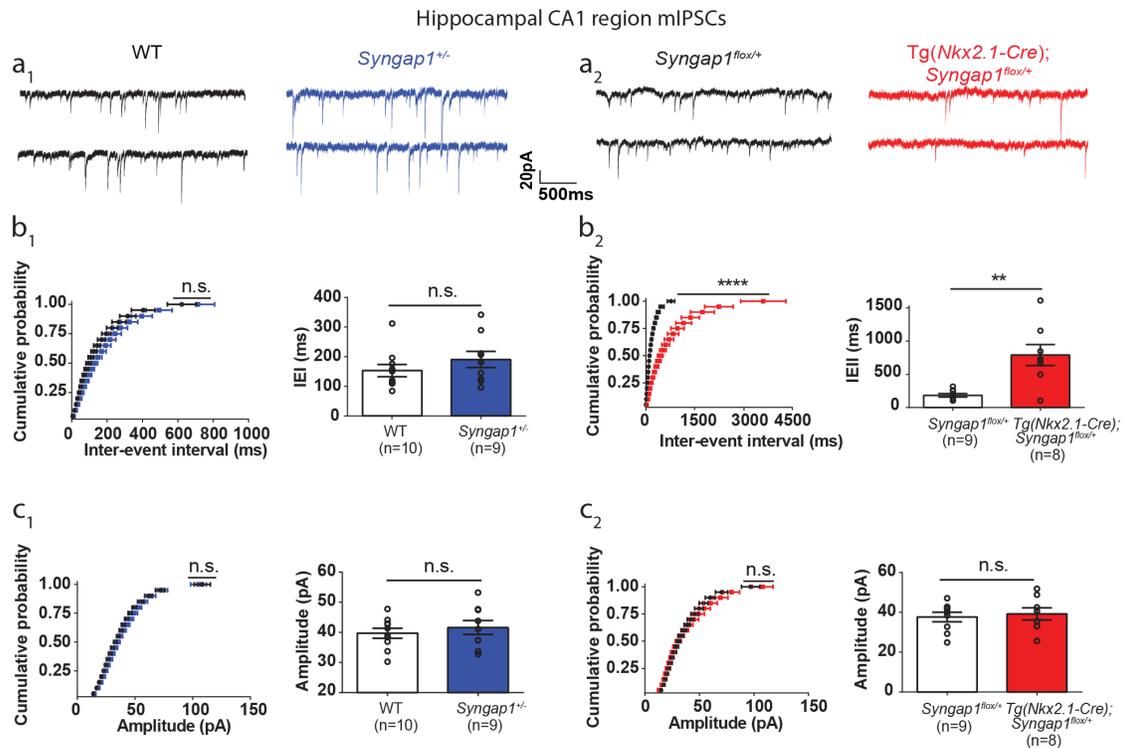
$n = 15$  neurones provenant de 4 souris WT,  $n = 14$  provenant de 4 souris *Syngap1<sup>+/-</sup>*,  $n = 13$  neurones provenant de 3 souris *Syngap1<sup>fllox/+</sup>*,  $n = 12$  provenant de 3 souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup>*.



**Figure 4.3** Les propriétés cinétiques des mIPSCs et mEPSCs des cellules pyramidales dans les couches 2/3 du cortex S1 sont essentiellement inchangées par l'haploinsuffisance de *Syngap1*.

Tracés de mIPSC moyens enregistrés de cellules pyramidales de la couche 2/3 du cortex somatosensoriel (a). Le temps de montée des mIPSCs est inchangé chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> vs. WT (b, test t non apparié,  $p = 0,07$ ), mais est légèrement augmenté chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup> vs. *Syngap1*<sup>fllox/+</sup> (b, test t non apparié,  $*p < 0,05$ ). Le temps de décroissance (c, test t non apparié,  $p = 0,42$  et  $p = 0,06$ ) ainsi que le transfert de charge (d, test t non apparié,  $p = 0,34$  et  $p = 0,09$ ) sont inchangés.  $n = 15$  neurones provenant de 6 souris WT,  $n = 14$  provenant de 4 souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>,  $n = 11$  neurones provenant de 3 souris *Syngap1*<sup>fllox/+</sup>,  $n = 16$  provenant de 4 souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup>.

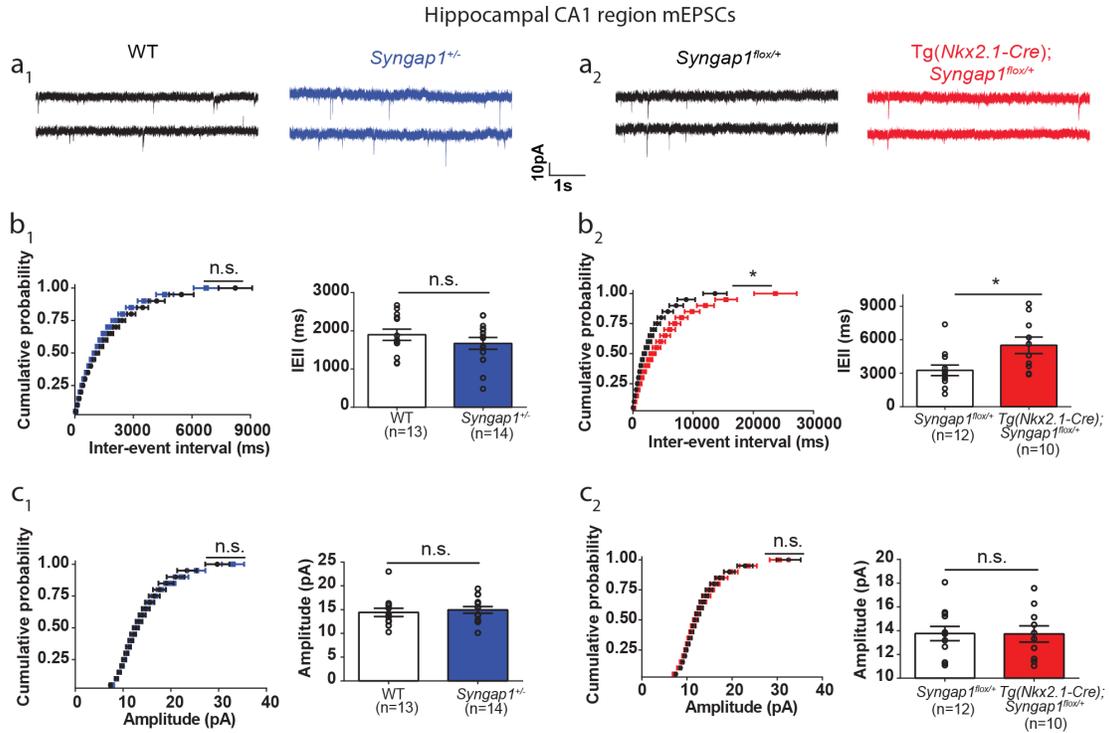
Tracés de mEPSC moyens enregistrés sur les cellules pyramidales de la région du CA1 de l'hippocampe (e). Le temps de montée (f, test t non apparié,  $p = 0,71$  et  $p = 0,50$ ) et le temps de décroissance (g, test t non apparié,  $p = 0,62$  et  $p = 0,58$ ) sont inchangés. Le transfert de charge est augmenté chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> vs. WT (h, test t non apparié,  $*p < 0,05$ ), mais est inchangé chez les souris *Syngap1*<sup>fllox/+</sup> vs. *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup> (test t non apparié,  $p = 0,16$ ).  $n = 15$  neurones provenant de 4 souris WT,  $n = 14$  provenant de 4 souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>,  $n = 13$  neurones provenant de 3 souris *Syngap1*<sup>fllox/+</sup>,  $n = 12$  provenant de 3 souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup>.



**Figure 4.4.** L'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurons dérivés du MGE cause une diminution de la transmission GABAergique dans la région du CA1 de l'hippocampe des souris.

Tracés représentatifs des mIPSCs enregistrés de cellules pyramidales dans la région du CA1 de l'hippocampe des souris WT vs. *Syngap1*<sup>+/-</sup> (a<sub>1</sub>) et des souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup> vs. *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup> (a<sub>2</sub>). L'intervalle inter-événement (IEI) des mIPSCs reste inchangé chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (190,5 ± 27,4 ms) comparé au souris WT (153,2 ± 20,8 ms) (b<sub>1</sub>, test K-S, p = 0,12, D = 0,12 et test t non apparié, p = 0,28), mais est considérablement augmenté chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup> (789,5 ± 157,3 ms) comparé aux souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup> (184,2 ± 25,9 ms) (b<sub>2</sub>, test K-S, \*\*\*\*p < 0,0001, D = 0,41 et test t non apparié, \*\*p < 0,01). L'amplitude des mIPSCs reste inchangée chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (41,6 ± 2,3 pA) comparé au souris WT (39,7 ± 1,6 pA) (c<sub>1</sub>, test K-S, p = 0,61, D = 0,077 et test t non apparié, p = 0,50) et chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup> (39,2 ± 3,0 pA) comparé aux souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup> (37,7 ± 2,4 pA) (c<sub>2</sub>, test K-S, p = 0,90, D = 0,06111 et test t non apparié, p = 0,70).

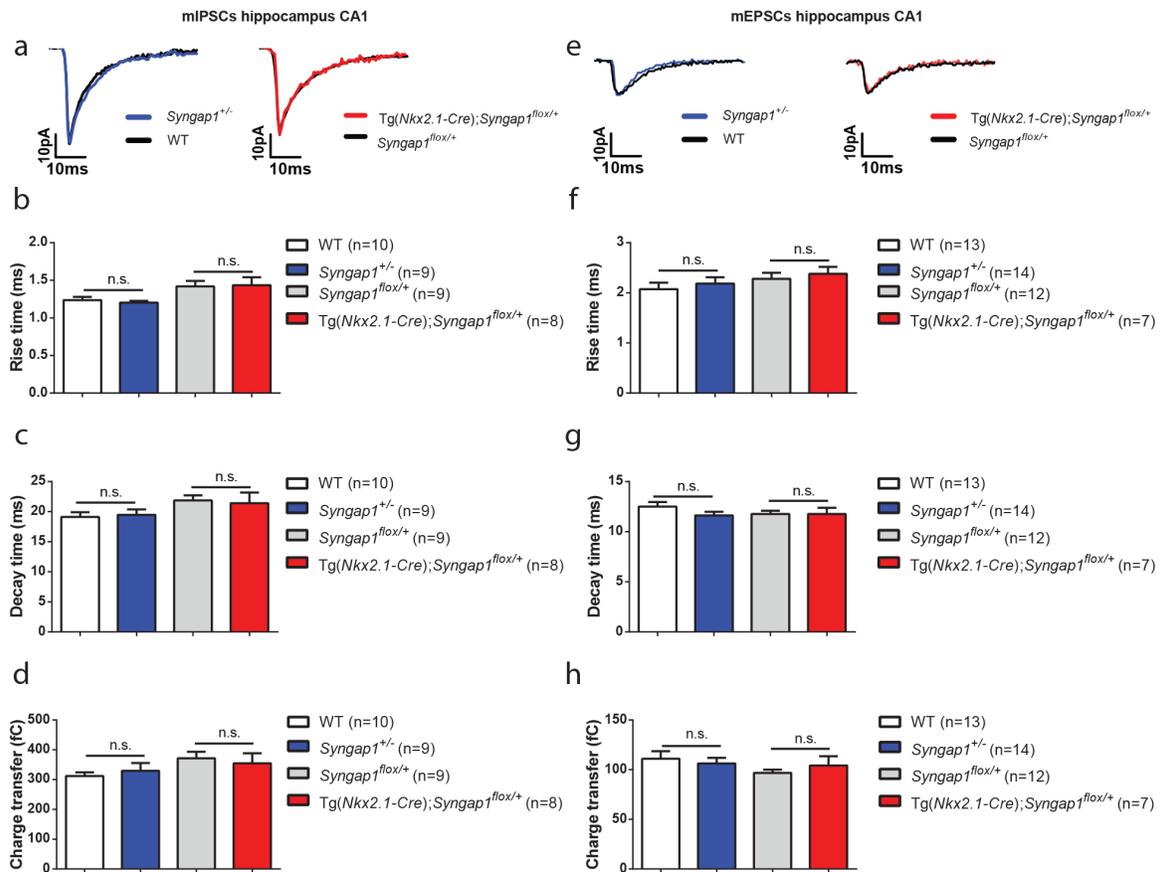
n = 10 neurones provenant de 3 souris WT, n = 9 provenant de 3 souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>, n = 9 neurones provenant de 4 souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup>, n = 8 provenant de 5 souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup>.



**Figure 4.5.** L'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurons dérivés du MGE cause une diminution de la transmission glutamatergique dans la région du CA1 de l'hippocampe des souris.

Tracés représentatifs des mEPSCs enregistrés de cellules pyramidales dans la région du CA1 de l'hippocampe des souris WT vs. *Syngap1*<sup>+/-</sup> (a<sub>1</sub>) et des souris *Syngap1*<sup>fllox/+</sup> vs. *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup> (a<sub>2</sub>). L'intervalle inter-événement (IEI) des mEPSCs reste inchangé chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (1671 ± 154 ms) comparé au souris WT (1898 ± 147 ms) (b<sub>1</sub>, test K-S, p = 0,41, D = 0,07 et test t non apparié, p = 0,29), mais est augmenté chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup> (5495 ± 731 ms) comparé aux souris *Syngap1*<sup>fllox/+</sup> (3252 ± 476 ms) (b<sub>2</sub>, test K-S, \*p < 0,05, D = 0,14 et test t non apparié, \*p < 0,05). L'amplitude des mEPSCs reste inchangée chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (14,9 ± 0,7 pA) comparé au souris WT (14,4 ± 0,9 pA) (c<sub>1</sub>, test K-S, p = 0,97, D = 0,04 et test t non apparié, p = 0,64) et chez les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup> (13,7 ± 0,7 pA) comparé aux souris *Syngap1*<sup>fllox/+</sup> (13,8 ± 0,6 pA) (c<sub>2</sub>, test K-S, p = 0,97, D = 0,05 et test t non apparié, p = 0,96).

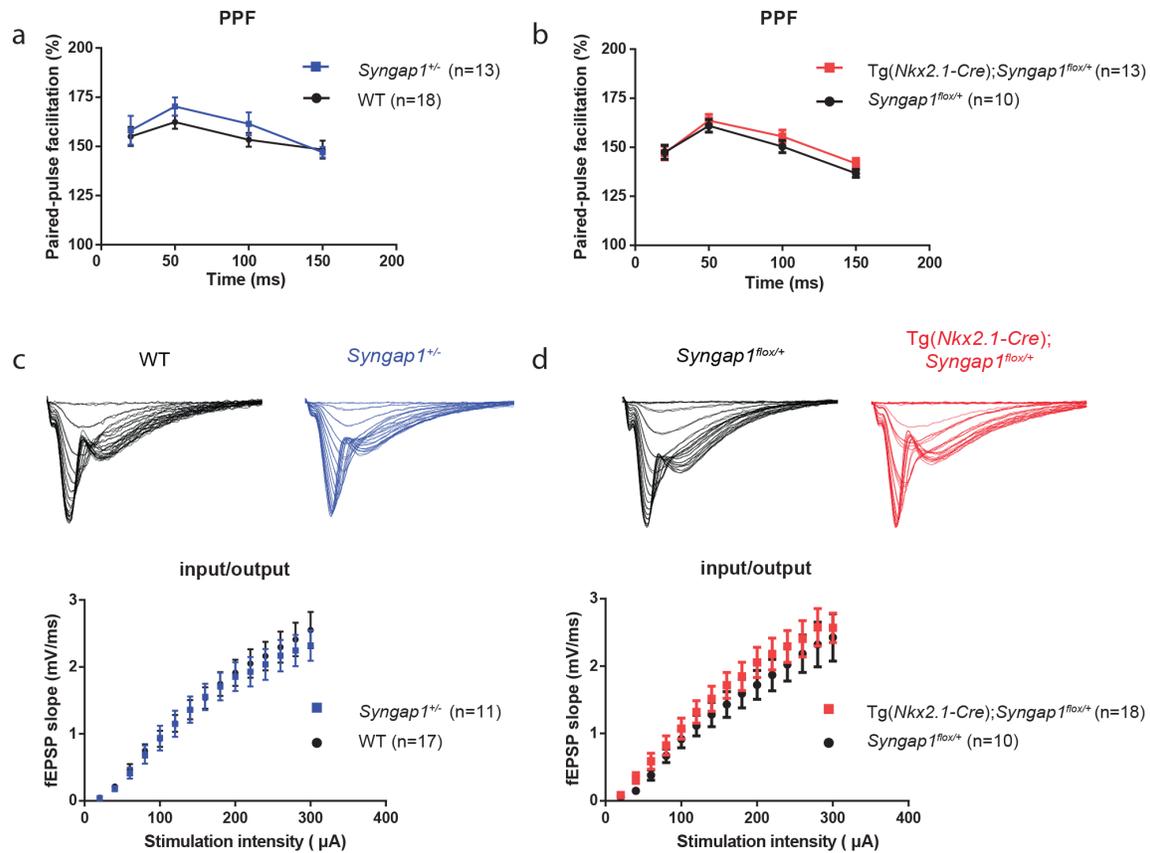
n = 13 neurones provenant de 6 souris WT, n = 14 provenant de 6 souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>, n = 12 neurones provenant de 4 souris *Syngap1*<sup>fllox/+</sup>, n = 10 provenant de 4 souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup>.



**Figure 4.6. Les propriétés cinétiques des mIPSCs et mEPSCs des cellules pyramidales de la région CA1 de l'hippocampe restent inchangées par l'haploinsuffisance de *Syngap1*.**

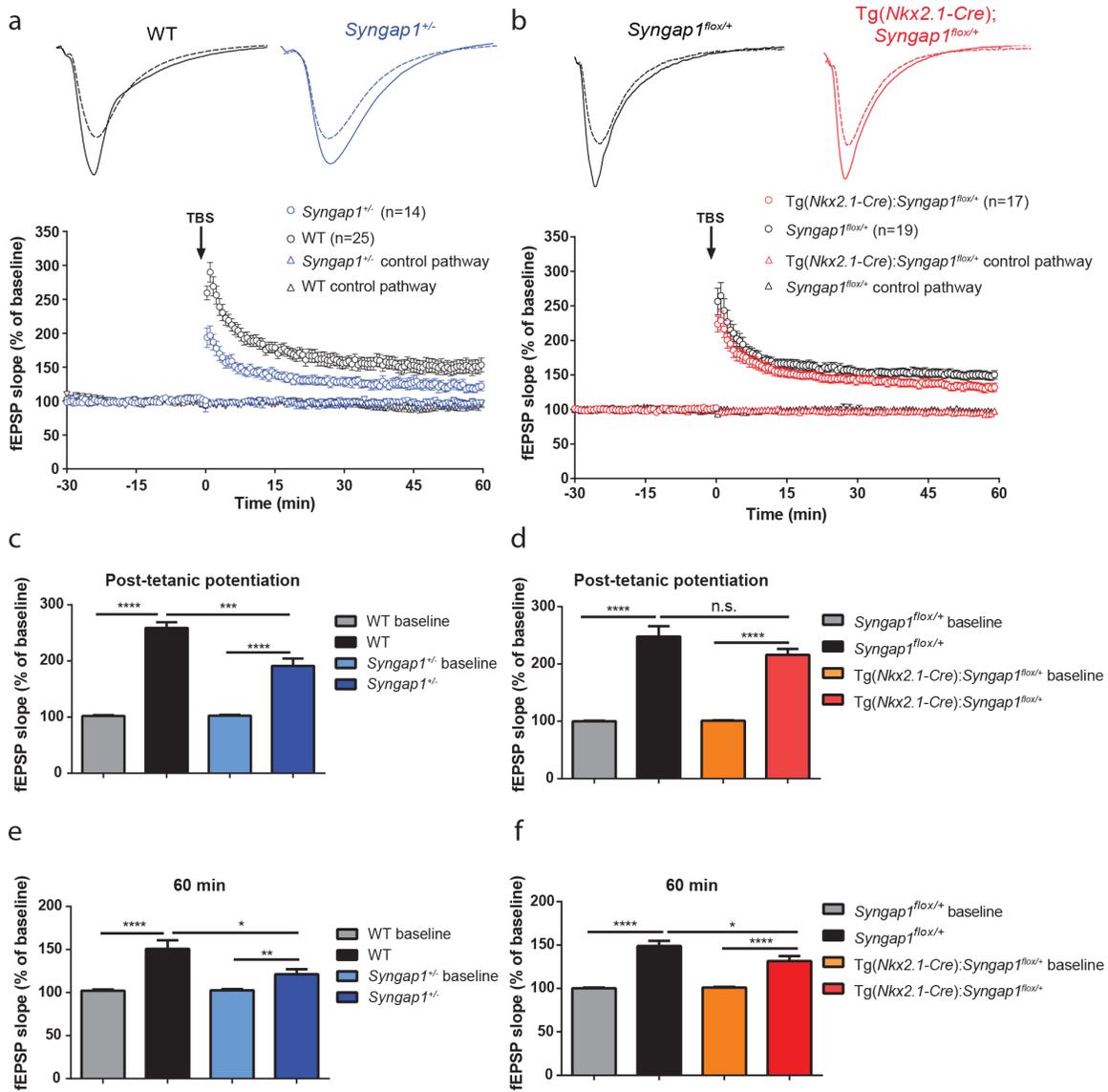
Tracés de mIPSC moyens enregistrés de cellules pyramidales dans la région du CA1 de l'hippocampe (a). Le temps de montée des mIPSCs est inchangé chez les souris WT vs. *Syngap1*<sup>+/-</sup> (b, test t non apparié, p = 0,48) et des souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup> vs. *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup> (b, test t non apparié, p = 0,89). Le temps de décroissance (c, test t non apparié, p = 0,78 et p = 0,80) ainsi que le transfert de charge (d, test t non apparié, p = 0,54 et p = 0,68) sont inchangés. n = 10 neurones provenant de 3 souris WT, n = 9 provenant de 3 souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>, n = 9 neurones provenant de 4 souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup>, n = 8 provenant de 5 souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup>.

Tracés de mEPSC moyens enregistrés sur les cellules pyramidales de la région du CA1 de l'hippocampe (e). Le temps de montée (f, test t non apparié, p = 0,53 et p = 0,91), le temps de décroissance (g, test t non apparié, p = 0,14 et p = 0,94) ainsi que le transfert de charge (h, test t non apparié, p = 0,60 et p = 0,69) sont inchangés chez les souris WT vs. *Syngap1*<sup>+/-</sup> et les souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup> vs. *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup>. n = 13 neurones provenant de 6 souris WT, n = 14 provenant de 6 souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>, n = 12 neurones provenant de 4 souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup>, n = 10 provenant de 4 souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup>.



