HAL
open science

Nouveaux mécanismes d'action du récepteur mGlu7a dans le thalamus : de la synapse au comportement

Valériane Tassin

To cite this version:

Valériane Tassin. Nouveaux mécanismes d'action du récepteur mGlu7a dans le thalamus : de la synapse au comportement. Médecine humaine et pathologie. Université Montpellier I, 2014. Français. NNT : 2014MON13509 . tel-01132132

HAL Id: tel-01132132

https://theses.hal.science/tel-01132132

Submitted on 16 Mar 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de Docteur

Délivré par l'**Université Montpellier I**

Préparée au sein de l'école doctorale **CBS2***
Et de l'unité de recherche **UMR 5203, U661**

Spécialité: **Neurobiologie**

Présentée par **Valériane Tassin**

Nouveaux mécanismes d'action du récepteur mGlu7a dans le thalamus : de la synapse au comportement.

Soutenue le 31/10/2014 devant le jury composé de :

M. Hervé Daniel	Univ. Paris Sud 11	Rapporteur
M. Paolo Gubellini	IBDML	Rapporteur
Mme. Elodie Fino	Collège de France	Examinatrice
M. Michel Vignes	Univ. Montpellier 2	Président du jury
M. Laurent Fagni	IGF	Directeur de thèse
Mme. Federica Bertaso	IGF	Co-directrice de thèse

* **CBS2 :** École doctorale des Sciences Chimiques et Biologiques pour la Santé ED 168

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer mon travail : le Pr Hervé Daniel, le Dr Paolo Gubellini, et la Dr Elodie Fino. Je remercie très chaleureusement le Pr Michel Vignes, qui restera dans ma mémoire comme l'un des quelques professeurs qui m'ont fait découvrir et passionné pour la recherche en neurobiologie, lors de mes études à l'UM2. Merci de présider mon jury de thèse.

Un grand merci à toute l'équipe Fagni ainsi qu'à ceux qui l'ont quittée : Enora Moutin, Adeline Burguière, Cécile Hilaire, Fabrice Raynaud, Selma Dadak, Laura Ceolin, Nathalie Bouquier, Elise Goyet, Miquel Martin, Benoit Girard, Julie Perroy et Vincent Homburger. Merci pour les discussions, les conseils, les encouragements, et les délires qu'on a pu partager. J'exprime ma gratitude au Dr Laurent Fagni pour ses conseils avisés, toujours riches d'enseignement, tout au long de ce projet. Mon plus grand merci revient à Federica Bertaso, la directrice de thèse rêvée de tous les étudiants. Fede, c'était génial de travailler avec toi, tant sur le plan humain que scientifique. Merci pour ton soutien, tes conseils, ton écoute, ton humour, ton enthousiasme, ta compréhension, ta confiance et l'autonomie que tu m'as accordée ces 4 dernières années. Ce travail auprès de toi a été un réel bonheur ; tu resteras à jamais quelqu'un d'exceptionnel dans ma mémoire. J'espère qu'on gardera contact car je suis curieuse de voir grandir les deux petites têtes blondes qui font depuis peu parti de ta vie !

Un grand merci à tous ceux qui ont partagé avec moi de près ou de loin cette thèse : je pense en premier au "clan des patcheurs", les vilains petits canards des paillasses conventionnelles avec nos nombreuses rigolades, la musique à fond, les cris d'espoir et de desespoir jaïssant de la salle d'électrophysiologie... Merci à vous Simon, Alexander, Enora, Selma et Coralie. Merci à Peppe, Hélène, Pedro, Romain, Carole, Aurore, Apolline, Benoit, Maud, Pauline, Xavier, Amaury et Anne pour toutes les discussions qu'on a pu avoir. Merci à Christelle (à nous deux, on "did well" !), Violeta, Fanny, Julie, Emma, Nicolas, Elodie, et tout ceux que je ne cite pas mais qui se reconnaîtront avec qui on a partagé d'excellents moments. Merci à Fred pour ses nombreux coups de main. Merci à Valérie Compan de m'avoir donné l'opportunité d'enseigner à Unimes lors de cette thèse. Merci aux équipes Physio, Endocrino et Pharmaco de l'IGF pour avoir accepté de partager leur matériel avec moi tout au long du projet. Merci également à Aurore, Carmen, Jacqueline, Céline et aux deux Eric pour leur efficacité, leur humour et leur patience. Biensûr, merci aux souris, qui m'ont donné leurs têtes encore et encore. Merci à tous les animaliers et en particulier à Françis et Elodie, mes deux sauveurs officiels adorés : merci pour les discussions, les délires et les craquages qu'on a partagé. Merci aussi à nos gardiens et plus particulièrement à Henri pour sa bonne humeur communicative.