**Figure 4.7** Propriétés de base de la transmission synaptique des souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup>

La facilitation par impulsion appariée (PPF) était comparable entre les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> vs. WT (a) (ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,29)} = 0,72$  et  $p = 0,40$ ) et entre les souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup> vs. *Syngap1*<sup>fllox/+</sup> (b) (ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,21)} = 0,74$ ,  $p = 0,40$ ). (PPF : n= 13 tranches pour 3 souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et n = 18 tranches pour 3 souris WT; n = 13 tranches pour 2 souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup> et n = 10 tranches pour 2 souris *Syngap1*<sup>fllox/+</sup>). Tracés représentatifs de la relation entrée/sortie (*input/output*) de la transmission synaptique (c, d). La relation entrée/sortie était semblable entre les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> vs. WT (c) (ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,26)} = 0,10$  et  $p = 0,75$ ) et entre les souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup> vs. *Syngap1*<sup>fllox/+</sup> (d) (ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,26)} = 0,65$ ,  $p = 0,42$ ). (*Input/output* : n= 11 tranches pour 3 souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>, n =17 tranches pour 4 souris WT; n = 18 tranches pour 4 souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup>, n = 10 tranches pour 2 souris *Syngap1*<sup>fllox/+</sup>).

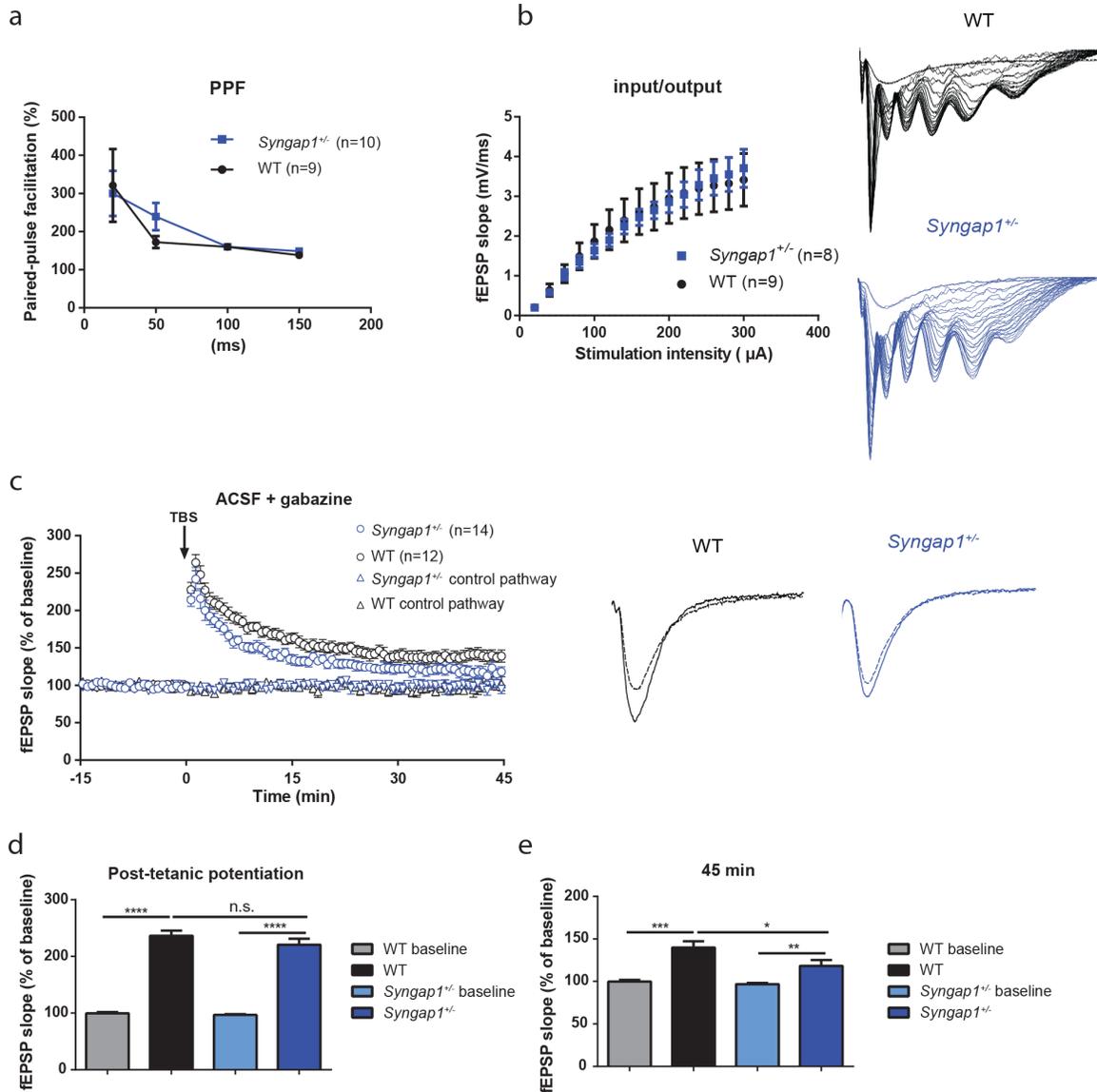


**Figure 4.8.** La LTP NMDAR-dépendante est diminuée chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1*<sup>lox/+</sup>

Tracés représentatifs des fEPSPs avant (ligne pointillée) et après induction (ligne pleine) (a,b). La LTP NMDAR-dépendante a été induite par un protocole de stimulation par bouffées thêta (TBS) composé de 5 bouffées comprenant quatre pulses de 100Hz séparés par 200ms. Les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> démontraient une potentialisation post-tétanique (PTP) plus faible que les souris WT ( $191,1 \pm 13,2\%$  vs  $258,8 \pm 10,4\%$ ) (c, test t non apparié,  $***p < 0,001$ ). La PTP était semblable chez les souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1*<sup>lox/+</sup> ( $215,8 \pm 10,5\%$ ) par rapport aux souris *Syngap1*<sup>lox/+</sup> ( $248,0 \pm 17,9\%$ ) (d, test t non apparié,  $p = 0,14$ ). Une LTP était présente 60 minutes après induction chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (test t apparié,  $**p < 0,01$ ) et les souris WT (test t apparié,  $****p < 0,0001$ ) (e). Cependant, la LTP des souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> était significativement plus faible ( $121,3 \pm 5,8\%$  vs  $150,7 \pm 10,1\%$ , test t non apparié,  $*p < 0,05$ ). Les souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1*<sup>lox/+</sup> démontraient également une LTP 60 minutes après induction (f, test t apparié,  $****p < 0,0001$ ).

0,0001), mais était significativement plus faible que celle des souris *Syngap1<sup>fllox/+</sup>* ( $131,6 \pm 5,6$  % vs  $149,0 \pm 5,8$  %, test t non apparié, \* $p < 0,5$ ).

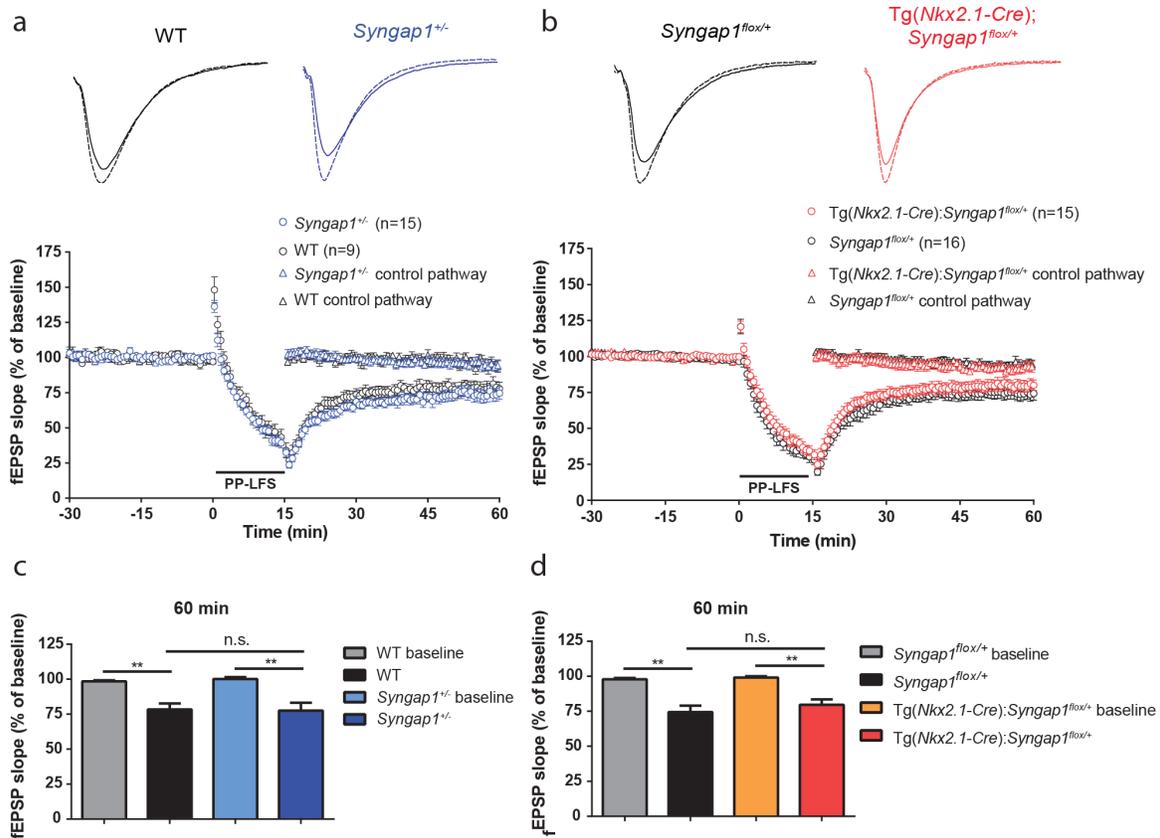
(n = 14 tranches pour 5 souris *Syngap1<sup>+/-</sup>*, n = 25 tranches pour 6 souris WT; n = 17 tranches pour 5 souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup>*, n = 19 tranches pour 10 souris *Syngap1<sup>fllox/+</sup>*).



**Figure 4.9. La LTP NMDAR-dépendante chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> en l'absence de transmission GABAergique.**

La PPF en présence de 5µM gabazine était semblable entre les souris WT et les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (a, ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,68)} = 0,23$ ,  $p = 0,62$ ) (n = 10 tranches pour 3 souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>, n = 9 tranches pour 4 souris WT). Tracés représentatifs de la relation entrée/sortie de la transmission synaptique (b). La relation d'entrée/sortie était également entre les souris WT et les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (b, ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,15)} = 0,001$ ,  $p = 0,97$ ) (n = 8 tranches pour 3 souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>, n = 9 tranches pour 4 souris WT). Tracés représentatifs des fEPSPs avant (ligne pointillée) et après induction (ligne pleine) (c). La LTP NMDAR-dépendante a été induite par le même protocole de TBS utilisé précédemment en présence de 5µM de gabazine tout le long de l'enregistrement (n = 14 tranches pour 3 souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>, n = 12 tranches pour 4 souris WT). La PTP était semblable entre les souris WT et les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> sous gabazine ( $236,5 \pm 9,0$

% vs.  $220,6 \pm 10,5$  %) (d, test t non apparié,  $p = 0,26$ ). Une LTP était présente chez les souris WT (test t apparié,  $***p < 0,0001$ ) et chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (test t apparié,  $**p 0,01$ ) 45 minutes après induction (e). Cependant, la LTP des souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> était significativement moindre que celle des souris WT ( $118,3 \pm 6,7$  % vs.  $139,8 \pm 7,5$  %) (test t non apparié,  $p < 0,05$ ).



**Figure 4.10.** La LTD NMDAR-dépendante est inchangée chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup>.

Tracés représentatifs des fEPSPs avant (ligne pointillée) et après induction (ligne pleine) (a, b). La LTD NMDAR-dépendante a été induite par un protocole de stimulation par impulsions appariées à basse fréquence (PP-LFS). Les souris WT (test t apparié, \*\* $p < 0,01$ ) et les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (test t apparié, \*\* $p < 0,01$ ) démontraient une LTD 60 minutes après induction. Cependant, cette LTD n'était pas significativement différente entre les souris WT et les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> ( $78,4 \pm 4,3\%$  vs  $77,6 \pm 5,6\%$ , test t non apparié,  $p = 0,91$ ). Les souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup> (test t apparié, \*\*\*\* $p < 0,0001$ ) et les souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup> (test t apparié, \*\*\*\* $p < 0,0001$ ) montraient également une LTD, mais qui n'était pas significativement différente ( $74,5 \pm 4,5\%$  vs.  $79,7 \pm 3,8\%$ ) (d, test t non apparié,  $p = 0,38$ ). (n = 15 tranches pour 5 souris *Tg(Nkx2.1-cre);Syngap1*<sup>flox/+</sup>, n = 9 tranches pour 4 souris *Syngap1*<sup>flox/+</sup>).

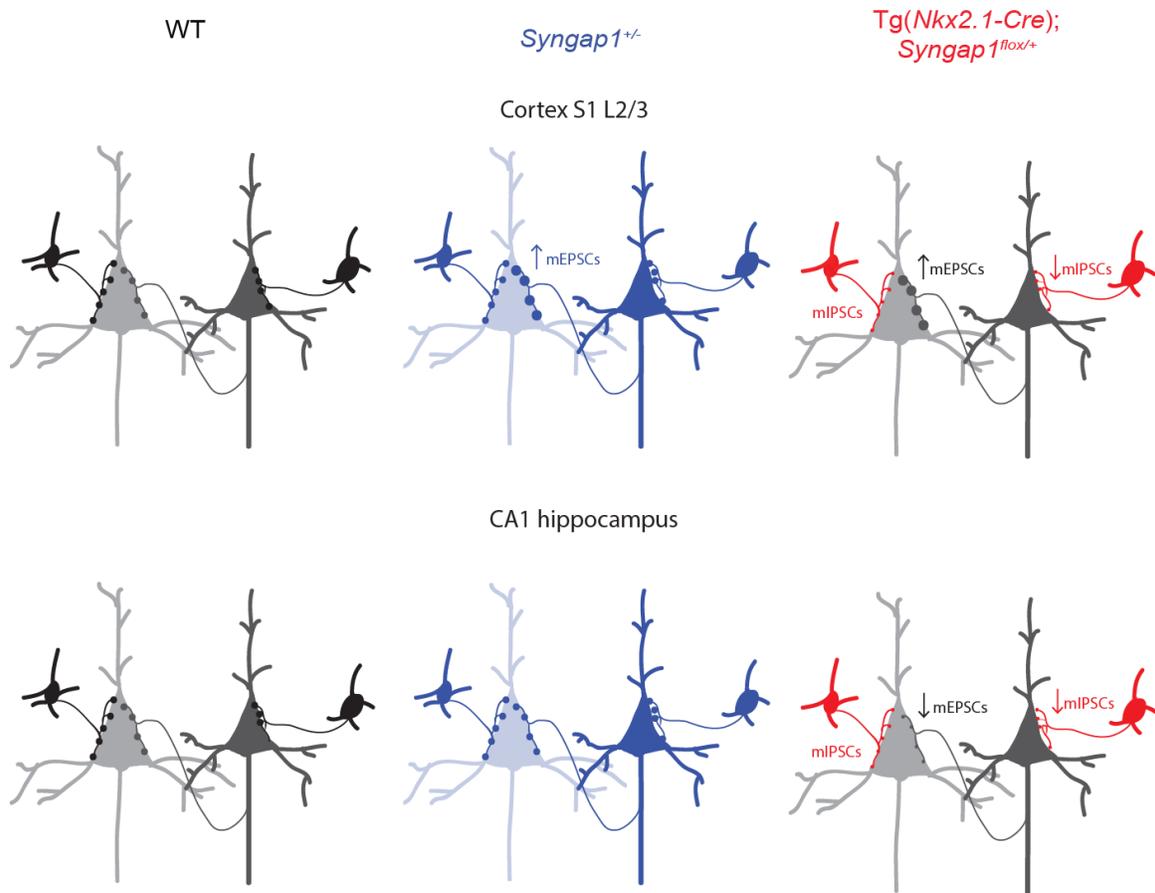
## CHAPITRE V : DISCUSSION GÉNÉRALE

### 5.1 RETOUR SUR LES OBJECTIFS ET LES RÉSULTATS

L'objectif principal de ce mémoire était de démontrer que l'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurons GABAergiques était en partie responsable des déficits synaptiques observés chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>. Pour cela, nous avons généré un modèle de souris transgénique, Tg(*Nkx2.1-Cre*);*Syngap1*<sup>flox/+</sup>, dont l'expression de *Syngap1* a été diminuée spécifiquement dans les interneurons dérivés de MGE qui constituent la grande partie des interneurons.

Nous voulions dans un premier temps déterminer si un déséquilibre du ratio E/I était présent chez ces souris, selon une théorie émergente pour expliquer les troubles cognitifs. Nous avons donc enregistré les mIPSCs dans les cellules pyramidales du cortex S1 et dans le CA1 de l'hippocampe de ces souris. Nous avons observé que la transmission synaptique inhibitrice était diminuée dans ces deux structures chez les souris Tg(*Nkx2.1-Cre*);*Syngap1*<sup>flox/+</sup>, mais pas chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>. Il est donc possible qu'un phénomène compensatoire soit présent lorsque l'expression de *Syngap1* est diminuée à la fois dans les interneurons et les neurones excitateurs. De manière intéressante, en enregistrant également les mEPSCs, nous avons trouvé que la transmission synaptique excitatrice était modifiée chez ces souris Tg(*Nkx2.1-Cre*);*Syngap1*<sup>flox/+</sup> de manière différente dans le cortex et l'hippocampe. Au niveau du cortex S1, cette transmission glutamatergique était augmentée alors qu'elle était diminuée dans le CA1 de l'hippocampe (**Figure 5.1**).

Dans un deuxième temps, nous avons voulu déterminer si les mécanismes de plasticité synaptique qui sous-tendraient l'apprentissage étaient également affectés chez les souris Tg(*Nkx2.1-Cre*);*Syngap1*<sup>flox/+</sup>. Ces souris démontraient un déficit d'expression de la LTP, mais pas de la LTD. Nous avons également démontré que le déficit d'expression de la LTP rapporté par d'autres groupes chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (Komiyama et al., 2002, Kim et al., 2003) serait en partie causé par un dérèglement de la transmission GABAergique.



**Figure 5.1 Représentation schématique des résultats chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et *Tg(Nkx2.1-Cre); Syngap1*<sup>lox/+</sup>**

Les neurones affectés par l'haploinsuffisance de *Syngap1* sont représentés en bleu chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et en rouge chez les souris *Tg(Nkx2.1-Cre); Syngap1*<sup>lox/+</sup>. Les modifications synaptiques causées de manière cellulaire autonome (*cell autonomous*) de *Syngap1* sont représentées par les flèches bleues chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> et en rouge chez les souris *Tg(Nkx2.1-Cre); Syngap1*<sup>lox/+</sup>. Les modifications synaptiques qui ne sont pas dues à un effet cellule autonome (*non-cell autonomous*) sont représentées par les flèches noires.

## 5.2 LE DÉVELOPPEMENT DE L'INNERVATION AXONALE

### 5.2.1 L'IMPORTANCE DE L'ACTIVITÉ DANS LE DÉVELOPPEMENT DE L'INNERVATION GABAERGIQUE

Nos résultats chez les souris *Tg(Nkx2.1-Cre); Syngap1*<sup>lox/+</sup> montrent que la diminution de l'expression de *Syngap1* dans les interneurons GABAergiques dérivés du

MGE affecte leur capacité à innover les cellules principales dans le cortex S1 et dans le CA1 de l'hippocampe qui résulte en une diminution de la transmission synaptique inhibitrice. Le développement des interneurons est un processus complexe qui se fait en plusieurs étapes distinctes (voir section 1.2.3). Ils doivent d'abord être générés dans le MGE pour pouvoir ensuite migrer vers leur destination finale dans le cerveau. Une fois cette étape passée, les interneurons doivent sélectionner leur cible pour ensuite pouvoir étendre le développement de leur arborisation axonale. La sélection des cibles des interneurons est un processus qui serait indépendant de l'activité neuronale et dépendrait davantage des facteurs génétiques (Di Cristo, 2007, Huang, 2006). Ceci expliquerait pourquoi nos résultats montrent que le nombre de cellules pyramidales innervées par les interneurons n'est pas affecté par nos expériences en cultures (Berryer et al. 2015, en révision).

Cependant, la maturation des synapses inhibitrices se poursuit après la naissance jusqu'à l'adolescence et est un processus qui est dépendant de l'activité neuronale (Huang, 2009). Entre autres, la privation sensorielle durant la période critique a un impact significatif sur le développement de l'innervation GABAergique dans le cortex visuel (Chattopadhyaya et al., 2004). La libération de GABA semble être nécessaire pour le développement de l'innervation des interneurons. En effet, la réduction de la synthèse de GABA diminue le nombre de synapses inhibitrices (Chattopadhyaya et al., 2007). La libération de GABA permettrait de coordonner les composantes pré- et postsynaptiques lors de la formation des synapses inhibitrice (Huang, 2009). Il est fort possible que la diminution de l'expression de *Syngap1* affecte l'activité synaptique que reçoivent les interneurons et par conséquent affecte le développement de la maturation de leur synapse. Bien que la fonction de *Syngap1* dans les interneurons n'est pas connue, le rôle que joue cette protéine au niveau des synapses glutamatergiques comme régulateur négatif de Ras suggère que les interneurons GABAergiques affectés par l'haploinsuffisance de *Syngap1* pourraient recevoir une plus grande activité excitatrice due à une augmentation des AMPARs via une hyperactivité de ERK (Rumbaugh et al., 2006, Ozkan et al., 2014, Clement et al., 2012). En plus de Ras, *Syngap1* régule au niveau des neurones excitateurs d'autres petites GTPases incluant Rac et Rap (Pena et al., 2008, Carlisle et al., 2008) qui sont toutes impliquées dans le développement axonal (Hall and Lalli, 2010). La

perturbation de ces voies causée par l'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurons pourrait expliquer en partie les déficits observés. Il sera donc important d'investiguer dans le futur comment la transmission excitatrice est altérée sur les interneurons atteints par l'haploinsuffisance de *Syngap1* pour pouvoir répondre à ces questions.

Il est également possible que l'innervation GABAergique sur les interneurons soit également diminuée puisque nos résultats semblent indiquer qu'il s'agit d'un effet cellule autonome (*cell autonomous*). Ces interneurons pourraient donc être plus excitables et être en mesure de libérer plus de GABA. Ceci pourrait laisser croire que les interneurons affectés par l'haploinsuffisance de *Syngap1* devraient plutôt accroître davantage le développement de leur innervation. Pourtant, nous observons l'effet contraire. Il se trouve que le blocage complet de libération du GABA résulte au contraire à une surcroissance des synapses inhibitrices (Wu et al., 2012). Il semble donc que le GABA possède à la fois un rôle dans le développement et l'élagage des synapses inhibitrices. Il s'agit donc d'un processus dynamique et qui n'est pas incompatible avec nos résultats observés puisqu'un certain niveau de transmission GABAergique est nécessaire pour l'élimination des synapses inhibitrices au cours du développement.

De manière intéressante, une étude récente rapporte que les propriétés intrinsèques des interneurons PV<sup>+</sup> sont modifiées chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> au cours du développement postnatal (Ozkan et al., 2014). Plus précisément, l'excitabilité et la fréquence de décharge des interneurons PV<sup>+</sup> étaient diminuées entre la 2<sup>ème</sup> et la 6<sup>ème</sup> semaine après la naissance, mais rétablies à des valeurs normales à la 9<sup>ème</sup> semaine. Une autre explication possible serait que l'excitabilité des interneurons PV<sup>+</sup> serait diminuée par un phénomène compensatoire au cours de leur développement qui a également pour conséquence la diminution de leur innervation.

### 5.2.2 L'IMPORTANCE DE L'ACTIVITÉ DANS LE DÉVELOPPEMENT DE L'INNERVATION GLUTAMATERGIQUE

De manière intéressante, les enregistrements des mEPSCs semblent indiquer une augmentation des synapses glutamatergiques dans le cortex S1 des souris dont l'expression de *Syngap1* n'a été diminuée que dans les interneurons dérivés du MGE. Cet effet ne peut donc pas être la conséquence de la fonction cellule autonome de *Syngap1*. Nous ne savons pas à quel moment du développement apparaît cette augmentation des mEPSCs puisque

nous avons effectué les enregistrements que chez les souris adultes, mais elle pourrait être la conséquence développementale d'un réseau neuronal dont l'inhibition est diminuée. En effet, il est possible que la diminution de l'inhibition sur les cellules pyramidales résulte en une augmentation de leur activité favorisant le développement de leurs synapses d'une manière aberrante. Le cerveau contient tôt dans le développement des connexions synaptiques surnuméraires. L'élagage synaptique consiste en l'élimination sélective des connexions aberrantes et est un processus nécessaire au développement néonatal du cerveau (Luo and O'Leary, 2005, Kano and Hashimoto, 2009). L'activité neuronale est nécessaire à ce processus pour permettre de favoriser et stabiliser les connexions synaptiques fonctionnelles (Hua and Smith, 2004).

Cependant, un effet opposé est observé dans l'hippocampe, dont la transmission excitatrice semble être diminuée sur les cellules pyramidales au niveau du CA1. Il est possible que cette diminution soit le résultat d'une plasticité homéostatique qui est déclenchée dans l'hippocampe, mais pas dans le néocortex. La plasticité homéostatique est un principe voulant que les circuits neuronaux soient en mesure de réguler de manière bidirectionnelle afin d'éviter de devenir hypo- ou hyperexcitable (Lee et al., 2014). Ainsi, la force synaptique peut être augmentée ou diminuée afin de permettre un ajustement synaptique (*synaptic scaling*) (Turrigiano and Nelson, 2004).

### 5.2.3 L'IMPORTANCE TEMPORELLE DE L'EXPRESSION DE *SYNGAP1* DANS LES INTERNEURONES

Au cours de la réalisation de ce mémoire, un autre groupe a rapporté que l'haploinsuffisance de *Syngap1* uniquement dans les interneurones ne causait aucun déficit cognitif ou de transmission synaptique sur les cellules principales du cortex (Ozkan et al., 2014). Cependant, ce groupe a utilisé une lignée de souris conditionnelle sous le contrôle du promoteur de *Gad2* (*Glutamate décarboxylase 2*) au lieu de *Nkx2.1*. Or, il se trouve que ces promoteurs sont exprimés à différents stades du développement. *Nkx2.1* est exprimé dès le stade embryonnaire, aussi tôt que E10,5 (Xu et al., 2008). *Gad2*, qui code pour l'enzyme GAD65 qui, avec GAD67, synthétisent le GABA, n'est exprimé dans certaines régions du cerveau qu'après la naissance (Kiser et al., 1998). Par exemple, dans le cortex S1, GAD65 n'est exprimée qu'à partir de P6 et il se trouve que *Syngap1* est exprimé à partir d'E14.5 (Porter et al., 2005), soit quelques jours après *Nkx2.1* et son expression

atteints un pic entre P7-P14 (Clement et al., 2012). L'expression de GAD65 commence donc juste avant que l'expression de *Syngap1* atteigne un pic dans le cortex S1. Il est possible que l'expression de *Syngap1* soit alors suffisante dans les interneurons des souris *Tg(Gad2-Cre);Syngap1<sup>flox/+</sup>* pour permettre leur développement normal ou compenser les déficits que nous avons observés chez les *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>flox/+</sup>*. De plus, GAD65 est exprimé par l'ensemble des interneurons GABAergiques alors que Nkx2.1 est exprimé principalement par ceux originaires du MGE qui représentent environ 70% des interneurons (Kiser et al., 1998, Pinal and Tobin, 1998, Sussel et al., 1999). Les réseaux neuronaux sont donc affectés différemment entre les souris *Tg(Gad2-Cre);Syngap1<sup>flox/+</sup>* et *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>flox/+</sup>* et peuvent donc entreprendre des réorganisations différentes.

#### 5.2.4 UN PHÉNOMÈNE COMPENSATEUR EST PRÉSENT CHEZ LES SOURIS *SYNGAP1<sup>+/-</sup>*

Bien qu'un phénotype morphologique soit présent, les souris *Syngap1<sup>+/-</sup>* ne démontrent pas de modification dans les mIPSCs ni dans le cortex S1 ni dans le CA1 de l'hippocampe. Traditionnellement, une diminution du nombre de synapses a été associée à une diminution de la fréquence des événements quantiques (Bekkers and Stevens, 1990). Cependant, cette interprétation ne tient pas compte de plusieurs aspects de la libération quantique. En effet, il est possible que la diminution de l'innervation n'affecte pas la fréquence des mIPSCs du à une augmentation des zones actives ou à une augmentation du pool de vésicules de libération amarrées à la membrane présynaptique (Tyler and Pozzo-Miller, 2001). Les mIPSCs ne tiennent également pas compte de la probabilité de libération du neurotransmetteur. Il est donc possible qu'un déficit d'inhibition sur les cellules pyramidales ne soit perceptible uniquement en condition évoquée.

Pourtant, nos résultats en culture et sur notre modèle transgénique conditionnel suggèrent que *Syngap1* régule de manière cellule autonome le développement de l'innervation et la transmission GABAergique des interneurons qui résultent en une diminution des mIPSCs. Il semble donc qu'un phénomène compensatoire soit présent lorsque l'haploinsuffisance de *Syngap1* affecte l'ensemble des neurones du cerveau. De manière intéressante, des études sur le syndrome de Rett, une autre forme de déficience intellectuelle causée par une perte de fonction de MeCP2, montrent essentiellement que la transmission excitatrice est diminuée avec peu ou pas de modification de la transmission

inhibitrice (Dani et al., 2005, Nelson et al., 2006, Sceniak et al., 2015). Pourtant, une étude ayant comme modèle une souris transgénique dont l'expression de MeCP2 a été supprimée uniquement dans les interneurons cause une réduction de la transmission GABAergique qui reproduit plusieurs déficits comportementaux de la maladie (Chao et al., 2010). Ainsi, un mécanisme compensatoire n'est pas propre uniquement au gène *Syngap1* lorsque l'haploinsuffisance n'affecte que les interneurons. Il est possible que les changements concomitants de transmission d'inhibition et d'excitation sur les cellules pyramidales et les interneurons permettent des modifications de réseaux neuronaux au cours du développement qui ne sont pas présents lorsque l'haploinsuffisance de *Syngap1* n'affecte que les interneurons GABAergiques dérivés du MGE. De plus, des interneurons ne provenant pas du MGE sont également affectés par l'haploinsuffisance de *Syngap1* chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>. Certains de ces interneurons, dont les VIP<sup>+</sup>, forment un réseau désinhibiteur à travers le cortex et l'hippocampe en inhibant les interneurons SST<sup>+</sup> et PV<sup>+</sup> dérivés du MGE (Kepecs and Fishell, 2014). Il se peut donc que l'haploinsuffisance de *Syngap1* dans l'ensemble des interneurons GABAergiques permet des ajustements synaptiques homéostatiques qui ne seraient pas engagés lorsque seuls les interneurons dérivés du MGE sont affectés (Berryer et al. 2015, en révision).

## 5.3 L'IMPORTANCE DES INTERNEURONES DANS LA PLASTICITÉ SYNAPTIQUE

### 5.3.1 LA VOIE DE RAS DANS LES INTERNEURONES EST IMPLIQUÉE DANS D'AUTRES DÉSORDRES COGNITIFS

La dérégulation de la voie de Ras est impliquée dans d'autres désordres cognitifs (Rauen, 2013). La NF1, en particulier, est causée par des mutations dans le gène *Nf1* qui est, tout comme *Syngap1*, une Ras-GAP (Costa et al., 2002). Les modèles de souris hétérozygotes montrent des déficits dans la LTP et dans l'apprentissage. *Nf1* semble réguler la libération du GABA et la diminution de l'expression de ce gène cause une augmentation des mIPSCs sur les cellules pyramidales et une hyper-inhibition des réseaux neuronaux qui seraient responsables des déficits cognitifs (Fernandez and Garner, 2007). Le groupe

d'Alcino Silva a également montré qu'un modèle de souris transgénique dont l'expression de *Nfl* a été diminuée uniquement dans les interneurons GABAergiques récapitulait les déficits cognitifs et de plasticité synaptique observés chez les souris hétérozygotes pour *Nfl* (Cui et al., 2008). Notre étude sur *Syngap1* montre au contraire de la NF1 qu'une baisse de l'inhibition qui serait en partie responsable des déficits observés chez les souris hétérozygotes pour ce gène. Il semble donc que *Syngap1* et *Nfl* sont deux Ras-GAP ayant un rôle diamétralement opposé dans les interneurons GABAergiques.

Nous savons qu'au niveau des neurones excitateurs, *Syngap1* interagit avec la sous-unité GluN2 des NMDARs (Kim et al., 2005) et sa fonction Ras-GAP active les voies de Ras-ERK et de PI3K (Kim et al., 1998, Chen et al., 1998). Cependant, il n'est pas connu si *Syngap1* active ces mêmes voies dans les interneurons. *Nfl*, en plus d'activer Ras, semble également pouvoir activer l'adénylate cyclase et la PKA, mais il n'est pas connu avec quelle sous-unité des NMDARs elle interagit (Shilyansky et al., 2010). Il est donc possible que *Syngap1* et *Nfl* interagissent avec différents éléments de la PSD et régulent différentes voies intracellulaires dans les interneurons. Il est même possible que ces deux Ras-GAP soient exprimées à différentes synapses ou différents types d'interneurons GABAergiques. Bien que *Syngap1* et *Nfl* commencent à être exprimés à un stade comparable du développement embryonnaire (~E15), le décours temporel de leur expression postnatale diffère. Alors que l'expression de *Syngap1* atteint un pic vers P7-14 et se stabilise jusqu'à l'âge adulte, celle de *Nfl* est déjà élevée à P2 et diminue considérablement vers P7 (Geist and Gutmann, 1996). Il se peut donc également que juste après la naissance la fonction de RasGAP soit assurée par *Nfl* qui est ensuite assurée à partir d'un stade juvénile jusqu'à l'âge adulte par *Syngap1*.

### 5.3.2 LA DIMINUTION DE L'INHIBITION EST IMPLIQUÉE DANS D'AUTRES DÉSORDRES COGNITIFS

Nos résultats montrent également que la diminution de l'inhibition serait en partie responsable des déficits dans la LTP observée dans l'hippocampe. En effet, les souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>lox/+</sup>* démontrent une diminution de l'expression de la LTP. De manière intéressante, une étude sur le gène *MeCP2* qui est responsable du syndrome de Rett a montré que la perte de ce gène dans les interneurons cause également une diminution de la transmission GABAergique menant à une diminution de l'expression de

la LTP (Chao et al., 2010). Une possibilité avancée par les auteurs est que la diminution de l'inhibition résulte en un réseau neuronal déjà potentialisé qui occlue l'expression de la LTP.

Il existe cependant une explication alternative. Au cours de l'induction de la LTP au niveau des synapses CA3-CA1 les cellules en panier se retrouvent également activées, causant une inhibition proactive sur les cellules pyramidales et une dérivation (*shunting*) des courants excitateurs. L'inhibition de cette inhibition par différents mécanismes est regroupée sous le terme de désinhibition. Une désinhibition réduirait cette dérivation des courants excitateurs sur les cellules pyramidales et il en résulteraient alors en une réponse postsynaptique plus grande (Ormond and Woodin, 2009). Au contraire, une désinhibition diminuée résulterait en une dérivation de courants excitateurs maintenue sur les cellules principales. Cette hypothèse est supportée par le fait que la LTP des souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> soit diminuée par rapport aux souris sauvages et en partie rétablie en présence d'un bloqueur des GABA<sub>A</sub>Rs.

Nous avons montré que la transmission inhibitrice sur les cellules pyramidales est diminuée, mais il est également possible que la transmission inhibitrice sur les interneurones GABAergiques eux-mêmes soit également diminuée. Les interneurones, particulièrement les interneurones PV<sup>+</sup>, sont en effet fortement interconnectés entre eux et entre différents types. Une diminution de l'inhibition reçue par les neurones inhibiteurs donnerait un déficit de désinhibition dans le circuit de l'hippocampe qui pourrait expliquer les déficits d'expression de LTP que nous avons rapportés. Certains interneurones SST<sup>+</sup> qui dérivent du MGE ont pour fonction également de désinhiber les cellules pyramidales en inhibant les cellules en panier (Lovett-Barron and Losonczy, 2014).

Nous avons également rapporté que la phase de PTP chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> était rétablie à des valeurs normales en présence d'un bloqueur des GABA<sub>A</sub>Rs, suggérant que le déficit observé était dû à un dysfonctionnement des interneurones. L'expression de la PTP est essentiellement présynaptique causée par une accumulation de Ca<sup>2+</sup> présynaptique qui augmente la probabilité de libération du glutamate (Regehr, 2012) (voir section 1.6.1.4). Toutefois, les courants excitateurs postsynaptiques qui en résultent peuvent toujours être dérivés par l'inhibition GABAergique. Le blocage de l'inhibition pourrait alors rétablir un déficit de désinhibition qui résulte en une expression normale de la PTP.

Cependant, la PTP des souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>flox/+</sup>* n'était pas modifiée, bien qu'une tendance soit présente (**Figure 4.8**). Il se trouve que le MGE produit environ 70% de l'ensemble des interneurons (Kepecs and Fishell, 2014). La majorité des 30% restants sont produits au niveau du CGE (Sultan et al., 2013), dont les interneurons VIP<sup>+</sup> qui sont les principaux interneurons impliqués dans la désinhibition des circuits corticaux et hippocampiques (Lovett-Barron and Losonczy, 2014, Kepecs and Fishell, 2014). Il est donc possible que nous observions une diminution de la PTP uniquement chez les souris *Syngap1<sup>+/-</sup>* parce que l'haploinsuffisance de *Syngap1* affecte également les interneurons VIP<sup>+</sup> alors que ces derniers sont en mesure d'assurer leur fonction de désinhibition chez les souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>flox/+</sup>*, bien qu'un déficit de désinhibition causé par d'autres types d'interneurons pourrait être responsable du déficit d'expression de la LTP chez ces souris (**Figure 5.2** et **Figure 5.3**).

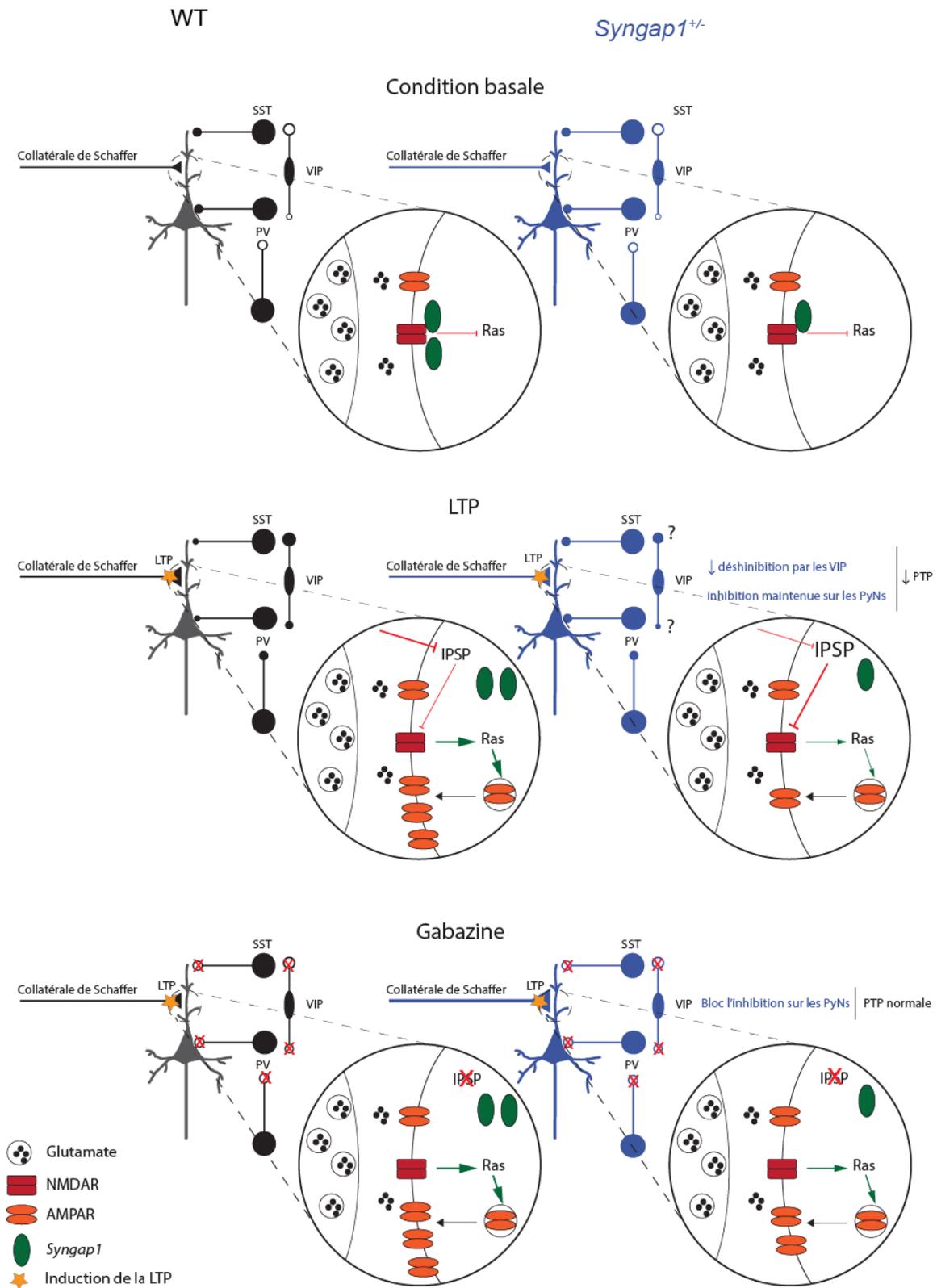
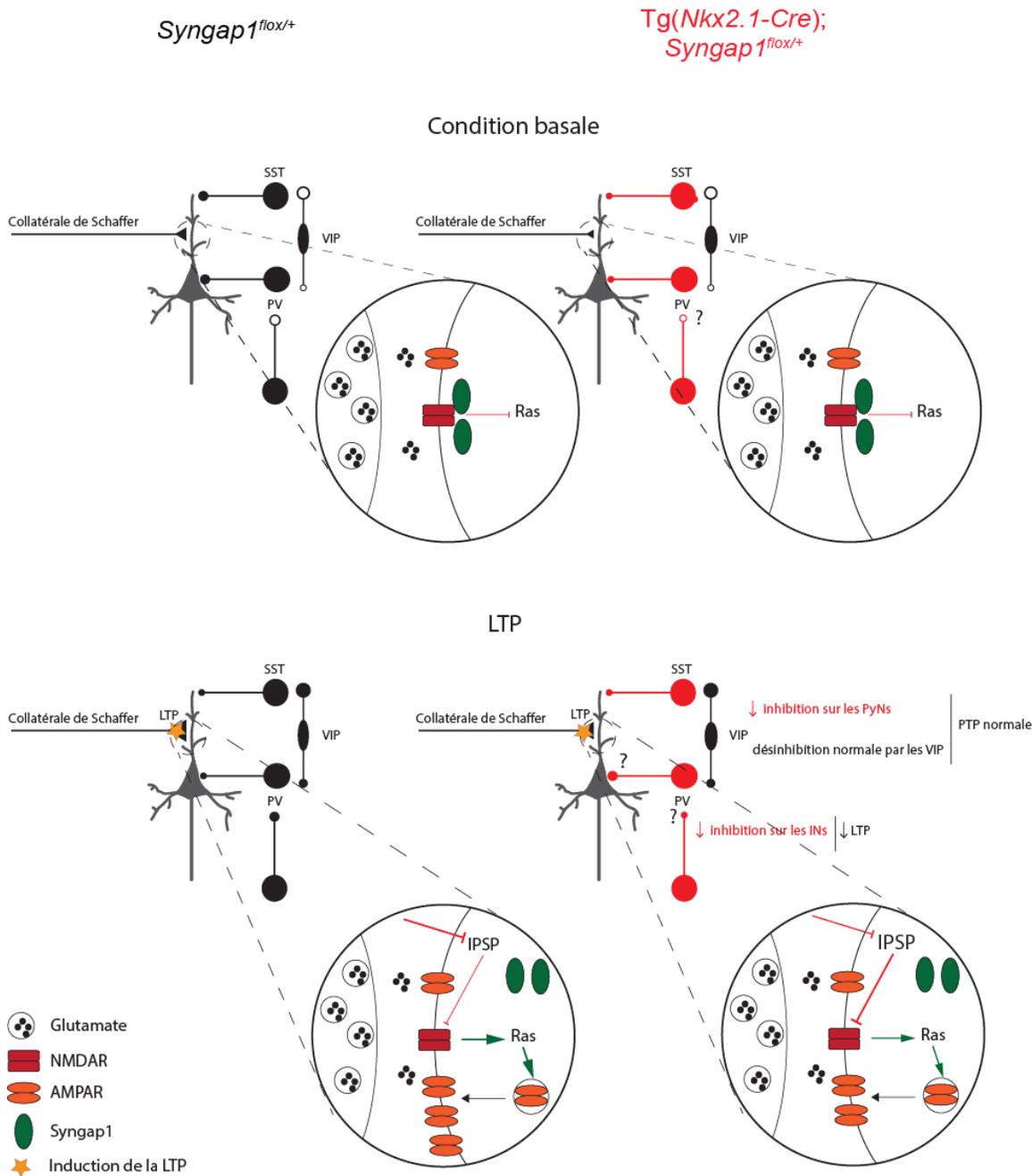


Figure 5.2. Modèle hypothétique du rôle de l'haploinsuffisance de *Syngap1* dans la LTP au niveau du CA1 de l'hippocampe.

(Haut) Les cellules pyramidales reçoivent des afférences excitatrices par les collatérales de Schaffer (synapses CA3-CA1). L'inhibition qu'elles reçoivent provient des interneurons PV<sup>+</sup> et SST<sup>+</sup>. Les interneurons VIP<sup>+</sup> forment un réseau désinhibiteur, inhibant principalement les interneurons SST, mais aussi les interneurons PV<sup>+</sup>. Les interneurons, particulièrement les PV<sup>+</sup>, forment également un réseau interconnecté. L'ensemble des neurones est affecté par l'haploinsuffisance de *Syngap1* chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (illustré en bleu). Les enregistrements des mIPSCs et mEPSCs suggèrent que la transmission synaptique basale n'est pas affectée dans le CA1 des souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>.

(Milieu) Au cours de la LTP, les NMDARs des synapses CA3-CA1 se retrouvent activés. Une étude récente (Araki et al., 2015) suggère que *Syngap1* est dispersé de la synapse suivant l'induction de la LTP, permettant l'activation de Ras et l'insertion de nouveaux AMPARs. Les interneurons sont également activés au cours de la LTP, causant des IPSPs pouvant causer une dérivation (*shunting*) de l'excitation. Cette dérivation pourrait être en partie contrecarrée par la fonction désinhibitrice des interneurons VIP<sup>+</sup> qui sont activés de manière transitoire ainsi que par l'inhibition que reçoivent les interneurons PV<sup>+</sup>. Chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>, le mécanisme de dispersion de *Syngap1* serait perturbé, menant à une plus faible expression de la LTP (Araki et al., 2015). Bien que les mIPSCs et les mEPSCs ne le démontrent pas, il est possible que les réponses évoquées des interneurons GABAergiques soient diminuées, ce qui confirmerait nos résultats observés en culture. L'ensemble des interneurons GABAergiques étant affecté, il est possible que la fonction de désinhibition des interneurons VIP se retrouve diminuée. Cela mènerait à une plus grande dérivation de l'excitation, affectant ainsi l'expression de la PTP.

(Bas) Nos résultats montrent que la PTP est également diminuée chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup>. La PTP est rétablie à des valeurs normales en présence de gabazine, un bloqueur GABA<sub>A</sub>Rs. Cela suggère fortement que la diminution de la désinhibition serait en cause, probablement majoritairement par les interneurons VIP<sup>+</sup>, qui sont les principaux interneurons désinhibiteurs.



**Figure 5.3. Modèle hypothétique de l'implication de l'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurons GABAergiques dérivés MGE et l'expression de la LTP au niveau du CA1 de l'hippocampe.**

(Haut). Nos enregistrements des mEPSCs et mIPSCs suggèrent une diminution de la transmission excitatrice et inhibitrice de base sur les cellules pyramidales du CA1 chez les souris *Tg(Nkx2.1-Cre); Syngap1<sup>flox/+</sup>*. Seuls les interneurons dérivant du MGE, soit les interneurons PV<sup>+</sup> et SST<sup>+</sup> sont atteints par l'haploinsuffisance

de *Syngap1* (illustré en rouge). Il est donc possible que l'innervation des interneurons VIP<sup>+</sup> ne se retrouve pas affectée.

(Bas). Il est possible que la PTP ne soit pas affectée de manière significative chez les souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup>* parce que les interneurons VIP<sup>+</sup> sont en mesure d'assurer leur fonction normale de désinhibition. Cependant, il est possible que l'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurons GABAergiques dérivés du MGE perturbe les réseaux neuronaux d'une manière qui affectent l'expression de la LTP. En effet, il est possible que l'innervation GABAergique sur les interneurons PV<sup>+</sup> soit également diminuée puisque nos résultats suggèrent qu'il s'agisse d'un effet cellule autonome.

## 5.4 PERSPECTIVES FUTURES

### 5.4.1. L'IMPORTANCE DU STADE DÉVELOPPEMENTAL

Certaines observations montrent également que les déficits synaptiques observés chez les souris *Syngap1<sup>+/-</sup>* sont plus sévères au niveau de l'hippocampe chez les jeunes animaux que chez les adultes. Particulièrement, le groupe de Gavin Rumbaugh a rapporté des modifications dans les mEPSCs au niveau du DG chez les souris âgées de P14, âge vers lequel l'expression de *Syngap1* atteint un pic, mais ceux-ci disparaissent à l'âge adulte (Clement et al., 2012). Les auteurs ont donc suggéré que *Syngap1* contrôlerait la trajectoire de maturation des synapses excitatrices durant une période critique présente entre P10-P20. De manière intéressante, ceux-ci ont également rapporté que les mIPSCs étaient modifiés à P14 chez les souris *Syngap1<sup>+/-</sup>*. Il serait donc intéressant d'effectuer des enregistrements autour de cet âge pour vérifier si un déficit au niveau des mIPSCs est présent dans le CA1 chez les souris *Syngap1<sup>+/-</sup>*. Il serait également intéressant d'effectuer des enregistrements aux autres stades du développement des interneurons GABAergiques (P14, P24, P40) pour établir le décours temporel de l'apparition des aberrations synaptiques.

### 5.4.2 LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE SUR LES INTERNEURONES AFFECTÉS PAR L'HAPLOINSUFFISANCE DE *SYNGAP1*

Dans ce mémoire, nous avons montré que la transmission GABAergique des interneurons était diminuée lorsque l'expression de *Syngap1* était diminuée. Cependant, nous n'avons pas montré si la transmission synaptique GABAergique et glutamatergique

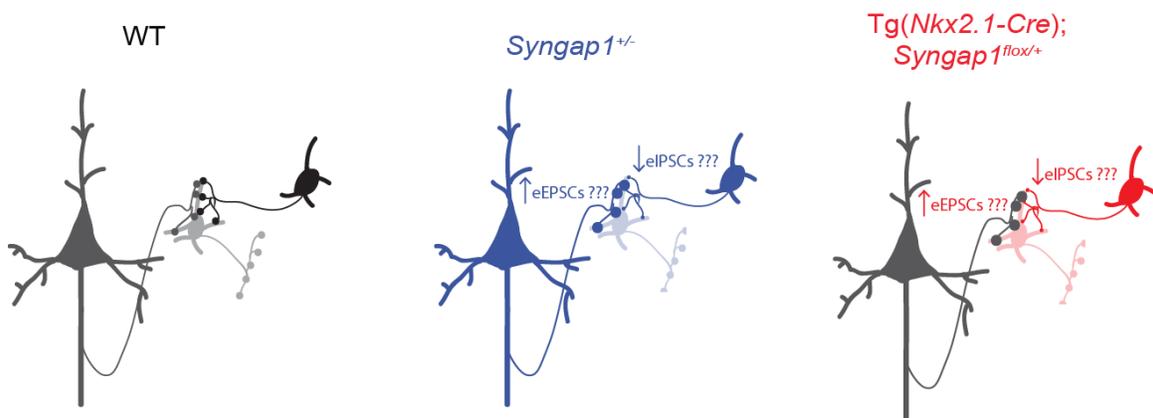
est affectée sur ces interneurons alors que *Syngap1* est une protéine postsynaptique (**Figure 5.4**). Plus particulièrement, comme *Syngap1* via l'activation des NMDARs est impliquée dans le recrutement des AMPARs dans les cellules pyramidales (Rumbaugh et al., 2006), il serait intéressant de vérifier si *Syngap1* jouerait un rôle similaire dans les interneurons. Cela est d'autant plus important considérant que les NMDARs jouent un rôle primordial dans le bon fonctionnement des interneurons PV<sup>+</sup> du cortex et de l'hippocampe (Carlen et al., 2012, Korotkova et al., 2010).

Une faiblesse importante avec les enregistrements des courants miniatures présentés dans ce mémoire est qu'ils ne reflètent pas le fonctionnement de la transmission synaptique active puisqu'ils sont enregistrés en présence de TTX, un bloqueur des potentiels d'actions, et qu'ils ne représentent que le relargage constitutif et aléatoire de neurotransmetteur. Une alternative aux mEPSCs serait d'enregistrer plutôt les EPSCs évoqués (eEPSCs) par stimulation électrique sur les interneurons affectés par l'haploinsuffisance de *Syngap1* pour déterminer si la transmission excitatrice médiée par les potentiels d'action est augmentée. Les réponses évoquées permettraient également de mesurer le ratio AMPAR/NMDAR des interneurons pour établir si, comme dans les cellules pyramidales, le nombre de AMPARs est augmenté par rapport aux NMDARs de manière prématurée (Fuchs et al., 2007, Clement et al., 2013).

Puisque nos résultats suggèrent que l'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurons diminue l'innervation GABAergique sur les cellules principales, il est possible que la transmission inhibitrice sur les interneurons eux-mêmes soit également diminuée. Cependant, contrairement aux synapses excitatrices, les synapses inhibitrices sont moins ordonnées et il est donc plus difficile de les activer d'une manière fiable à l'aide d'une électrode de stimulation. Une solution serait de combiner l'optogénétique avec notre modèle de souris transgénique conditionnel pour évoquer les IPSCs (Tye and Deisseroth, 2012). Les souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1<sup>fllox/+</sup>* et *Tg(Nkx2.1-Cre)* expriment la Cre recombinase sous le contrôle du promoteur *Nkx2.1*. Ainsi, l'injection dans l'hippocampe (ou le cortex) de ces souris d'un virus adéno-associé (AAV, *adeno associated virus*) codant pour une channelrhodopsine contenant un codon stop *floxé* permettrait d'exprimer cette dernière uniquement dans les interneurons dérivés du MGE. La channelrhodopsine est un canal perméable au Na<sup>+</sup> sensible à la lumière bleue d'origine bactérienne (Nagel et al.,

2003). Par l'optogénétique, il devient alors possible de dépolariser et d'activer avec la lumière uniquement les interneurons dérivés du MGE pour enregistrer des IPSCs évoqués (eIPSCs) par la lumière sur les interneurons à l'aide d'une pipette contenant du QX-314 pour éviter que cette dernière décharge en même temps. Cette dernière expérience serait particulièrement importante pour confirmer ou infirmer le modèle hypothétique de désinhibition impliquée dans la LTP proposé dans ce mémoire (**Figure 5.2** et **Figure 5.3**).

Une étude récente montre également que les propriétés de décharge des interneurons PV<sup>+</sup> du néocortex ayant une diminution de l'expression de *Syngap1* sont modifiées au cours du développement postnatal (Ozkan et al., 2014). Or, les propriétés de décharge rapide de ce sous-type d'interneurons sont particulièrement importantes pour permettre la synchronisation et la génération des oscillations impliquées dans les fonctions cognitives (Hu et al., 2014). Il serait donc fort intéressant de caractériser davantage les propriétés intrinsèques des interneurons dérivés du MGE pour vérifier si un déficit similaire est présent dans notre modèle de souris transgénique.



**Figure 5.4. Changements synaptiques hypothétiques sur les interneurons GABAergiques affectés par l'haploinsuffisance de *Syngap1*.**

Puisque *Syngap1* est un régulateur de Ras, il est possible que les eEPSCs se retrouvent augmentés sur les interneurons affectés par l'haploinsuffisance de *Syngap1*. Puisque nos données suggèrent que la diminution de l'innervation GABAergiques sur les cellules pyramidales est un effet cellule autonome, il est possible que l'innervation GABAergiques sur les interneurons se retrouve également diminuée, résultant en une diminution des eIPSCs.

#### 5.4.3 L'IMPORTANCE DE LA VOIE DE mTOR DANS LES DÉSORDRES NEUROCOGNITIFS

La signalisation de la voie de mTOR (voir 1.6.1.4.3.2) prend une place grandissante dans les maladies neuropsychiatriques. La perturbation de mTOR mène à une synthèse protéique excessive qui serait responsable de l'autisme et de plusieurs syndromes (Gkogkas et al., 2013, Auerbach et al., 2011). Dans les neurones excitateurs, *Syngap1* module ERK, qui est en amont de mTOR (Buffington et al., 2014), ce qui laisse croire que la synthèse protéique est également perturbée au cours du développement chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (Wang et al., 2013). Cette synthèse protéique est notamment nécessaire pour la l-LTP et serait impliquée dans la consolidation de la mémoire.

Or, une critique possible envers le travail présenté dans ce mémoire est que le déficit de la e-LTP n'est que très faible chez les souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup> une heure après l'induction et qu'il est probable qu'une telle diminution de la LTP ne reflète pas un déficit comportemental. Cependant, le fait que *Syngap1* est en amont de la voie de mTOR laisse croire qu'un déficit plus significatif serait présent durant la l-LTP lorsque la synthèse protéique est plus présente. Il serait donc intéressant d'étudier la LTP au niveau du CA1 de l'hippocampe à l'aide d'un protocole pouvant induire la l-LTP (4x100Hz) chez les souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup>. Cette expérience permettra de vérifier l'importance des interneurones sur la plasticité synaptique des cellules principales.

#### 5.4.4 L'HAPLOINSUFFISANCE DE *SYNGAP1* DANS LES INTERNEURONES ET L'APPRENTISSAGE DÉPENDANT DE L'HIPPOCAMPE

L'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurones semble causer un déficit plus sévère au niveau de l'hippocampe qu'au niveau du cortex. En effet, nous avons montré que la diminution des mIPSCs affecte davantage le CA1 de l'hippocampe que le cortex S1. Si les expériences sur la l-LTP sont plus concluantes que la e-LTP, il serait alors intéressant de tester si des déficits d'apprentissage dépendant de l'hippocampe sont présents chez les souris *Tg(Nkx2.1-Cre);Syngap1*<sup>fllox/+</sup>. De plus, plusieurs études ont rapporté des déficits d'apprentissages hippocampiques chez les souris *Syngap1*<sup>+/-</sup> (Ozkan et al., 2014, Muhia et al., 2012, Clement et al., 2012, Muhia et al., 2010). Les déficits hippocampiques peuvent être évalués par des tests de mémoire spatiale comme la piscine de Morris (Morris, 1984), mais également avec le conditionnement de peur au contexte (Maren et al., 2013).

#### 5.4.5 L'IMPORTANCE DES DIFFÉRENTES AIRES DU CORTEX DANS LA COGNITION

Dans ce mémoire, nous avons montré que la transmission synaptique GABAergique était modifiée dans le cortex S1 des souris ayant une diminution de l'expression de *Syngap1*. Or, aucun des tests comportementaux étudiés n'implique le traitement sensoriel, qui a été rapporté être dysfonctionnel chez plusieurs modèles animaux de désordres cognitifs (Tabuchi et al., 2007, Bureau et al., 2008, Harlow et al., 2010, Goncalves et al., 2013). Un moyen de vérifier si les déficits dans le cortex S1 se traduisent en des déficits comportementaux serait d'étudier le comportement des souris relié à l'utilisation des vibrisses (Brecht, 2007).

Les résultats préliminaires de notre groupe suggèrent que l'haploinsuffisance de *Syngap1* dans les interneurones dérivés du MGE cause des déficits essentiellement dans la mémoire de travail et l'interaction sociale. Or, ces déficits cognitifs dépendent davantage du cortex préfrontal (D'Esposito et al., 1995, Nadler et al., 2004, Silverman et al., 2010). Il serait donc nécessaire d'étudier le cortex préfrontal afin de confirmer si la transmission synaptique et l'innervation GABAergique aberrante sont également présentes.

#### 5.4.6 LA FONCTION DES DIFFÉRENTES ISOFORMES DE *SYNGAPI*

*SYNGAPI* possède également plusieurs sites d'épissage alternatifs menant à la production de différentes isoformes tant en N-terminal qu'en C-terminal interagissant avec différents éléments de la PSD (voir **Annexe 1** : Isoformes de *SYNGAPI*) (Kim et al., 1998, Li et al., 2001, McMahon et al., 2012). Ces isoformes ont également des fonctions différentes et pourraient expliquer les résultats contradictoires sur *Syngap1* par différents groupes de recherche. En effet, l'isoforme *Syngap1 $\alpha$ 1* semble avoir comme fonction de diminuer la transmission synaptique, mais l'isoforme *Syngap1 $\alpha$ 2* semble avoir comme fonction de l'augmenter (voir **Figure A1.1**). Or, il existe déjà des anticorps contre ces deux isoformes (McMahon et al., 2012). Il serait donc intéressant de vérifier quelles isoformes sont exprimées au niveau du cortex et de l'hippocampe puisque ces deux régions du cerveau démontrent un phénotype différent à l'âge adulte. Laquelle ou lesquelles de ces isoformes sont exprimées dans les interneurones n'est pas connu. Il serait donc également intéressant de voir si les interneurones et les cellules pyramidales expriment ou non les mêmes isoformes.

## 5.5 CONCLUSION

Le travail présenté dans ce mémoire montre le rôle que *Syngap1* possède dans le développement de la transmission synaptique des interneurons GABAergiques. La diminution d'expression de *Syngap1* dans les interneurons contribuerait en partie aux déficits observés chez les sujets atteints de déficience intellectuelle causée par l'haploinsuffisance de ce gène. Ainsi, la fonction de *Syngap1* dans les interneurons supporte un rôle grandissant du dysfonctionnement des interneurons GABAergiques dans les désordres cognitifs comme la déficience intellectuelle et l'autisme.

## CHAPITRE VI: BIBLIOGRAPHIE

- ACETI, M., CRESO, T. K., VAISSIERE, T., ROJAS, C., HUANG, W. C., WANG, Y. X., PETRALIA, R. S., PAGE, D. T., MILLER, C. A. & RUMBAUGH, G. 2014. Syngap1 Haploinsufficiency Damages a Postnatal Critical Period of Pyramidal Cell Structural Maturation Linked to Cortical Circuit Assembly. *Biol Psychiatry*.
- AFROZE, B. & CHAUDHRY, B. 2013. Genetics of non-syndromic autosomal recessive mental retardation. *J Pak Med Assoc*, 63, 106-10.
- AMARAL, D. G. & WITTER, M. P. 1989. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience*, 31, 571-91.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION 2013. *The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM 5*, bookpointUS.
- AMIR, R. E., VAN DEN VEYVER, I. B., WAN, M., TRAN, C. Q., FRANCKE, U. & ZOGHBI, H. Y. 1999. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nat Genet*, 23, 185-8.
- ANDERSEN, P., BLISS, T. V., LOMO, T., OLSEN, L. I. & SKREDE, K. K. 1969. Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Acta Physiol Scand*, 76, 4A-5A.
- ANDERSEN, P., BLISS, T. V. & SKREDE, K. K. 1971. Lamellar organization of hippocampal pathways. *Exp Brain Res*, 13, 222-38.
- ANDERSEN, P., MORRIS, R., AMARAL, D., BLISS, T. & O'KEEFE, J. 2006. *The hippocampus book*, Oxford University Press.
- ANDERSON, S. & COULTER, D. 2013. Neuroscience. Neuronal birth to cortical circuitry. *Science*, 340, 1058-9.
- ANDERSON, S. A., EISENSTAT, D. D., SHI, L. & RUBENSTEIN, J. L. 1997. Interneuron migration from basal forebrain to neocortex: dependence on *Dlx* genes. *Science*, 278, 474-6.
- ANGO, F., DI CRISTO, G., HIGASHIYAMA, H., BENNETT, V., WU, P. & HUANG, Z. J. 2004. Ankyrin-based subcellular gradient of neurofascin, an immunoglobulin

- family protein, directs GABAergic innervation at purkinje axon initial segment. *Cell*, 119, 257-72.
- ANGO, F., WU, C., VAN DER WANT, J. J., WU, P., SCHACHNER, M. & HUANG, Z. J. 2008. Bergmann glia and the recognition molecule CHL1 organize GABAergic axons and direct innervation of Purkinje cell dendrites. *PLoS Biol*, 6, e103.
- ARAKI, Y., ZENG, M., ZHANG, M. & HUGANIR, R. L. 2015. Rapid Dispersion of SynGAP from Synaptic Spines Triggers AMPA Receptor Insertion and Spine Enlargement during LTP. *Neuron*, 85, 173-189.
- ARBER, S., BARBAYANNIS, F. A., HANSER, H., SCHNEIDER, C., STANYON, C. A., BERNARD, O. & CARONI, P. 1998. Regulation of actin dynamics through phosphorylation of cofilin by LIM-kinase. *Nature*, 393, 805-9.
- ATWOOD, H. L. & WOJTOWICZ, J. M. 1999. Silent synapses in neural plasticity: current evidence. *Learn Mem*, 6, 542-71.
- AUERBACH, B. D., OSTERWEIL, E. K. & BEAR, M. F. 2011. Mutations causing syndromic autism define an axis of synaptic pathophysiology. *Nature*, 480, 63-8.
- BANKE, T. G., BOWIE, D., LEE, H., HUGANIR, R. L., SCHOUSBOE, A. & TRAYNELIS, S. F. 2000. Control of GluR1 AMPA receptor function by cAMP-dependent protein kinase. *J Neurosci*, 20, 89-102.
- BANNISTER, A. P. 2005. Inter- and intra-laminar connections of pyramidal cells in the neocortex. *Neurosci Res*, 53, 95-103.
- BARABAN, S. C. & TALLENT, M. K. 2004. Interneuron Diversity series: Interneuronal neuropeptides--endogenous regulators of neuronal excitability. *Trends Neurosci*, 27, 135-42.
- BARRIA, A., MULLER, D., DERKACH, V., GRIFFITH, L. C. & SODERLING, T. R. 1997. Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation. *Science*, 276, 2042-5.
- BASEL-VANAGAITE, L. 2007. Genetics of autosomal recessive non-syndromic mental retardation: recent advances. *Clin Genet*, 72, 167-74.
- BATEUP, H. S., JOHNSON, C. A., DENEFRIO, C. L., SAULNIER, J. L., KORNACKER, K. & SABATINI, B. L. 2013. Excitatory/inhibitory synaptic imbalance leads to

- hippocampal hyperexcitability in mouse models of tuberous sclerosis. *Neuron*, 78, 510-22.
- BATEUP, H. S., TAKASAKI, K. T., SAULNIER, J. L., DENEFRIO, C. L. & SABATINI, B. L. 2011. Loss of Tsc1 in vivo impairs hippocampal mGluR-LTD and increases excitatory synaptic function. *J Neurosci*, 31, 8862-9.
- BEKKERS, J. M., RICHERSON, G. B. & STEVENS, C. F. 1990. Origin of variability in quantal size in cultured hippocampal neurons and hippocampal slices. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87, 5359-62.
- BEKKERS, J. M. & STEVENS, C. F. 1989. NMDA and non-NMDA receptors are co-localized at individual excitatory synapses in cultured rat hippocampus. *Nature*, 341, 230-3.
- BEKKERS, J. M. & STEVENS, C. F. 1990. Presynaptic mechanism for long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 346, 724-9.
- BENNETT, M. V. & ZUKIN, R. S. 2004. Electrical coupling and neuronal synchronization in the Mammalian brain. *Neuron*, 41, 495-511.
- BERRYER, M. H., HAMDAN, F. F., KLITTEN, L. L., MOLLER, R. S., CARMANT, L., SCHWARTZENTRUBER, J., PATRY, L., DOBRZENIECKA, S., ROCHEFORT, D., NEUGNOT-CERIOLI, M., LACAILLE, J. C., NIU, Z., ENG, C. M., YANG, Y., PALARDY, S., BELHUMEUR, C., ROULEAU, G. A., TOMMERUP, N., IMMKEN, L., BEAUCHAMP, M. H., PATEL, G. S., MAJEWSKI, J., TARNOPOLSKY, M. A., SCHEFFZEK, K., HJALGRIM, H., MICHAUD, J. L. & DI CRISTO, G. 2013. Mutations in SYNGAP1 cause intellectual disability, autism, and a specific form of epilepsy by inducing haploinsufficiency. *Hum Mutat*, 34, 385-94.
- BETTLER, B., KAUPMANN, K., MOSBACHER, J. & GASSMANN, M. 2004. Molecular structure and physiological functions of GABA(B) receptors. *Physiol Rev*, 84, 835-67.
- BLISS, T. V. & COLLINGRIDGE, G. L. 1993. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361, 31-9.
- BLISS, T. V. & COLLINGRIDGE, G. L. 2013. Expression of NMDA receptor-dependent LTP in the hippocampus: bridging the divide. *Mol Brain*, 6, 5.

- BLISS, T. V. & LOMO, T. 1973. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol*, 232, 331-56.
- BOEHM, J., KANG, M. G., JOHNSON, R. C., ESTEBAN, J., HUGANIR, R. L. & MALINOW, R. 2006. Synaptic incorporation of AMPA receptors during LTP is controlled by a PKC phosphorylation site on GluR1. *Neuron*, 51, 213-25.
- BRECHT, M. 2007. Barrel cortex and whisker-mediated behaviors. *Curr Opin Neurobiol*, 17, 408-16.
- BROCA, P. 1861. Perte de la parole, ramollissement chronique et destruction partielle du lobe antérieur gauche du cerveau. *Bull Soc Anthropol*, 2, 235-238.
- BRODMANN, K. 1909. *Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*, Barth.
- BROOKS, C. M. & ECCLES, J. C. 1947. An electrical hypothesis of central inhibition. *Nature*, 159, 760-4.
- BUFFINGTON, S. A., HUANG, W. & COSTA-MATTIOLI, M. 2014. Translational control in synaptic plasticity and cognitive dysfunction. *Annu Rev Neurosci*, 37, 17-38.
- BUREAU, I., SHEPHERD, G. M. & SVOBODA, K. 2008. Circuit and plasticity defects in the developing somatosensory cortex of FMR1 knock-out mice. *J Neurosci*, 28, 5178-88.
- BUTT, S. J., SOUSA, V. H., FUCCILLO, M. V., HJERLING-LEFFLER, J., MIYOSHI, G., KIMURA, S. & FISHELL, G. 2008. The requirement of Nkx2-1 in the temporal specification of cortical interneuron subtypes. *Neuron*, 59, 722-32.
- BUZSAKI, G. & WATSON, B. O. 2012. Brain rhythms and neural syntax: implications for efficient coding of cognitive content and neuropsychiatric disease. *Dialogues Clin Neurosci*, 14, 345-67.
- CARDIN, J. A., CARLEN, M., MELETIS, K., KNOBLICH, U., ZHANG, F., DEISSEROTH, K., TSAI, L. H. & MOORE, C. I. 2009. Driving fast-spiking cells induces gamma rhythm and controls sensory responses. *Nature*, 459, 663-7.
- CARLEN, M., MELETIS, K., SIEGLE, J. H., CARDIN, J. A., FUTAI, K., VIERLING-CLAASSEN, D., RUHLMANN, C., JONES, S. R., DEISSEROTH, K., SHENG,

- M., MOORE, C. I. & TSAI, L. H. 2012. A critical role for NMDA receptors in parvalbumin interneurons for gamma rhythm induction and behavior. *Mol Psychiatry*, 17, 537-48.
- CARLISLE, H. J. & KENNEDY, M. B. 2005. Spine architecture and synaptic plasticity. *Trends Neurosci*, 28, 182-7.
- CARLISLE, H. J., MANZERRA, P., MARCORA, E. & KENNEDY, M. B. 2008. SynGAP regulates steady-state and activity-dependent phosphorylation of cofilin. *J Neurosci*, 28, 13673-83.
- CARVILL, G. L., HEAVIN, S. B., YENDLE, S. C., MCMAHON, J. M., O'ROAK, B. J., COOK, J., KHAN, A., DORSCHNER, M. O., WEAVER, M., CALVERT, S., MALONE, S., WALLACE, G., STANLEY, T., BYE, A. M., BLEASEL, A., HOWELL, K. B., KIVITY, S., MACKAY, M. T., RODRIGUEZ-CASERO, V., WEBSTER, R., KORCZYN, A., AFAWI, Z., ZELNICK, N., LERMAN-SAGIE, T., LEV, D., MOLLER, R. S., GILL, D., ANDRADE, D. M., FREEMAN, J. L., SADLEIR, L. G., SHENDURE, J., BERKOVIC, S. F., SCHEFFER, I. E. & MEFFORD, H. C. 2013. Targeted resequencing in epileptic encephalopathies identifies de novo mutations in CHD2 and SYNGAP1. *Nat Genet*, 45, 825-30.
- CARVILL, S. 2001. Sensory impairments, intellectual disability and psychiatry. *J Intellect Disabil Res*, 45, 467-83.
- CASTELLUCCI, V., PINSKER, H., KUPFERMANN, I. & KANDEL, E. R. 1970. Neuronal mechanisms of habituation and dishabituation of the gill-withdrawal reflex in *Aplysia*. *Science*, 167, 1745-8.
- CENTERS FOR DISEASE, C. & PREVENTION 2004. Economic costs associated with mental retardation, cerebral palsy, hearing loss, and vision impairment--United States, 2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 53, 57-9.
- CHAO, H. T., CHEN, H., SAMACO, R. C., XUE, M., CHAHROUR, M., YOO, J., NEUL, J. L., GONG, S., LU, H. C., HEINTZ, N., EKKER, M., RUBENSTEIN, J. L., NOEBELS, J. L., ROSENEMUND, C. & ZOGHBI, H. Y. 2010. Dysfunction in GABA signalling mediates autism-like stereotypies and Rett syndrome phenotypes. *Nature*, 468, 263-9.

- CHATTOPADHYAYA, B., DI CRISTO, G., HIGASHIYAMA, H., KNOTT, G. W., KUHLMAN, S. J., WELKER, E. & HUANG, Z. J. 2004. Experience and activity-dependent maturation of perisomatic GABAergic innervation in primary visual cortex during a postnatal critical period. *J Neurosci*, 24, 9598-611.
- CHATTOPADHYAYA, B., DI CRISTO, G., WU, C. Z., KNOTT, G., KUHLMAN, S., FU, Y., PALMITER, R. D. & HUANG, Z. J. 2007. GAD67-mediated GABA synthesis and signaling regulate inhibitory synaptic innervation in the visual cortex. *Neuron*, 54, 889-903.
- CHEN, H. J., ROJAS-SOTO, M., OGUNI, A. & KENNEDY, M. B. 1998. A synaptic Ras-GTPase activating protein (p135 SynGAP) inhibited by CaM kinase II. *Neuron*, 20, 895-904.
- CHEN, H. J., ROJAS-SOTO, M., OGUNI, A. & KENNEDY, M. B. 2002. Erratum. *Neuron*, 33, 151.
- CHENG, D., HOOGENRAAD, C. C., RUSH, J., RAMM, E., SCHLAGER, M. A., DUONG, D. M., XU, P., WIJAYAWARDANA, S. R., HANFELT, J., NAKAGAWA, T., SHENG, M. & PENG, J. 2006. Relative and absolute quantification of postsynaptic density proteome isolated from rat forebrain and cerebellum. *Mol Cell Proteomics*, 5, 1158-70.
- CHEUNG, T. H. & CARDINAL, R. N. 2005. Hippocampal lesions facilitate instrumental learning with delayed reinforcement but induce impulsive choice in rats. *BMC Neurosci*, 6, 36.
- CLEMENT, J. P., ACETI, M., CRESON, T. K., OZKAN, E. D., SHI, Y., REISH, N. J., ALMONTE, A. G., MILLER, B. H., WILTGEN, B. J., MILLER, C. A., XU, X. & RUMBAUGH, G. 2012. Pathogenic SYNGAP1 mutations impair cognitive development by disrupting maturation of dendritic spine synapses. *Cell*, 151, 709-23.
- CLEMENT, J. P., OZKAN, E. D., ACETI, M., MILLER, C. A. & RUMBAUGH, G. 2013. SYNGAP1 links the maturation rate of excitatory synapses to the duration of critical-period synaptic plasticity. *J Neurosci*, 33, 10447-52.
- COLLINGRIDGE, G. L., GAGE, P. W. & ROBERTSON, B. 1984. Inhibitory post-synaptic currents in rat hippocampal CA1 neurones. *J Physiol*, 356, 551-64.

- COLLINGRIDGE, G. L., PEINEAU, S., HOWLAND, J. G. & WANG, Y. T. 2010. Long-term depression in the CNS. *Nat Rev Neurosci*, 11, 459-73.
- CONN, P. J. & PIN, J. P. 1997. Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 37, 205-37.
- COSTA-MATTIOLI, M. & MONTEGGIA, L. M. 2013. mTOR complexes in neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci*, 16, 1537-43.
- COSTA-MATTIOLI, M., SOSSIN, W. S., KLANN, E. & SONENBERG, N. 2009. Translational control of long-lasting synaptic plasticity and memory. *Neuron*, 61, 10-26.
- COSTA, R. M., FEDEROV, N. B., KOGAN, J. H., MURPHY, G. G., STERN, J., OHNO, M., KUCHERLAPATI, R., JACKS, T. & SILVA, A. J. 2002. Mechanism for the learning deficits in a mouse model of neurofibromatosis type 1. *Nature*, 415, 526-30.
- CUI, Y., COSTA, R. M., MURPHY, G. G., ELGERSMA, Y., ZHU, Y., GUTMANN, D. H., PARADA, L. F., MODY, I. & SILVA, A. J. 2008. Neurofibromin regulation of ERK signaling modulates GABA release and learning. *Cell*, 135, 549-60.
- CUTSURIDIS, V. & TAXIDIS, J. 2013. Deciphering the role of CA1 inhibitory circuits in sharp wave-ripple complexes. *Front Syst Neurosci*, 7, 13.
- D'ESPOSITO, M., DETRE, J. A., ALSOP, D. C., SHIN, R. K., ATLAS, S. & GROSSMAN, M. 1995. The neural basis of the central executive system of working memory. *Nature*, 378, 279-81.
- DALE, H. H. 1914. *The action of certain esters and ethers of choline and their relation to muscarine*, Wellcome Physiological Research Laboratories.
- DAMASIO, H., GRABOWSKI, T., FRANK, R., GALABURDA, A. M. & DAMASIO, A. R. 1994. The return of Phineas Gage: clues about the brain from the skull of a famous patient. *Science*, 264, 1102-5.
- DANI, V. S., CHANG, Q., MAFFEI, A., TURRIGIANO, G. G., JAENISCH, R. & NELSON, S. B. 2005. Reduced cortical activity due to a shift in the balance between excitation and inhibition in a mouse model of Rett syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 12560-5.

- DAUMAS, S., CECCOM, J., HALLEY, H., FRANCES, B. & LASSALLE, J. M. 2009. Activation of metabotropic glutamate receptor type 2/3 supports the involvement of the hippocampal mossy fiber pathway on contextual fear memory consolidation. *Learn Mem*, 16, 504-7.
- DAVIES, C. H., STARKEY, S. J., POZZA, M. F. & COLLINGRIDGE, G. L. 1991. GABA autoreceptors regulate the induction of LTP. *Nature*, 349, 609-11.
- DE LIGT, J., WILLEMSSEN, M. H., VAN BON, B. W., KLEEFSTRA, T., YNTEMA, H. G., KROES, T., VULTO-VAN SILFHOUT, A. T., KOOLEN, D. A., DE VRIES, P., GILISSEN, C., DEL ROSARIO, M., HOISCHEN, A., SCHEFFER, H., DE VRIES, B. B., BRUNNER, H. G., VELTMAN, J. A. & VISSERS, L. E. 2012. Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability. *N Engl J Med*, 367, 1921-9.
- DEFELIPE, J., LOPEZ-CRUZ, P. L., BENAVIDES-PICCIONE, R., BIELZA, C., LARRANAGA, P., ANDERSON, S., BURKHALTER, A., CAULI, B., FAIREN, A., FELDMEYER, D., FISHELL, G., FITZPATRICK, D., FREUND, T. F., GONZALEZ-BURGOS, G., HESTRIN, S., HILL, S., HOF, P. R., HUANG, J., JONES, E. G., KAWAGUCHI, Y., KISVARDAY, Z., KUBOTA, Y., LEWIS, D. A., MARIN, O., MARKRAM, H., MCBAIN, C. J., MEYER, H. S., MONYER, H., NELSON, S. B., ROCKLAND, K., ROSSIER, J., RUBENSTEIN, J. L., RUDY, B., SCANZIANI, M., SHEPHERD, G. M., SHERWOOD, C. C., STAIGER, J. F., TAMAS, G., THOMSON, A., WANG, Y., YUSTE, R. & ASCOLI, G. A. 2013. New insights into the classification and nomenclature of cortical GABAergic interneurons. *Nat Rev Neurosci*, 14, 202-16.
- DEIDDA, G., PARRINI, M., NASKAR, S., BOZARTH, I. F., CONTESTABILE, A. & CANCEDDA, L. 2015. Reversing excitatory GABAAR signaling restores synaptic plasticity and memory in a mouse model of Down syndrome. *Nat Med*, 21, 318-26.
- DEL CASTILLO, J. & KATZ, B. 1954. Quantal components of the end-plate potential. *J Physiol*, 124, 560-73.
- DERKACH, V., BARRIA, A. & SODERLING, T. R. 1999. Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-kinase II enhances channel conductance of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-

- isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, 3269-74.
- DERKACH, V. A., OH, M. C., GUIRE, E. S. & SODERLING, T. R. 2007. Regulatory mechanisms of AMPA receptors in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci*, 8, 101-13.
- DI CRISTO, G. 2007. Development of cortical GABAergic circuits and its implications for neurodevelopmental disorders. *Clin Genet*, 72, 1-8.
- DI CRISTO, G., PIZZORUSSO, T., CANCEDDA, L. & SERNAGOR, E. 2011. GABAergic circuit development and its implication for CNS disorders. *Neural Plast*, 2011, 623705.
- DI CRISTO, G., WU, C., CHATTOPADHYAYA, B., ANGO, F., KNOTT, G., WELKER, E., SVOBODA, K. & HUANG, Z. J. 2004. Subcellular domain-restricted GABAergic innervation in primary visual cortex in the absence of sensory and thalamic inputs. *Nat Neurosci*, 7, 1184-6.
- DOUGLAS, R. J. & MARTIN, K. A. 2004. Neuronal circuits of the neocortex. *Annu Rev Neurosci*, 27, 419-51.
- DOUGLAS, R. M. & GODDARD, G. V. 1975. Long-term potentiation of the perforant path-granule cell synapse in the rat hippocampus. *Brain Res*, 86, 205-15.
- DUDEK, S. M. & BEAR, M. F. 1992. Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89, 4363-7.
- DUNWIDDIE, T. & LYNCH, G. 1978. Long-term potentiation and depression of synaptic responses in the rat hippocampus: localization and frequency dependency. *J Physiol*, 276, 353-67.
- DURAND, G. M., KOVALCHUK, Y. & KONNERTH, A. 1996. Long-term potentiation and functional synapse induction in developing hippocampus. *Nature*, 381, 71-5.
- ECCLES, J. C. 1945. An electrical hypothesis of synaptic and neuromuscular transmission. *Nature*, 156, 680-3.
- EDWARDS, R. H. 2007. The neurotransmitter cycle and quantal size. *Neuron*, 55, 835-58.
- EGGERMANN, E. & JONAS, P. 2012. How the 'slow' Ca(2+) buffer parvalbumin affects transmitter release in nanodomain-coupling regimes. *Nat Neurosci*, 15, 20-2.

- EHNINGER, D., HAN, S., SHILYANSKY, C., ZHOU, Y., LI, W., KWIATKOWSKI, D. J., RAMESH, V. & SILVA, A. J. 2008. Reversal of learning deficits in a Tsc2<sup>+/-</sup> mouse model of tuberous sclerosis. *Nat Med*, 14, 843-8.
- ELLISON, J. W., ROSENFELD, J. A. & SHAFFER, L. G. 2013. Genetic basis of intellectual disability. *Annu Rev Med*, 64, 441-50.
- ENGEL, J. 2013. *Seizures and epilepsy*, Oxford University Press.
- ENGLISH, J. D. & SWEATT, J. D. 1996. Activation of p42 mitogen-activated protein kinase in hippocampal long term potentiation. *J Biol Chem*, 271, 24329-32.
- ENGLISH, J. D. & SWEATT, J. D. 1997. A requirement for the mitogen-activated protein kinase cascade in hippocampal long term potentiation. *J Biol Chem*, 272, 19103-6.
- ESTEBAN, J. A., SHI, S. H., WILSON, C., NURIYA, M., HUGANIR, R. L. & MALINOW, R. 2003. PKA phosphorylation of AMPA receptor subunits controls synaptic trafficking underlying plasticity. *Nat Neurosci*, 6, 136-43.
- EUROPEAN CHROMOSOME 16 TUBEROUS SCLEROSIS, C. 1993. Identification and characterization of the tuberous sclerosis gene on chromosome 16. *Cell*, 75, 1305-15.
- FANSELOW, M. S. & DONG, H. W. 2010. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron*, 65, 7-19.
- FARNSWORTH, C. L., FRESHNEY, N. W., ROSEN, L. B., GHOSH, A., GREENBERG, M. E. & FEIG, L. A. 1995. Calcium activation of Ras mediated by neuronal exchange factor Ras-GRF. *Nature*, 376, 524-7.
- FATT, P. & KATZ, B. 1951. An analysis of the end-plate potential recorded with an intracellular electrode. *J Physiol*, 115, 320-70.
- FERNANDEZ, F. & GARNER, C. C. 2007. Over-inhibition: a model for developmental intellectual disability. *Trends Neurosci*, 30, 497-503.
- FISHER, R. S., VAN EMDE BOAS, W., BLUME, W., ELGER, C., GENTON, P., LEE, P. & ENGEL, J., JR. 2005. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46, 470-2.
- FOSTER, M. & SHERRINGTON, C. S. 1897. *The central nervous system*, Macmillan.

- FREUND, T. F. & BUZSAKI, G. 1996. Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus*, 6, 347-470.
- FREY, U., HUANG, Y. Y. & KANDEL, E. R. 1993. Effects of cAMP simulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons. *Science*, 260, 1661-4.
- FREY, U., KRUG, M., REYMANN, K. G. & MATTHIES, H. 1988. Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro. *Brain Res*, 452, 57-65.
- FRIEDMAN, J. M. 1999. Epidemiology of neurofibromatosis type 1. *Am J Med Genet*, 89, 1-6.
- FRITSCHY, J. M., PANZANELLI, P., KRALIC, J. E., VOGT, K. E. & SASSOEO-POGNETTO, M. 2006. Differential dependence of axo-dendritic and axo-somatic GABAergic synapses on GABAA receptors containing the alpha1 subunit in Purkinje cells. *J Neurosci*, 26, 3245-55.
- FUCHS, E. C., ZIVKOVIC, A. R., CUNNINGHAM, M. O., MIDDLETON, S., LEBEAU, F. E., BANNERMAN, D. M., ROZOV, A., WHITTINGTON, M. A., TRAUB, R. D., RAWLINS, J. N. & MONYER, H. 2007. Recruitment of parvalbumin-positive interneurons determines hippocampal function and associated behavior. *Neuron*, 53, 591-604.
- FURSHPAN, E. J. & POTTER, D. D. 1957. Mechanism of nerve-impulse transmission at a crayfish synapse. *Nature*, 180, 342-3.
- FURSHPAN, E. J. & POTTER, D. D. 1959. Transmission at the giant motor synapses of the crayfish. *J Physiol*, 145, 289-325.
- GAO, P., SULTAN, K. T., ZHANG, X. J. & SHI, S. H. 2013. Lineage-dependent circuit assembly in the neocortex. *Development*, 140, 2645-55.
- GASSMANN, M. & BETTLER, B. 2012. Regulation of neuronal GABA(B) receptor functions by subunit composition. *Nat Rev Neurosci*, 13, 380-94.
- GEIST, R. T. & GUTMANN, D. H. 1996. Expression of a developmentally-regulated neuron-specific isoform of the neurofibromatosis 1 (NF1) gene. *Neurosci Lett*, 211, 85-8.

- GELMAN, D. M., MARTINI, F. J., NOBREGA-PEREIRA, S., PIERANI, A., KESSARIS, N. & MARIN, O. 2009. The embryonic preoptic area is a novel source of cortical GABAergic interneurons. *J Neurosci*, 29, 9380-9.
- GENTET, L. J. 2012. Functional diversity of supragranular GABAergic neurons in the barrel cortex. *Front Neural Circuits*, 6, 52.
- GKOGKAS, C., SONENBERG, N. & COSTA-MATTIOLI, M. 2010. Translational control mechanisms in long-lasting synaptic plasticity and memory. *J Biol Chem*, 285, 31913-7.
- GKOGKAS, C. G., KHOUTORSKY, A., RAN, I., RAMPAKAKIS, E., NEVARKO, T., WEATHERILL, D. B., VASUTA, C., YEE, S., TRUITT, M., DALLAIRE, P., MAJOR, F., LASKO, P., RUGGERO, D., NADER, K., LACAILLE, J. C. & SONENBERG, N. 2013. Autism-related deficits via dysregulated eIF4E-dependent translational control. *Nature*, 493, 371-7.
- GOGOLLA, N., LEBLANC, J. J., QUAST, K. B., SUDHOF, T. C., FAGIOLINI, M. & HENSCH, T. K. 2009. Common circuit defect of excitatory-inhibitory balance in mouse models of autism. *J Neurodev Disord*, 1, 172-81.
- GONCALVES, J. T., ANSTEY, J. E., GOLSHANI, P. & PORTERA-CAILLIAU, C. 2013. Circuit level defects in the developing neocortex of Fragile X mice. *Nat Neurosci*, 16, 903-9.
- GRANGER, A. J. & NICOLL, R. A. 2014. Expression mechanisms underlying long-term potentiation: a postsynaptic view, 10 years on. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 369, 20130136.
- GROSSHANS, D. R., CLAYTON, D. A., COULTRAP, S. J. & BROWNING, M. D. 2002. LTP leads to rapid surface expression of NMDA but not AMPA receptors in adult rat CA1. *Nat Neurosci*, 5, 27-33.
- GUO, J. & ANTON, E. S. 2014. Decision making during interneuron migration in the developing cerebral cortex. *Trends Cell Biol*, 24, 342-51.
- GUO, X., HAMILTON, P. J., REISH, N. J., SWEATT, J. D., MILLER, C. A. & RUMBAUGH, G. 2009. Reduced expression of the NMDA receptor-interacting protein SynGAP causes behavioral abnormalities that model symptoms of Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 34, 1659-72.

- HALL, A. & LALLI, G. 2010. Rho and Ras GTPases in axon growth, guidance, and branching. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2, a001818.
- HAMDAN, F. F., DAOUD, H., PITON, A., GAUTHIER, J., DOBRZENIECKA, S., KREBS, M. O., JOOBER, R., LACAILE, J. C., NADEAU, A., MILUNSKY, J. M., WANG, Z., CARMANT, L., MOTTRON, L., BEAUCHAMP, M. H., ROULEAU, G. A. & MICHAUD, J. L. 2011. De novo SYNGAP1 mutations in nonsyndromic intellectual disability and autism. *Biol Psychiatry*, 69, 898-901.
- HAMDAN, F. F., GAUTHIER, J., SPIEGELMAN, D., NOREAU, A., YANG, Y., PELLERIN, S., DOBRZENIECKA, S., COTE, M., PERREAU-LINCK, E., CARMANT, L., D'ANJOU, G., FOMBONNE, E., ADDINGTON, A. M., RAPOPORT, J. L., DELISI, L. E., KREBS, M. O., MOUAFFAK, F., JOOBER, R., MOTTRON, L., DRAPEAU, P., MARINEAU, C., LAFRENIERE, R. G., LACAILE, J. C., ROULEAU, G. A., MICHAUD, J. L. & SYNAPSE TO DISEASE, G. 2009. Mutations in SYNGAP1 in autosomal nonsyndromic mental retardation. *N Engl J Med*, 360, 599-605.
- HAMILL, O. P., MARTY, A., NEHER, E., SAKMANN, B. & SIGWORTH, F. J. 1981. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflugers Arch*, 391, 85-100.
- HAN, K., KIM, M. H., SEEBURG, D., SEO, J., VERPELLI, C., HAN, S., CHUNG, H. S., KO, J., LEE, H. W., KIM, K., HEO, W. D., MEYER, T., KIM, H., SALA, C., CHOI, S. Y., SHENG, M. & KIM, E. 2009. Regulated RalBP1 binding to RalA and PSD-95 controls AMPA receptor endocytosis and LTD. *PLoS Biol*, 7, e1000187.
- HANSE, E., SETH, H. & RIEBE, I. 2013. AMPA-silent synapses in brain development and pathology. *Nat Rev Neurosci*, 14, 839-50.
- HARLOW, E. G., TILL, S. M., RUSSELL, T. A., WIJETUNGE, L. S., KIND, P. & CONTRACTOR, A. 2010. Critical period plasticity is disrupted in the barrel cortex of FMR1 knockout mice. *Neuron*, 65, 385-98.
- HARLOW, J. M. 1868. Recovery from the passage of an iron bar through the head. *Publications of the Massachusetts Medical Society*, 2, 327-246.
- HAY, N. & SONENBERG, N. 2004. Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev*, 18, 1926-45.

- HEBB, D. 1949. The organization of behavior; a neuropsychological theory.
- HOLLMANN, M., HARTLEY, M. & HEINEMANN, S. 1991. Ca<sup>2+</sup> permeability of KA-AMPA-gated glutamate receptor channels depends on subunit composition. *Science*, 252, 851-3.
- HOWARD, A., TAMAS, G. & SOLTESZ, I. 2005. Lighting the chandelier: new vistas for axo-axonic cells. *Trends Neurosci*, 28, 310-6.
- HU, H., GAN, J. & JONAS, P. 2014. Fast-spiking, parvalbumin+ GABAergic interneurons: From cellular design to microcircuit function. *Science*, 345.
- HUA, J. Y. & SMITH, S. J. 2004. Neural activity and the dynamics of central nervous system development. *Nat Neurosci*, 7, 327-32.
- HUANG, Z. J. 2006. Subcellular organization of GABAergic synapses: role of ankyrins and L1 cell adhesion molecules. *Nat Neurosci*, 9, 163-6.
- HUANG, Z. J. 2009. Activity-dependent development of inhibitory synapses and innervation pattern: role of GABA signalling and beyond. *J Physiol*, 587, 1881-8.
- HUBER, K. M., KAYSER, M. S. & BEAR, M. F. 2000. Role for rapid dendritic protein synthesis in hippocampal mGluR-dependent long-term depression. *Science*, 288, 1254-7.
- HUGUET, G., EY, E. & BOURGERON, T. 2013. The genetic landscapes of autism spectrum disorders. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 14, 191-213.
- IAROCCI, G. & MCDONALD, J. 2006. Sensory integration and the perceptual experience of persons with autism. *J Autism Dev Disord*, 36, 77-90.
- IMPEY, S., OBRIETAN, K., WONG, S. T., POSER, S., YANO, S., WAYMAN, G., DELOULME, J. C., CHAN, G. & STORM, D. R. 1998. Cross talk between ERK and PKA is required for Ca<sup>2+</sup> stimulation of CREB-dependent transcription and ERK nuclear translocation. *Neuron*, 21, 869-83.
- ISAAC, J. T., NICOLL, R. A. & MALENKA, R. C. 1995. Evidence for silent synapses: implications for the expression of LTP. *Neuron*, 15, 427-34.
- JACOB, T. C., MOSS, S. J. & JURD, R. 2008. GABA(A) receptor trafficking and its role in the dynamic modulation of neuronal inhibition. *Nat Rev Neurosci*, 9, 331-43.
- JOHNSON, J. W. & ASCHER, P. 1987. Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature*, 325, 529-31.

- JOHNSTON, D. & WU, S. M.-S. 1995. *Foundations of cellular neurophysiology*, Cambridge, MA, MIT press.
- JOVANOVIĆ, J. N. & THOMSON, A. M. 2011. Development of cortical GABAergic innervation. *Front Cell Neurosci*, 5, 14.
- JULLIEN-FLORES, V., MAHE, Y., MIREY, G., LEPRINCE, C., MEUNIER-BISCEUIL, B., SORKIN, A. & CAMONIS, J. H. 2000. RLIP76, an effector of the GTPase Ral, interacts with the AP2 complex: involvement of the Ral pathway in receptor endocytosis. *J Cell Sci*, 113 ( Pt 16), 2837-44.
- KAMAL, A., BIESELS, G. J., GISPEN, W. H. & URBAN, I. J. 1998. Increasing age reduces expression of long-term depression and dynamic range of transmission plasticity in CA1 field of the rat hippocampus. *Neuroscience*, 83, 707-15.
- KANDEL, E. R. 2001. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science*, 294, 1030-8.
- KANDEL, E. R., SCHWARTZ, J. H. & JESSELL, T. M. 2000. *Principles of neural science*, McGraw-Hill New York.
- KANO, M. & HASHIMOTO, K. 2009. Synapse elimination in the central nervous system. *Curr Opin Neurobiol*, 19, 154-61.
- KARAGIANNIS, A., GALLOPIN, T., DAVID, C., BATTAGLIA, D., GEOFFROY, H., ROSSIER, J., HILLMAN, E. M., STAIGER, J. F. & CAULI, B. 2009. Classification of NPY-expressing neocortical interneurons. *J Neurosci*, 29, 3642-59.
- KATZ, B. & MILEDI, R. 1967. Ionic requirements of synaptic transmitter release. *Nature*, 215, 651.
- KAUFMAN, L., AYUB, M. & VINCENT, J. B. 2010. The genetic basis of non-syndromic intellectual disability: a review. *J Neurodev Disord*, 2, 182-209.
- KELLY, P. T. & VERNON, P. 1985. Changes in the subcellular distribution of calmodulin-kinase II during brain development. *Brain Res*, 350, 211-24.
- KEMP, N. & BASHIR, Z. I. 1999. Induction of LTD in the adult hippocampus by the synaptic activation of AMPA/kainate and metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology*, 38, 495-504.

- KEMP, N. & BASHIR, Z. I. 2001. Long-term depression: a cascade of induction and expression mechanisms. *Prog Neurobiol*, 65, 339-65.
- KEMP, N., MCQUEEN, J., FAULKES, S. & BASHIR, Z. I. 2000. Different forms of LTD in the CA1 region of the hippocampus: role of age and stimulus protocol. *Eur J Neurosci*, 12, 360-6.
- KEPECS, A. & FISHELL, G. 2014. Interneuron cell types are fit to function. *Nature*, 505, 318-326.
- KERCHNER, G. A. & NICOLL, R. A. 2008. Silent synapses and the emergence of a postsynaptic mechanism for LTP. *Nat Rev Neurosci*, 9, 813-25.
- KESSARIS, N., MAGNO, L., RUBIN, A. N. & OLIVEIRA, M. G. 2014. Genetic programs controlling cortical interneuron fate. *Curr Opin Neurobiol*, 26C, 79-87.
- KHAN, S., MICHMIZOS, K., TOMMERDAHL, M., GANESAN, S., KITZBICHLER, M. G., ZETINO, M., GAREL, K. L., HERBERT, M. R., HAMALAINEN, M. S. & KENET, T. 2015. Somatosensory cortex functional connectivity abnormalities in autism show opposite trends, depending on direction and spatial scale. *Brain*, 138, 1394-409.
- KIM, J. H., LEE, H. K., TAKAMIYA, K. & HUGANIR, R. L. 2003. The role of synaptic GTPase-activating protein in neuronal development and synaptic plasticity. *J Neurosci*, 23, 1119-24.
- KIM, J. H., LIAO, D., LAU, L. F. & HUGANIR, R. L. 1998. SynGAP: a synaptic RasGAP that associates with the PSD-95/SAP90 protein family. *Neuron*, 20, 683-91.
- KIM, M. J., DUNAH, A. W., WANG, Y. T. & SHENG, M. 2005. Differential roles of NR2A- and NR2B-containing NMDA receptors in Ras-ERK signaling and AMPA receptor trafficking. *Neuron*, 46, 745-60.
- KIRSCHSTEIN, T. 2012. Synaptic plasticity and learning in animal models of tuberous sclerosis complex. *Neural Plast*, 2012, 279834.
- KISER, P. J., COOPER, N. G. & MOWER, G. D. 1998. Expression of two forms of glutamic acid decarboxylase (GAD67 and GAD65) during postnatal development of rat somatosensory barrel cortex. *J Comp Neurol*, 402, 62-74.
- KLAUSBERGER, T. & SOMOGYI, P. 2008. Neuronal diversity and temporal dynamics: the unity of hippocampal circuit operations. *Science*, 321, 53-7.

- KLITTEN, L. L., MOLLER, R. S., NIKANOROVA, M., SILAHTAROGLU, A., HJALGRIM, H. & TOMMERUP, N. 2011. A balanced translocation disrupts SYNGAP1 in a patient with intellectual disability, speech impairment, and epilepsy with myoclonic absences (EMA). *Epilepsia*, 52, e190-3.
- KNUESEL, I., ELLIOTT, A., CHEN, H. J., MANSUY, I. M. & KENNEDY, M. B. 2005. A role for synGAP in regulating neuronal apoptosis. *Eur J Neurosci*, 21, 611-21.
- KOMIYAMA, N. H., WATABE, A. M., CARLISLE, H. J., PORTER, K., CHARLESWORTH, P., MONTI, J., STRATHDEE, D. J., O'CARROLL, C. M., MARTIN, S. J., MORRIS, R. G., O'DELL, T. J. & GRANT, S. G. 2002. SynGAP regulates ERK/MAPK signaling, synaptic plasticity, and learning in the complex with postsynaptic density 95 and NMDA receptor. *J Neurosci*, 22, 9721-32.
- KORN, H., BURNOD, Y. & FABER, D. S. 1987. Spontaneous quantal currents in a central neuron match predictions from binomial analysis of evoked responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 84, 5981-5.
- KOROTKOVA, T., FUCHS, E. C., PONOMARENKO, A., VON ENGELHARDT, J. & MONYER, H. 2010. NMDA receptor ablation on parvalbumin-positive interneurons impairs hippocampal synchrony, spatial representations, and working memory. *Neuron*, 68, 557-69.
- KOZOL, R. A., CUKIER, H. N., ZOU, B., MAYO, V., DE RUBEIS, S., CAI, G., GRISWOLD, A. J., WHITEHEAD, P. L., HAINES, J. L., GILBERT, J. R., CUCCARO, M. L., MARTIN, E. R., BAKER, J. D., BUXBAUM, J. D., PERICAK-VANCE, M. A. & DALLMAN, J. E. 2015. Two knockdown models of the autism genes SYNGAP1 and SHANK3 in zebrafish produce similar behavioral phenotypes associated with embryonic disruptions of brain morphogenesis. *Hum Mol Genet*, 24, 4006-4023.
- KRAB, L. C., GOORDEN, S. M. & ELGERSMA, Y. 2008. Oncogenes on my mind: ERK and MTOR signaling in cognitive diseases. *Trends Genet*, 24, 498-510.
- KRAPIVINSKY, G., KRAPIVINSKY, L., MANASIAN, Y., IVANOV, A., TYZIO, R., PELLEGRINO, C., BEN-ARI, Y., CLAPHAM, D. E. & MEDINA, I. 2003. The NMDA receptor is coupled to the ERK pathway by a direct interaction between NR2B and RasGRF1. *Neuron*, 40, 775-84.

- KRAPIVINSKY, G., MEDINA, I., KRAPIVINSKY, L., GAPON, S. & CLAPHAM, D. E. 2004. SynGAP-MUPP1-CaMKII synaptic complexes regulate p38 MAP kinase activity and NMDA receptor-dependent synaptic AMPA receptor potentiation. *Neuron*, 43, 563-74.
- KRUMM, N., O'ROAK, B. J., SHENDURE, J. & EICHLER, E. E. 2014. A de novo convergence of autism genetics and molecular neuroscience. *Trends Neurosci*, 37, 95-105.
- KUBOTA, Y. 2014. Untangling GABAergic wiring in the cortical microcircuit. *Curr Opin Neurobiol*, 26C, 7-14.
- LAN, J. Y., SKEBERDIS, V. A., JOVER, T., GROOMS, S. Y., LIN, Y., ARANEDA, R. C., ZHENG, X., BENNETT, M. V. & ZUKIN, R. S. 2001. Protein kinase C modulates NMDA receptor trafficking and gating. *Nat Neurosci*, 4, 382-90.
- LAPPALAINEN, P. & DRUBIN, D. G. 1997. Cofilin promotes rapid actin filament turnover in vivo. *Nature*, 388, 78-82.
- LARSON, J. & MUNKACSY, E. 2014. Theta-burst LTP. *Brain Res.*
- LARSON, J., WONG, D. & LYNCH, G. 1986. Patterned stimulation at the theta frequency is optimal for the induction of hippocampal long-term potentiation. *Brain Res*, 368, 347-50.
- LEBLANC, A. C. 2013. Caspase-6 as a novel early target in the treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Neurosci*, 37, 2005-18.
- LEE, H. K., KAMEYAMA, K., HUGANIR, R. L. & BEAR, M. F. 1998. NMDA induces long-term synaptic depression and dephosphorylation of the GluR1 subunit of AMPA receptors in hippocampus. *Neuron*, 21, 1151-62.
- LEE, K. F., SOARES, C. & BEIQUÉ, J. C. 2014. Tuning into diversity of homeostatic synaptic plasticity. *Neuropharmacology*, 78, 31-7.
- LEE, S. H., LIU, L., WANG, Y. T. & SHENG, M. 2002. Clathrin adaptor AP2 and NSF interact with overlapping sites of GluR2 and play distinct roles in AMPA receptor trafficking and hippocampal LTD. *Neuron*, 36, 661-74.
- LEEUWEN, F. N., KAIN, H. E., KAMMEN, R. A., MICHIELS, F., KRANENBURG, O. W. & COLLARD, J. G. 1997. The guanine nucleotide exchange factor Tiam1

- affects neuronal morphology; opposing roles for the small GTPases Rac and Rho. *J Cell Biol*, 139, 797-807.
- LEJEUNE, J., GAUTIER, M. & TURPIN, R. 1959. [Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children]. *C R Hebd Seances Acad Sci*, 248, 1721-2.
- LHATOO, S. D. & SANDER, J. W. 2001. The epidemiology of epilepsy and learning disability. *Epilepsia*, 42 Suppl 1, 6-9; discussion 19-20.
- LI, R. W., YU, W., CHRISTIE, S., MIRALLES, C. P., BAI, J., LOTURCO, J. J. & DE BLAS, A. L. 2005. Disruption of postsynaptic GABA receptor clusters leads to decreased GABAergic innervation of pyramidal neurons. *J Neurochem*, 95, 756-70.
- LI, W., OKANO, A., TIAN, Q. B., NAKAYAMA, K., FURIHATA, T., NAWA, H. & SUZUKI, T. 2001. Characterization of a novel synGAP isoform, synGAP-beta. *J Biol Chem*, 276, 21417-24.
- LIAO, D., HESSLER, N. A. & MALINOW, R. 1995. Activation of postsynaptically silent synapses during pairing-induced LTP in CA1 region of hippocampal slice. *Nature*, 375, 400-4.
- LIN, Y., BLOODGOOD, B. L., HAUSER, J. L., LAPAN, A. D., KOON, A. C., KIM, T. K., HU, L. S., MALIK, A. N. & GREENBERG, M. E. 2008. Activity-dependent regulation of inhibitory synapse development by Npas4. *Nature*, 455, 1198-204.
- LING, D. S., BENARDO, L. S., SERRANO, P. A., BLACE, N., KELLY, M. T., CRARY, J. F. & SACKTOR, T. C. 2002. Protein kinase Mzeta is necessary and sufficient for LTP maintenance. *Nat Neurosci*, 5, 295-6.
- LISMAN, J., SCHULMAN, H. & CLINE, H. 2002. The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci*, 3, 175-90.
- LISMAN, J., YASUDA, R. & RAGHAVACHARI, S. 2012. Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation. *Nat Rev Neurosci*, 13, 169-82.
- LIU, L., WONG, T. P., POZZA, M. F., LINGENHOEHL, K., WANG, Y., SHENG, M., AUBERSON, Y. P. & WANG, Y. T. 2004. Role of NMDA receptor subtypes in governing the direction of hippocampal synaptic plasticity. *Science*, 304, 1021-4.
- LIU, S. J. & SAVTCHOUK, I. 2012. Ca(2+) permeable AMPA receptors switch allegiances: mechanisms and consequences. *J Physiol*, 590, 13-20.

- LOEWI, O. 1921. Über humorale übertragbarkeit der Herznervenwirkung. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 189, 239-242.
- LORENTE DE NÓ, R. 1934. Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. *Journal für Psychologie und Neurologie*.
- LOVETT-BARRON, M. & LOSONCZY, A. 2014. Behavioral consequences of GABAergic neuronal diversity. *Curr Opin Neurobiol*, 26, 27-33.
- LOVINGER, D. M., WONG, K. L., MURAKAMI, K. & ROUTTENBERG, A. 1987. Protein kinase C inhibitors eliminate hippocampal long-term potentiation. *Brain Res*, 436, 177-83.
- LUO, L. & O'LEARY, D. D. 2005. Axon retraction and degeneration in development and disease. *Annu Rev Neurosci*, 28, 127-56.
- LUSCHER, C. & MALENKA, R. C. 2012. NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 4.
- LUTHI, A., CHITTAJALLU, R., DUPRAT, F., PALMER, M. J., BENKE, T. A., KIDD, F. L., HENLEY, J. M., ISAAC, J. T. & COLLINGRIDGE, G. L. 1999. Hippocampal LTD expression involves a pool of AMPARs regulated by the NSF-GluR2 interaction. *Neuron*, 24, 389-99.
- LYNCH, G., LARSON, J., KELSO, S., BARRIONUEVO, G. & SCHOTTLER, F. 1983. Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature*, 305, 719-21.
- MACCAFERRI, G. & LACAÏLLE, J. C. 2003. Interneuron Diversity series: Hippocampal interneuron classifications--making things as simple as possible, not simpler. *Trends Neurosci*, 26, 564-71.
- MACDERMOTT, A. B., MAYER, M. L., WESTBROOK, G. L., SMITH, S. J. & BARKER, J. L. 1986. NMDA-receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurones. *Nature*, 321, 519-22.
- MACDONALD, R. L. & OLSEN, R. W. 1994. GABAA receptor channels. *Annu Rev Neurosci*, 17, 569-602.

- MACDOUGALL, M. J. & FINE, A. 2014. The expression of long-term potentiation: reconciling the preists and the postivists. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 369, 20130135.
- MAINBERGER, F., JUNG, N. H., ZENKER, M., WAHLLANDER, U., FREUDENBERG, L., LANGER, S., BERWECK, S., WINKLER, T., STRAUBE, A., HEINEN, F., GRANSTROM, S., MAUTNER, V. F., LIDZBA, K. & MALL, V. 2013. Lovastatin improves impaired synaptic plasticity and phasic alertness in patients with neurofibromatosis type 1. *BMC Neurol*, 13, 131.
- MAKINO, H. & MALINOW, R. 2009. AMPA receptor incorporation into synapses during LTP: the role of lateral movement and exocytosis. *Neuron*, 64, 381-90.
- MALENKA, R. C. 1994. Synaptic plasticity in the hippocampus: LTP and LTD. *Cell*, 78, 535-8.
- MALENKA, R. C. & BEAR, M. F. 2004. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron*, 44, 5-21.
- MALGAROLI, A. & TSIEN, R. W. 1992. Glutamate-induced long-term potentiation of the frequency of miniature synaptic currents in cultured hippocampal neurons. *Nature*, 357, 134-9.
- MALINOW, R., MADISON, D. V. & TSIEN, R. W. 1988. Persistent protein kinase activity underlying long-term potentiation. *Nature*, 335, 820-4.
- MANABE, T., RENNER, P. & NICOLL, R. A. 1992. Postsynaptic contribution to long-term potentiation revealed by the analysis of miniature synaptic currents. *Nature*, 355, 50-5.
- MAREN, S., PHAN, K. L. & LIBERZON, I. 2013. The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. *Nat Rev Neurosci*, 14, 417-28.
- MARIN, O. 2013. Cellular and molecular mechanisms controlling the migration of neocortical interneurons. *Eur J Neurosci*, 38, 2019-29.
- MARIN, O., ANDERSON, S. A. & RUBENSTEIN, J. L. 2000. Origin and molecular specification of striatal interneurons. *J Neurosci*, 20, 6063-76.
- MARIN, O. & RUBENSTEIN, J. L. 2001. A long, remarkable journey: tangential migration in the telencephalon. *Nat Rev Neurosci*, 2, 780-90.

- MARIN, O., YARON, A., BAGRI, A., TESSIER-LAVIGNE, M. & RUBENSTEIN, J. L. 2001. Sorting of striatal and cortical interneurons regulated by semaphorin-neuropilin interactions. *Science*, 293, 872-5.
- MATSON, J. L., BAMBURG, J. W., MAYVILLE, E. A. & KHAN, I. 1999. Seizure disorders in people with intellectual disability: an analysis of differences in social functioning, adaptive functioning and maladaptive behaviours. *J Intellect Disabil Res*, 43 ( Pt 6), 531-9.
- MATT, L. & HELL, J. W. 2013. PKCλ: a new player in LTP coming to the rescue of PKCζ's faltering role in LTP? *EMBO J*, 32, 1348-9.
- MAYER, M. L., WESTBROOK, G. L. & GUTHRIE, P. B. 1984. Voltage-dependent block by Mg<sup>2+</sup> of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature*, 309, 261-3.
- MCGROTHER, C. W., BHAUMIK, S., THORP, C. F., HAUCK, A., BRANFORD, D. & WATSON, J. M. 2006. Epilepsy in adults with intellectual disabilities: prevalence, associations and service implications. *Seizure*, 15, 376-86.
- MCCMAHON, A. C., BARNETT, M. W., O'LEARY, T. S., STONEY, P. N., COLLINS, M. O., PAPADIA, S., CHOUDHARY, J. S., KOMIYAMA, N. H., GRANT, S. G., HARDINGHAM, G. E., WYLLIE, D. J. & KIND, P. C. 2012. SynGAP isoforms exert opposing effects on synaptic strength. *Nat Commun*, 3, 900.
- MEFFORD, H. C., BATSHAW, M. L. & HOFFMAN, E. P. 2012. Genomics, intellectual disability, and autism. *N Engl J Med*, 366, 733-43.
- MICHALON, A., SIDOROV, M., BALLARD, T. M., OZMEN, L., SPOOREN, W., WETTSTEIN, J. G., JAESCHKE, G., BEAR, M. F. & LINDEMANN, L. 2012. Chronic pharmacological mGlu5 inhibition corrects fragile X in adult mice. *Neuron*, 74, 49-56.
- MOON, I. S., SAKAGAMI, H., NAKAYAMA, J. & SUZUKI, T. 2008. Differential distribution of synGAP alpha1 and synGAP beta isoforms in rat neurons. *Brain Res*, 1241, 62-75.
- MORRIS, R. 1984. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods*, 11, 47-60.

- MORRIS, R. G., ANDERSON, E., LYNCH, G. S. & BAUDRY, M. 1986. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 319, 774-6.
- MOUNTCASTLE, V. B. 1997. The columnar organization of the neocortex. *Brain*, 120 (Pt 4), 701-22.
- MUHIA, M., WILLADT, S., YEE, B. K., FELDON, J., PATERNA, J. C., SCHWENDENER, S., VOGT, K., KENNEDY, M. B. & KNUESEL, I. 2012. Molecular and behavioral changes associated with adult hippocampus-specific SynGAP1 knockout. *Learn Mem*, 19, 268-81.
- MUHIA, M., YEE, B. K., FELDON, J., MARKOPOULOS, F. & KNUESEL, I. 2010. Disruption of hippocampus-regulated behavioural and cognitive processes by heterozygous constitutive deletion of SynGAP. *Eur J Neurosci*, 31, 529-43.
- MULKEY, R. M., HERRON, C. E. & MALENKA, R. C. 1993. An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science*, 261, 1051-5.
- MULKEY, R. M. & MALENKA, R. C. 1992. Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron*, 9, 967-75.
- MUSANTE, L. & ROPERS, H. H. 2014. Genetics of recessive cognitive disorders. *Trends Genet*, 30, 32-9.
- NADEL, L. & MOSCOVITCH, M. 1997. Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol*, 7, 217-27.
- NADLER, J. J., MOY, S. S., DOLD, G., TRANG, D., SIMMONS, N., PEREZ, A., YOUNG, N. B., BARBARO, R. P., PIVEN, J., MAGNUSON, T. R. & CRAWLEY, J. N. 2004. Automated apparatus for quantitation of social approach behaviors in mice. *Genes Brain Behav*, 3, 303-14.
- NAGEL, G., SZELLAS, T., HUHN, W., KATERIYA, S., ADEISHVILI, N., BERTHOLD, P., OLLIG, D., HEGEMANN, P. & BAMBERG, E. 2003. Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100, 13940-5.

- NAKANO, M., YAMADA, S., UDAGAWA, R. & KATO, N. 2004. Frequency-dependent requirement for calcium store-operated mechanisms in induction of homosynaptic long-term depression at hippocampus CA1 synapses. *Eur J Neurosci*, 19, 2881-7.
- NEHER, E. & SAKMANN, B. 1976a. Noise analysis of drug induced voltage clamp currents in denervated frog muscle fibres. *J Physiol*, 258, 705-29.
- NEHER, E. & SAKMANN, B. 1976b. Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. *Nature*, 260, 799-802.
- NELSON, E. D., KAVALALI, E. T. & MONTEGGIA, L. M. 2006. MeCP2-dependent transcriptional repression regulates excitatory neurotransmission. *Curr Biol*, 16, 710-6.
- NEVES, G., COOKE, S. F. & BLISS, T. V. 2008. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nat Rev Neurosci*, 9, 65-75.
- NISHIYAMA, M., HONG, K., MIKOSHIBA, K., POO, M. M. & KATO, K. 2000. Calcium stores regulate the polarity and input specificity of synaptic modification. *Nature*, 408, 584-8.
- NISWENDER, C. M. & CONN, P. J. 2010. Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 50, 295-322.
- NOWAK, L., BREGESTOVSKI, P., ASCHER, P., HERBET, A. & PROCHIANTZ, A. 1984. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*, 307, 462-5.
- OH, J. S., MANZERRA, P. & KENNEDY, M. B. 2004. Regulation of the neuron-specific Ras GTPase-activating protein, synGAP, by Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II. *J Biol Chem*, 279, 17980-8.
- OLIET, S. H., MALENKA, R. C. & NICOLL, R. A. 1997. Two distinct forms of long-term depression coexist in CA1 hippocampal pyramidal cells. *Neuron*, 18, 969-82.
- ORMOND, J. & WOODIN, M. A. 2009. Disinhibition mediates a form of hippocampal long-term potentiation in area CA1. *PLoS One*, 4, e7224.
- OSTERWEIL, E. K., CHUANG, S. C., CHUBYKIN, A. A., SIDOROV, M., BIANCHI, R., WONG, R. K. & BEAR, M. F. 2013. Lovastatin corrects excess protein synthesis and prevents epileptogenesis in a mouse model of fragile X syndrome. *Neuron*, 77, 243-50.

- OZKAN, EMIN D., CRESO, THOMAS K., KRAMÁR, ENIKŐ A., ROJAS, C., SEESE, RON R., BABYAN, ALEX H., SHI, Y., LUCERO, R., XU, X., NOEBELS, JEFFREY L., MILLER, COURTNEY A., LYNCH, G. & RUMBAUGH, G. 2014. Reduced Cognition in Syngap1 Mutants Is Caused by Isolated Damage within Developing Forebrain Excitatory Neurons. *Neuron*, 82, 1317-1333.
- PAOLETTI, P., BELLONE, C. & ZHOU, Q. 2013. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci*, 14, 383-400.
- PARK, P., VOLIANSKIS, A., SANDERSON, T. M., BORTOLOTTI, Z. A., JANE, D. E., ZHUO, M., KAANG, B. K. & COLLINGRIDGE, G. L. 2014. NMDA receptor-dependent long-term potentiation comprises a family of temporally overlapping forms of synaptic plasticity that are induced by different patterns of stimulation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 369, 20130131.
- PATTERSON, M. A., SZATMARI, E. M. & YASUDA, R. 2010. AMPA receptors are exocytosed in stimulated spines and adjacent dendrites in a Ras-ERK-dependent manner during long-term potentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107, 15951-6.
- PEARSON, G., ROBINSON, F., BEERS GIBSON, T., XU, B. E., KARANDIKAR, M., BERMAN, K. & COBB, M. H. 2001. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr Rev*, 22, 153-83.
- PENA, V., HOTHORN, M., EBERTH, A., KASCHAU, N., PARRET, A., GREMER, L., BONNEAU, F., AHMADIAN, M. R. & SCHEFFZEK, K. 2008. The C2 domain of SynGAP is essential for stimulation of the Rap GTPase reaction. *EMBO Rep*, 9, 350-5.
- PENFIELD, W. & RASMUSSEN, T. 1950. The cerebral cortex of man; a clinical study of localization of function.
- PEREZ-CREMADES, D., HERNANDEZ, S., BLASCO-IBANEZ, J. M., CRESPO, C., NACHER, J. & VAREA, E. 2010. Alteration of inhibitory circuits in the somatosensory cortex of Ts65Dn mice, a model for Down's syndrome. *J Neural Transm*, 117, 445-55.

- PETILLA INTERNEURON NOMENCLATURE, G., ASCOLI, G. A., ALONSO-NANCLARES, L., ANDERSON, S. A., BARRIONUEVO, G., BENAVIDES-PICCIONE, R., BURKHALTER, A., BUZSAKI, G., CAULI, B., DEFELIPE, J., FAIREN, A., FELDMEYER, D., FISHELL, G., FREGNAC, Y., FREUND, T. F., GARDNER, D., GARDNER, E. P., GOLDBERG, J. H., HELMSTAEDTER, M., HESTRIN, S., KARUBE, F., KISVARDAY, Z. F., LAMBOLEZ, B., LEWIS, D. A., MARIN, O., MARKRAM, H., MUNOZ, A., PACKER, A., PETERSEN, C. C., ROCKLAND, K. S., ROSSIER, J., RUDY, B., SOMOGYI, P., STAIGER, J. F., TAMAS, G., THOMSON, A. M., TOLEDO-RODRIGUEZ, M., WANG, Y., WEST, D. C. & YUSTE, R. 2008. Petilla terminology: nomenclature of features of GABAergic interneurons of the cerebral cortex. *Nat Rev Neurosci*, 9, 557-68.
- PETRALIA, R. S., ESTEBAN, J. A., WANG, Y. X., PARTRIDGE, J. G., ZHAO, H. M., WENTHOLD, R. J. & MALINOW, R. 1999. Selective acquisition of AMPA receptors over postnatal development suggests a molecular basis for silent synapses. *Nat Neurosci*, 2, 31-6.
- PIN, J. P. & DUVOISIN, R. 1995. The metabotropic glutamate receptors: structure and functions. *Neuropharmacology*, 34, 1-26.
- PINAL, C. S. & TOBIN, A. J. 1998. Uniqueness and redundancy in GABA production. *Perspect Dev Neurobiol*, 5, 109-18.
- PINSKER, H., KUPFERMANN, I., CASTELLUCCI, V. & KANDEL, E. 1970. Habituation and dishabituation of the gill-withdrawal reflex in *Aplysia*. *Science*, 167, 1740-2.
- POLDER, J. J., MEERDING, W. J., BONNEUX, L. & VAN DER MAAS, P. J. 2002. Healthcare costs of intellectual disability in the Netherlands: a cost-of-illness perspective. *J Intellect Disabil Res*, 46, 168-78.
- POLLEUX, F., WHITFORD, K. L., DIJKHUIZEN, P. A., VITALIS, T. & GHOSH, A. 2002. Control of cortical interneuron migration by neurotrophins and PI3-kinase signaling. *Development*, 129, 3147-60.
- PORTER, K., KOMIYAMA, N. H., VITALIS, T., KIND, P. C. & GRANT, S. G. 2005. Differential expression of two NMDA receptor interacting proteins, PSD-95 and SynGAP during mouse development. *Eur J Neurosci*, 21, 351-62.

- POUILLE, F. & SCANZIANI, M. 2001. Enforcement of temporal fidelity in pyramidal cells by somatic feed-forward inhibition. *Science*, 293, 1159-63.
- PRINCE, M., PATEL, V., SAXENA, S., MAJ, M., MASELKO, J., PHILLIPS, M. R. & RAHMAN, A. 2007. No health without mental health. *Lancet*, 370, 859-77.
- RAKIC, P. 2009. Evolution of the neocortex: a perspective from developmental biology. *Nat Rev Neurosci*, 10, 724-35.
- RAMÓN Y CAJAL, S. 1893. *Estructura del asta de ammon y fascia dentata*, tip. de Fortanet.
- RAMÓN Y CAJAL, S. 1911. *Histologie du Systeme Nerveux de l'homme et des Vertebres*, Vol. 2. *Maloine, Paris*, 887-890.
- RAUCH, A., WIECZOREK, D., GRAF, E., WIELAND, T., ENDELE, S., SCHWARZMAYR, T., ALBRECHT, B., BARTHOLDI, D., BEYGO, J., DI DONATO, N., DUFKE, A., CREMER, K., HEMPEL, M., HORN, D., HOYER, J., JOSET, P., ROPKE, A., MOOG, U., RIESS, A., THIEL, C. T., TZSCHACH, A., WIESENER, A., WOHLLEBER, E., ZWEIER, C., EKICI, A. B., ZINK, A. M., RUMP, A., MEISINGER, C., GRALLERT, H., STICHT, H., SCHENCK, A., ENGELS, H., RAPPOLD, G., SCHROCK, E., WIEACKER, P., RIESS, O., MEITINGER, T., REIS, A. & STROM, T. M. 2012. Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: an exome sequencing study. *Lancet*, 380, 1674-82.
- RAUEN, K. A. 2013. The RASopathies. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 14, 355-69.
- REDMAN, S. 1990. Quantal analysis of synaptic potentials in neurons of the central nervous system. *Physiol Rev*, 70, 165-98.
- REGEHR, W. G. 2012. Short-term presynaptic plasticity. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 4, a005702.
- REN, S. Q., YAN, J. Z., ZHANG, X. Y., BU, Y. F., PAN, W. W., YAO, W., TIAN, T. & LU, W. 2013. PKC $\lambda$  is critical in AMPA receptor phosphorylation and synaptic incorporation during LTP. *EMBO J*, 32, 1365-80.
- ROCKLIFFE, N. & GAWLER, D. 2006. Differential mechanisms of glutamate receptor regulation of SynGAP in cortical neurones. *FEBS Lett*, 580, 831-8.

- RODRIGUEZ-VICIANA, P., WARNE, P. H., DHAND, R., VANHAESEBROECK, B., GOUT, I., FRY, M. J., WATERFIELD, M. D. & DOWNWARD, J. 1994. Phosphatidylinositol-3-OH kinase as a direct target of Ras. *Nature*, 370, 527-32.
- ROPER, H. H. 2008. Genetics of intellectual disability. *Curr Opin Genet Dev*, 18, 241-50.
- ROPER, H. H. 2010. Genetics of early onset cognitive impairment. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 11, 161-87.
- RUBENSTEIN, J. L. 2010. Three hypotheses for developmental defects that may underlie some forms of autism spectrum disorder. *Curr Opin Neurol*, 23, 118-23.
- RUBENSTEIN, J. L. & MERZENICH, M. M. 2003. Model of autism: increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems. *Genes Brain Behav*, 2, 255-67.
- RUMBAUGH, G., ADAMS, J. P., KIM, J. H. & HUGANIR, R. L. 2006. SynGAP regulates synaptic strength and mitogen-activated protein kinases in cultured neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 4344-51.
- SAMETSKY, E. A., DISTERHOFT, J. F., GEINISMAN, Y. & NICHOLSON, D. A. 2010. Synaptic strength and postsynaptically silent synapses through advanced aging in rat hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Neurobiol Aging*, 31, 813-25.
- SAUER, B. 1987. Functional expression of the cre-lox site-specific recombination system in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol*, 7, 2087-96.
- SAUER, B. & HENDERSON, N. 1988. Site-specific DNA recombination in mammalian cells by the Cre recombinase of bacteriophage P1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85, 5166-70.
- SCENIAK, M. P., LANG, M., ENOMOTO, A. C., JAMES HOWELL, C., HERMES, D. J. & KATZ, D. M. 2015. Mechanisms of Functional Hypoconnectivity in the Medial Prefrontal Cortex of *Mecp2* Null Mice. *Cereb Cortex*.
- SCHWENK, F., BARON, U. & RAJEWSKY, K. 1995. A cre-transgenic mouse strain for the ubiquitous deletion of loxP-flanked gene segments including deletion in germ cells. *Nucleic Acids Res*, 23, 5080-1.
- SCOVILLE, W. B. & MILNER, B. 1957. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 20, 11-21.

- SEKINO, Y., KOJIMA, N. & SHIRAO, T. 2007. Role of actin cytoskeleton in dendritic spine morphogenesis. *Neurochem Int*, 51, 92-104.
- SELYANKO, A. A., DERKACH, V. A. & SKOK, V. I. 1979. Fast excitatory postsynaptic currents in voltage-clamped mammalian sympathetic ganglion neurones. *J Auton Nerv Syst*, 1, 127-37.
- SHILYANSKY, C., LEE, Y. S. & SILVA, A. J. 2010. Molecular and cellular mechanisms of learning disabilities: a focus on NF1. *Annu Rev Neurosci*, 33, 221-43.
- SILVERMAN, J. L., YANG, M., LORD, C. & CRAWLEY, J. N. 2010. Behavioural phenotyping assays for mouse models of autism. *Nat Rev Neurosci*, 11, 490-502.
- SOHAL, V. S., ZHANG, F., YIZHAR, O. & DEISSEROTH, K. 2009. Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature*, 459, 698-702.
- SOMOGYI, P. & KLAUSBERGER, T. 2005. Defined types of cortical interneurone structure space and spike timing in the hippocampus. *J Physiol*, 562, 9-26.
- SONG, B., YAN, X. B. & ZHANG, G. Y. 2004. PSD-95 promotes CaMKII-catalyzed serine phosphorylation of the synaptic RAS-GTPase activating protein SynGAP after transient brain ischemia in rat hippocampus. *Brain Res*, 1005, 44-50.
- SQUIRE, L. R. & ZOLA-MORGAN, S. 1991. The medial temporal lobe memory system. *Science*, 253, 1380-6.
- STAIGER, J. F., KOTTER, R., ZILLES, K. & LUHMANN, H. J. 1999. Connectivity in the somatosensory cortex of the adolescent rat: an in vitro biocytin study. *Anat Embryol (Berl)*, 199, 357-65.
- STANTON, P. K., WINTERER, J., BAILEY, C. P., KYROZIS, A., RAGINOV, I., LAUBE, G., VEH, R. W., NGUYEN, C. Q. & MULLER, W. 2003. Long-term depression of presynaptic release from the readily releasable vesicle pool induced by NMDA receptor-dependent retrograde nitric oxide. *J Neurosci*, 23, 5936-44.
- STORNETTA, R. L. & ZHU, J. J. 2011. Ras and Rap signaling in synaptic plasticity and mental disorders. *Neuroscientist*, 17, 54-78.
- SULTAN, K. T., BROWN, K. N. & SHI, S. H. 2013. Production and organization of neocortical interneurons. *Front Cell Neurosci*, 7, 221.

- SULTAN, K. T., SHI, W. & SHI, S. H. 2014. Clonal origins of neocortical interneurons. *Curr Opin Neurobiol*, 26C, 125-131.
- SUSSEL, L., MARIN, O., KIMURA, S. & RUBENSTEIN, J. L. 1999. Loss of Nkx2.1 homeobox gene function results in a ventral to dorsal molecular respecification within the basal telencephalon: evidence for a transformation of the pallidum into the striatum. *Development*, 126, 3359-70.
- SZABADICS, J., VARGA, C., MOLNAR, G., OLAH, S., BARZO, P. & TAMAS, G. 2006. Excitatory effect of GABAergic axo-axonic cells in cortical microcircuits. *Science*, 311, 233-5.
- SZENTAGOTHAI, J. & ARBIB, M. A. 1974. Conceptual models of neural organization. *Neurosci Res Program Bull*, 12, 305-510.
- TABUCHI, K., BLUNDELL, J., ETHERTON, M. R., HAMMER, R. E., LIU, X., POWELL, C. M. & SUDHOF, T. C. 2007. A neuroligin-3 mutation implicated in autism increases inhibitory synaptic transmission in mice. *Science*, 318, 71-6.
- TADA, T. & SHENG, M. 2006. Molecular mechanisms of dendritic spine morphogenesis. *Curr Opin Neurobiol*, 16, 95-101.
- TANIGUCHI, H., LU, J. & HUANG, Z. J. 2013. The spatial and temporal origin of chandelier cells in mouse neocortex. *Science*, 339, 70-4.
- TAPON, N. & HALL, A. 1997. Rho, Rac and Cdc42 GTPases regulate the organization of the actin cytoskeleton. *Curr Opin Cell Biol*, 9, 86-92.
- THOMAS, G. M. & HUGANIR, R. L. 2004. MAPK cascade signalling and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci*, 5, 173-83.
- THOMSON, A. M. & LAMY, C. 2007. Functional maps of neocortical local circuitry. *Front Neurosci*, 1, 19-42.
- TILL, S. M., WIJETUNGE, L. S., SEIDEL, V. G., HARLOW, E., WRIGHT, A. K., BAGNI, C., CONTRACTOR, A., GILLINGWATER, T. H. & KIND, P. C. 2012. Altered maturation of the primary somatosensory cortex in a mouse model of fragile X syndrome. *Hum Mol Genet*, 21, 2143-56.
- TOMCHEK, S. D. & DUNN, W. 2007. Sensory processing in children with and without autism: a comparative study using the short sensory profile. *Am J Occup Ther*, 61, 190-200.

- TRAYNELIS, S. F., WOLLMUTH, L. P., MCBAIN, C. J., MENNITI, F. S., VANCE, K. M., OGDEN, K. K., HANSEN, K. B., YUAN, H., MYERS, S. J. & DINGLEDINE, R. 2010. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. *Pharmacol Rev*, 62, 405-96.
- TURRIGIANO, G. G. & NELSON, S. B. 2004. Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci*, 5, 97-107.
- TYE, K. M. & DEISSEROTH, K. 2012. Optogenetic investigation of neural circuits underlying brain disease in animal models. *Nat Rev Neurosci*, 13, 251-66.
- TYLER, W. J. & POZZO-MILLER, L. D. 2001. BDNF enhances quantal neurotransmitter release and increases the number of docked vesicles at the active zones of hippocampal excitatory synapses. *J Neurosci*, 21, 4249-58.
- VAN BOKHOVEN, H. 2011. Genetic and epigenetic networks in intellectual disabilities. *Annu Rev Genet*, 45, 81-104.
- VAN DER VAART, T., PLASSCHAERT, E., RIETMAN, A. B., RENARD, M., OOSTENBRINK, R., VOGELS, A., DE WIT, M. C., DESCHEEMAEKER, M. J., VERGOUWE, Y., CATSMAN-BERREVOETS, C. E., LEGIUS, E., ELGERSMA, Y. & MOLL, H. A. 2013. Simvastatin for cognitive deficits and behavioural problems in patients with neurofibromatosis type 1 (NF1-SIMCODA): a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol*, 12, 1076-83.
- VAN SLEGTENHORST, M., DE HOOGT, R., HERMANS, C., NELLIST, M., JANSSEN, B., VERHOEF, S., LINDHOUT, D., VAN DEN OUWELAND, A., HALLEY, D., YOUNG, J., BURLEY, M., JEREMIAH, S., WOODWARD, K., NAHMIAS, J., FOX, M., EKONG, R., OSBORNE, J., WOLFE, J., POVEY, S., SNELL, R. G., CHEADLE, J. P., JONES, A. C., TACHATAKI, M., RAVINE, D., SAMPSON, J. R., REEVE, M. P., RICHARDSON, P., WILMER, F., MUNRO, C., HAWKINS, T. L., SEPP, T., ALI, J. B., WARD, S., GREEN, A. J., YATES, J. R., KWIATKOWSKA, J., HENSKE, E. P., SHORT, M. P., HAINES, J. H., JOZWIAK, S. & KWIATKOWSKI, D. J. 1997. Identification of the tuberous sclerosis gene TSC1 on chromosome 9q34. *Science*, 277, 805-8.

- VAN STRIEN, N. M., CAPPAERT, N. L. & WITTER, M. P. 2009. The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. *Nat Rev Neurosci*, 10, 272-82.
- VAZQUEZ, L. E., CHEN, H. J., SOKOLOVA, I., KNUESEL, I. & KENNEDY, M. B. 2004. SynGAP regulates spine formation. *J Neurosci*, 24, 8862-72.
- VERKERK, A. J., PIERETTI, M., SUTCLIFFE, J. S., FU, Y. H., KUHL, D. P., PIZZUTI, A., REINER, O., RICHARDS, S., VICTORIA, M. F., ZHANG, F. P. & ET AL. 1991. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell*, 65, 905-14.
- VISSERS, L. E., DE LIGT, J., GILISSEN, C., JANSSEN, I., STEEHOUWER, M., DE VRIES, P., VAN LIER, B., ARTS, P., WIESKAMP, N., DEL ROSARIO, M., VAN BON, B. W., HOISCHEN, A., DE VRIES, B. B., BRUNNER, H. G. & VELTMAN, J. A. 2010. A de novo paradigm for mental retardation. *Nat Genet*, 42, 1109-12.
- VOLIANSKIS, A., BANNISTER, N., COLLETT, V. J., IRVINE, M. W., MONAGHAN, D. T., FITZJOHN, S. M., JENSEN, M. S., JANE, D. E. & COLLINGRIDGE, G. L. 2013. Different NMDA receptor subtypes mediate induction of long-term potentiation and two forms of short-term potentiation at CA1 synapses in rat hippocampus in vitro. *J Physiol*, 591, 955-72.
- VOLIANSKIS, A. & JENSEN, M. S. 2003. Transient and sustained types of long-term potentiation in the CA1 area of the rat hippocampus. *J Physiol*, 550, 459-92.
- VOLK, L. J., BACHMAN, J. L., JOHNSON, R., YU, Y. & HUGANIR, R. L. 2013. PKM-zeta is not required for hippocampal synaptic plasticity, learning and memory. *Nature*, 493, 420-3.
- VON STULPNAGEL, C., FUNKE, C., HABERL, C., HORTNAGEL, K., JUNGLING, J., WEBER, Y. G., STAUDT, M. & KLUGER, G. 2015. SYNGAP1 Mutation in Focal and Generalized Epilepsy: A Literature Overview and A Case Report with Special Aspects of the EEG. *Neuropediatrics*.
- WALKUP, W. G. T., WASHBURN, L., SWEREDOSKI, M. J., CARLISLE, H. J., GRAHAM, R. L., HESS, S. & KENNEDY, M. B. 2015. Phosphorylation of

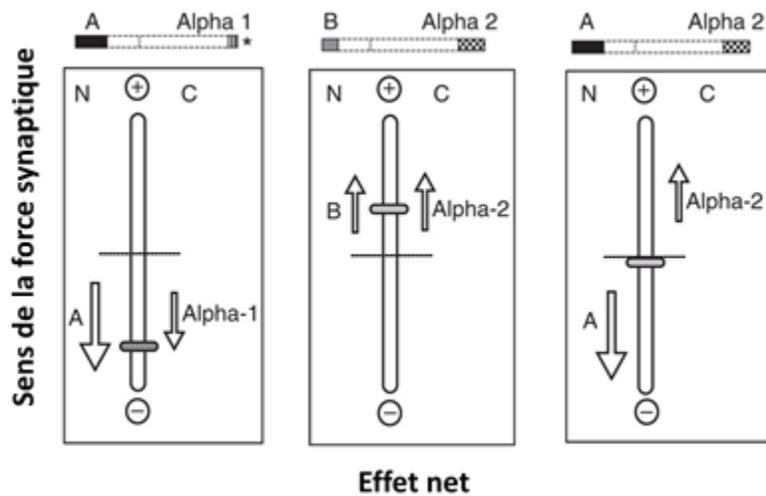
- Synaptic GTPase-activating Protein (synGAP) by Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-dependent Protein Kinase II (CaMKII) and Cyclin-dependent Kinase 5 (CDK5) Alters the Ratio of Its GAP Activity toward Ras and Rap GTPases. *J Biol Chem*, 290, 4908-27.
- WANG, C. C., HELD, R. G. & HALL, B. J. 2013. SynGAP Regulates Protein Synthesis and Homeostatic Synaptic Plasticity in Developing Cortical Networks. *PLoS One*, 8, e83941.
- WELCH, H. C., COADWELL, W. J., STEPHENS, L. R. & HAWKINS, P. T. 2003. Phosphoinositide 3-kinase-dependent activation of Rac. *FEBS Lett*, 546, 93-7.
- WENTHOLD, R. J., PETRALIA, R. S., BLAHOS, J., II & NIEDZIELSKI, A. S. 1996. Evidence for multiple AMPA receptor complexes in hippocampal CA1/CA2 neurons. *J Neurosci*, 16, 1982-9.
- WERNICKE, C. 1874. *Der aphasische Symptomencomplex: eine psychologische Studie auf anatomischer Basis*, Cohn.
- WIGSTROM, H. & GUSTAFSSON, B. 1983. Facilitated induction of hippocampal long-lasting potentiation during blockade of inhibition. *Nature*, 301, 603-4.
- WITTER, M. P., WOUTERLOOD, F. G., NABER, P. A. & VAN HAEFTEN, T. 2000. Anatomical organization of the parahippocampal-hippocampal network. *Ann N Y Acad Sci*, 911, 1-24.
- WONDERS, C. P. & ANDERSON, S. A. 2006. The origin and specification of cortical interneurons. *Nat Rev Neurosci*, 7, 687-96.
- WOODRUFF, A., XU, Q., ANDERSON, S. A. & YUSTE, R. 2009. Depolarizing effect of neocortical chandelier neurons. *Front Neural Circuits*, 3, 15.
- WOODRUFF, A. & YUSTE, R. 2008. Of mice and men, and chandeliers. *PLoS Biol*, 6, e243.
- WOODRUFF, A. R., ANDERSON, S. A. & YUSTE, R. 2010. The enigmatic function of chandelier cells. *Front Neurosci*, 4, 201.
- WOODRUFF, A. R., MCGARRY, L. M., VOGELS, T. P., INAN, M., ANDERSON, S. A. & YUSTE, R. 2011. State-dependent function of neocortical chandelier cells. *J Neurosci*, 31, 17872-86.

- WRITZL, K. & KNEGT, A. C. 2013. 6p21.3 microdeletion involving the SYNGAP1 gene in a patient with intellectual disability, seizures, and severe speech impairment. *Am J Med Genet A*, 161A, 1682-5.
- WU, X., FU, Y., KNOTT, G., LU, J., DI CRISTO, G. & HUANG, Z. J. 2012. GABA signaling promotes synapse elimination and axon pruning in developing cortical inhibitory interneurons. *J Neurosci*, 32, 331-43.
- XU, Q., TAM, M. & ANDERSON, S. A. 2008. Fate mapping Nkx2.1-lineage cells in the mouse telencephalon. *J Comp Neurol*, 506, 16-29.
- YANG, N., HIGUCHI, O., OHASHI, K., NAGATA, K., WADA, A., KANGAWA, K., NISHIDA, E. & MIZUNO, K. 1998. Cofilin phosphorylation by LIM-kinase 1 and its role in Rac-mediated actin reorganization. *Nature*, 393, 809-12.
- YANG, Y., TAO-CHENG, J. H., BAYER, K. U., REESE, T. S. & DOSEMECI, A. 2013. Camkii-Mediated Phosphorylation Regulates Distributions of Syngap-alpha1 and -alpha2 at the Postsynaptic Density. *PLoS One*, 8, e71795.
- YANG, Y., TAO-CHENG, J. H., REESE, T. S. & DOSEMECI, A. 2011. SynGAP moves out of the core of the postsynaptic density upon depolarization. *Neuroscience*, 192, 132-9.
- YASHIRO, K. & PHILPOT, B. D. 2008. Regulation of NMDA receptor subunit expression and its implications for LTD, LTP, and metaplasticity. *Neuropharmacology*, 55, 1081-94.
- YASUDA, H., BARTH, A. L., STELLWAGEN, D. & MALENKA, R. C. 2003. A developmental switch in the signaling cascades for LTP induction. *Nat Neurosci*, 6, 15-6.
- YE, X. & CAREW, T. J. 2010. Small G protein signaling in neuronal plasticity and memory formation: the specific role of ras family proteins. *Neuron*, 68, 340-61.
- YIZHAR, O., FENNO, L. E., PRIGGE, M., SCHNEIDER, F., DAVIDSON, T. J., O'SHEA, D. J., SOHAL, V. S., GOSHEN, I., FINKELSTEIN, J., PAZ, J. T., STEHFEST, K., FUDIM, R., RAMAKRISHNAN, C., HUGUENARD, J. R., HEGEMANN, P. & DEISSEROTH, K. 2011. Neocortical excitation/inhibition balance in information processing and social dysfunction. *Nature*, 477, 171-8.

- ZALUTSKY, R. A. & NICOLL, R. A. 1990. Comparison of two forms of long-term potentiation in single hippocampal neurons. *Science*, 248, 1619-24.
- ZHANG, W., VAZQUEZ, L., APPERSON, M. & KENNEDY, M. B. 1999. Citron binds to PSD-95 at glutamatergic synapses on inhibitory neurons in the hippocampus. *J Neurosci*, 19, 96-108.
- ZHU, J. J., ESTEBAN, J. A., HAYASHI, Y. & MALINOW, R. 2000. Postnatal synaptic potentiation: delivery of GluR4-containing AMPA receptors by spontaneous activity. *Nat Neurosci*, 3, 1098-106.
- ZHU, J. J., QIN, Y., ZHAO, M., VAN AELST, L. & MALINOW, R. 2002. Ras and Rap control AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity. *Cell*, 110, 443-55.
- ZHU, Y., STORNETTA, R. L. & ZHU, J. J. 2004. Chandelier cells control excessive cortical excitation: characteristics of whisker-evoked synaptic responses of layer 2/3 nonpyramidal and pyramidal neurons. *J Neurosci*, 24, 5101-8.
- ZOLA-MORGAN, S., SQUIRE, L. R. & AMARAL, D. G. 1986. Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *J Neurosci*, 6, 2950-67.
- ZUCKER, R. S. & REGEHR, W. G. 2002. Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Physiol*, 64, 355-405.

## ANNEXE 1 : ISOFORMES DE *SYNGAP1*

*SYNGAP1* possède également plusieurs sites d'épissage alternatifs menant à la production de différentes isoformes (Kim et al., 1998, Li et al., 2001, McMahon et al., 2012). Les isoformes N-terminaux sont nommées Syngap1A, -B et -C alors que les isoformes C-terminaux sont nommées *Syngap1* $\alpha 1$ , - $\alpha 2$ , - $\beta$  et  $\gamma$  (McMahon et al., 2012). De plus, différentes combinaisons existent entre les isoformes en N- et en C-terminal. Très peu est connu des isoformes N-terminal, mais il semble que leur expression est régulée différemment selon l'activité synaptique et l'âge (McMahon et al., 2012).



**Figure A1.1. Isoformes de *Syngap1***

Adaptée de (McMahon et al., 2012)

À l'exception de *Syngap1C*, toutes les isoformes sont composées d'un domaine d'homologie de pleckstrine (PH) un domaine C2, un domaine RasGAP. L'isoforme *Syngap1* $\alpha 1$ , qui possède le motif de liaison PDZ et est celui le plus étudié et qui a été décrit dans ce mémoire. L'isoforme *Syngap1* $\alpha 2$  possède un domaine TADH, mais l'absence du domaine QTRV n'empêche pas sa localisation à la PSD (Yang et al., 2013). L'isoforme *Syngap1* $\beta$  quant à lui possède un domaine GAAPGPPRHG et peut lier directement la forme

non-phosphorylée de la CaMKII $\alpha$  (Li et al., 2001). Finalement, l'isoforme *Syngap1 $\gamma$*  possède un domaine LLIR. Les isoformes *Syngap1 $\alpha$ 1* et *Syngap1 $\alpha$ 2* exercent également des effets opposés sur la force synaptique. Alors que la surexpression de *Syngap1 $\alpha$ 1* dans les neurones en cultures diminue la transmission synaptique telle que rapportée par les études précédentes, *Syngap1 $\alpha$ 2* l'augmente (**Figure A1.1**) (McMahon et al., 2012).

## ANNEXE 2 : PROJET DE COLLABORATION SUR TSC1

### A2.1 DESCRIPTION DU PROJET

Au cours de ma maîtrise, j'ai eu l'occasion de participer à un projet de collaboration dans le laboratoire du Dr. Jean-Claude Lacaille. J'ai pu travailler avec Dre. Ilse Riebe, stagiaire post-doctorante chez Dr Lacaille, sur un autre modèle de déficience intellectuelle, la sclérose tubéreuse. Cette dernière est caractérisée par la présence de tumeurs bénignes dans différents organes y compris le cerveau, qui montre la présence de masses tubéreuses intracorticales qui sont à l'origine du nom de la maladie. Les patients peuvent également présenter des crises épileptiques et de l'autisme (Kirschstein, 2012).

La sclérose tubéreuse a été associée à deux gènes, TSC1 (*tuberous sclerosis complex 1*) présent sur le chromosome 9 (van Slegtenhorst et al., 1997) et TSC2 présent sur le chromosome 16 (European Chromosome 16 Tuberous Sclerosis, 1993). Ces deux gènes codent pour deux protéines régulant négativement la voie de mTORC1 (Costa-Mattioli and Monteggia, 2013). Le dysfonctionnement de cette voie a également été associé à d'autres désordres neurodéveloppementaux comme le FXS. La voie de mTORC1 est impliquée dans de nombreuses fonctions comme la croissance cellulaire et le contrôle de la traduction de protéines. Particulièrement, cette synthèse protéique est nécessaire pour la plasticité synaptique qui inclue la phase tardive (I-LTP) de certaines formes de LTP (voir section 1.6.1.4) (Buffington et al., 2014). La I-LTP serait le processus cellulaire de la consolidation de la mémoire, permettant le passage de la mémoire à court terme, qui dure quelques heures, à la mémoire à long terme qui peut perdurer des jours, voire toute une vie (Gkogkas et al., 2010). La perte de l'un ou l'autre de ces deux gènes résultent en une hyperactivation de la voie de mTORC1. Chez les modèles de souris mutante pour *Tsc1* ou *Tsc2*, l'hyperactivation de mTORC1 cause des altérations de structures et de plasticité synaptiques ainsi que des anomalies de comportement. (Kirschstein, 2012).

Cependant, *Tsc1* et *Tsc2* sont exprimés dans les cellules principales, mais également dans les interneurons. Comment cette hyperactivation mTORC1 affecte les différents sous-types cellulaires et son implication dans le fonctionnement des réseaux neuronaux est

encore peu connue. Comme nous l'avons vu, les interneurons sont impliqués dans l'intégration temporelle de l'information neuronale et la génération d'oscillations des réseaux neuronaux impliquées dans les fonctions cognitives (Di Cristo et al., 2011). Dans ce projet de collaboration, nous nous sommes plus particulièrement intéressés sur le rôle de *Tsc1* dans les interneurons sur le fonctionnement des réseaux neuronaux de l'hippocampe.

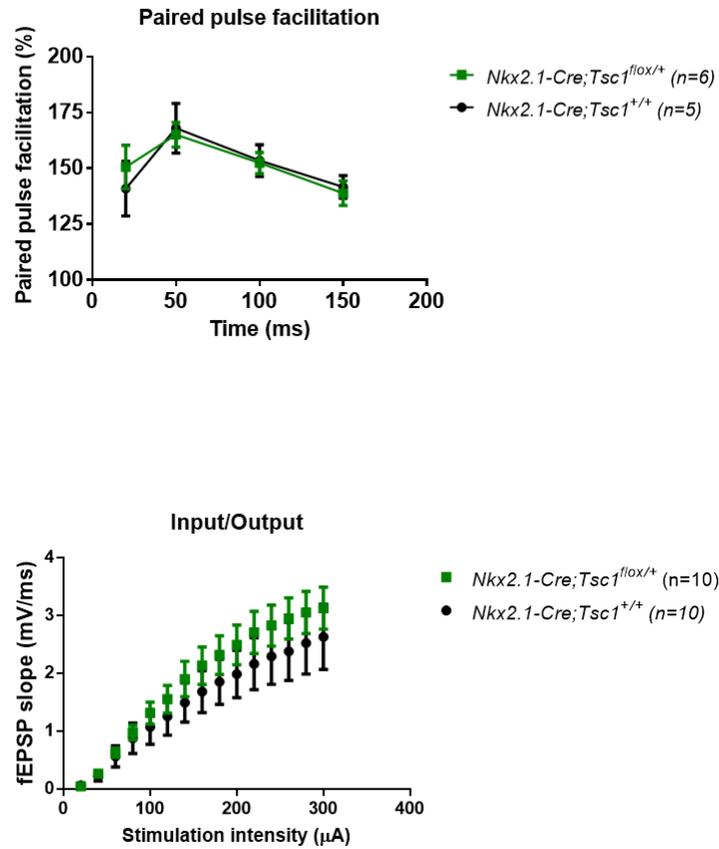
À cette fin, un modèle de souris transgéniques *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>lox/+</sup>* a été généré afin d'abolir l'expression de *Tsc1* uniquement dans les interneurons dérivés du MGE. Sur ce projet, j'ai étudié si l'expression de la l-LTP était affectée chez ces souris. J'ai donc réalisé des enregistrements de fEPSPs sur tranches aiguës d'hippocampe dans la région du CA1.

Les résultats montrent dans un premier temps que les propriétés de base de la transmission synaptique sont inchangées chez les souris *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>lox/+</sup>* lorsque comparées à leurs contrôles, soit les souris *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>+/+</sup>* (**Figure A2.1**). Les deux groupes démontrent une facilitation par impulsion appariée similaire (ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,36)} = 0,017$ ,  $p = 0,89$ ), suggérant qu'il n'y a pas de changement de la probabilité de libération de glutamate. Les réponses d'entrée et de sortie synaptiques étaient également semblables, bien que celles des souris *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>lox/+</sup>* tendent à être augmentées, suggérant qu'il n'y ait pas de modification de la réponse postsynaptique basale (ANOVA à deux facteurs,  $F_{(1,18)} = 0,69$ ,  $p = 0,41$ ). De manière intéressante, les résultats montrent que les souris *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>lox/+</sup>* avaient un déficit de l-LTP par rapport à leurs contrôles trois heures après l'induction par un protocole classique composé de 4 HFS séparés de 5 minutes (4x100Hz) (**Figure A2.2**). En effet, la l-LTP chez les souris *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>lox/+</sup>* n'était que de  $141,8 \pm 14,0\%$  alors qu'elle était de  $217,0 \pm 15,4\%$  chez les souris contrôles (test t non apparié,  $**p < 0,01$ ).

Ces résultats montrent donc que l'haploinsuffisance de *Tsc1* uniquement dans les interneurons cause des déficits de plasticité synaptique et pourrait contribuer aux déficits cognitifs observés dans la maladie. De manière intéressante, mTOR est régulé par ERK et PI3K qui sont tous les deux en aval de *Syngap1* (Krab et al., 2008). La dérégulation en amont ou en aval de ces plusieurs voies intracellulaires convergentes uniquement dans les interneurons semble être en mesure de causer des déficits de plasticité synaptique.

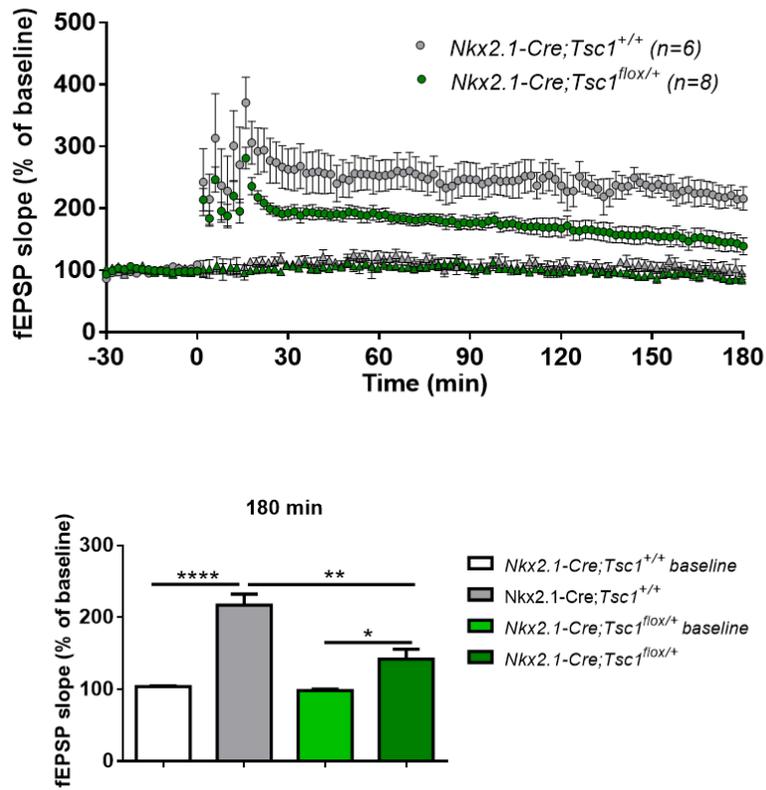
mTORC1 semble devenir une voie centrale de plusieurs troubles neurocognitifs non seulement dans les cellules principales, mais également dans les interneurons GABAergiques.

## A2.2 FIGURES



**Figure A2.1 Les propriétés de base de la transmission synaptique des souris *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>fllox/+</sup>* ne sont pas modifiées.**

(Haut) La facilitation par impulsion des souris *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>fllox/+</sup>* est comparable à celles des souris contrôles *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>+/+</sup>* (ANOVA à deux facteurs,  $F(1, 36) = 0,017$ ,  $p = 0,89$ ). (Bas) L'entrée et la sortie synaptiques étaient comparables entre les deux groupes (ANOVA à deux facteurs,  $F(1, 18) = 0,69$ ,  $p = 0,41$ ).



**Figure A2.2 la l-LTP est diminuée chez les souris *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>lox/+</sup>*.**

Les souris contrôles *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>+/+</sup>* (test t apparié, \*\*\* $p < 0,001$ ) et les souris *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>lox/+</sup>* (test t apparié, \* $p < 0,05$ ) exprimaient toutes les deux une l-LTP trois heures après induction par un protocole composé de 4x100Hz. Cependant, la l-LTP des souris *Nkx2.1-Cre;Tsc1<sup>lox/+</sup>* était considérablement plus faible que celles des contrôles (test non apparié,  $p < 0,01$ ).