Je tiens également à remercier tous mes amis hors-labo pour leur soutien et les nombreux moments inoubliables passés ensemble toutes ces années : Jean, Maude, Marjorie, Ignacio, Priscilia, Jérôme dit "dédé", Stef, Tom, Vincent, Pauline, Mathieu, Maïwen, Packus, Jerem, Cyril, Pierre, tous les zikos et notamment Ev'ma, Leslie, Matthieu, Scoolpa... Merci à vous tous pour ces moments de plaisir et de détente.

Je ne remercierai jamais assez ma famille pour le soutien qu'elle a pu m'apporter ces dernières années. Merci pour votre patience, votre compréhension et votre réconfort. Je vous promet d'être plus disponible à l'avenir. Maman, papa, frérot : je vous aime !

Enfin, un immense merci à mon poupounou pour m'avoir soutenu et m'avoir supporté pendant cette thèse. Nous avons traversé ensemble ces longues années d'étude à la fac et ces années de doctorat, et bien d'autres aventures nous attendent encore.

Carnet de bord

Pour moi, cette thèse a constitué une réelle aventure, dont je vais partager les grandes lignes avec vous. Comme dans une réelle aventure, rien ne c'est déroulé comme prévu, et à chaque étape se présentait un nouvel obstacle à surmonter. Si mon proverbe initial était : "qui ne tente rien n'a rien", à l'heure actuelle je dirais plutôt : "qui tente quelque chose avec moi a la poisse", Fede pourra le confirmer. Tous les éléments étaient en effet réunis pour perdre du temps, encore et encore, même sur les choses les plus basiques scientifiquement.

Lorsque j'ai débuté cette thèse, les souris KI mGlu7^{AAA} n'étaient pas encore disponibles, à cause des nombreux... oublis ? incompréhensions ? erreurs ? survenus à l'animalerie. Bien que les génotypages aient débutés quelques mois après le début de la thèse, il a fallu attendre plus d'un an et demi pour obtenir les premières souris mutantes : gros "Big Up" à Elodie Gavois qui a enfin lancé des séries d'accouplements permettant l'amplification de la lignée !

Quelques mois après que le début de ma thèse a commencé une course effrénée contre le laboratoire du Dr Huguenard, qui a soudainement décidé d'étudier à son tour le récepteur mGlu7. Impossible de faire le poids contre cette armée américaine : ils ont réussi à publier leur article en début d'année. Cependant, heureusement pour nous nos données sont obtenues chez des modèles différents et nos résultats diffèrent en plusieurs points.

Les immunomarquages réalisés en début de thèse se sont avérés être un désastre de par le manque de spécificité des anticorps anti-mGlu7 commerciaux. Quatre ans après, après avoir testé une multitude d'anticorps et de conditions expérimentales différentes, ces expériences sont toujours en cours .. !

Les injections de virus AAV (pour l'optogénétique) ont été difficiles à mettre au point de par le materiel non-adapté. Au départ, ces expériences étaient réalisées dans le L2 de l'INM : il fallait donc transporter le matériel et les souris entre l'INM et l'IGF. Ensuite (longtemps après bien entendu), nous avons obtenu l'autorisation d'expérimenter sur place à l'IGF donc cela a nettement facilité les choses. J'ai longtemps tenté d'effectuer les injections chez des petits de 9 jours afin de faciliter le reste de l'expérience, mais leur taille était assez variable d'un individu à l'autre et il était donc impossible d'établir des coordonnées stéréotaxiques fiables pour injecter le virus dans le VPM. Après plusieurs mois infructueux, j'ai réalisé ces expériences chez des animaux de 14 j, présentant une morphologique plus homogène. Si vous regardez le matériel et méthode associé à ces expériences, vous verrez que les coordonnées stéréotaxiques utilisées pour l'injection sont exprimées en fonction de la jonction des nerfs oculaires, or ces coordonnées sont classiquement exprimées par rapport au bregma, une fissure cérébrale sensée être nettement identifiable... mais totalement invisible chez nos jeunes souris. Etant donné les règles strictes d'entrées et de sorties des animaux aux sein des deux animalerie de l'institut (les souris transgéniques d'un côté dans la zone EOPS, et l'animalerie conventionnelle de l'autre), les petits utilisés pour les injections ne pouvaient pas être replacés avec leurs mères. Sous l'oeil bienveillant de Françis Rubio, je plaçais donc ces petits de couleur agouti et/ou noire avec des mères adoptives blanches (des Swiss), formant ainsi les plus belles portées multicolores de l'animalerie conventionnelle.

Les experiences de TR-FRET sur les cellules HEK étaient sensées être effectuées rapidement. Cependant, peu après le début de ces expériences, la salle de culture s'est avérée douteuse car les cellules en culture ont présenté des contaminations pendant des mois et des mois et des mois... et d'ailleurs cette salle de culture a depuis été fermée. J'ai donc finalement du finir ces expériences dans une autre salle de culture de l'institut.

J'ai rapidement cessé de compter les jours de patch infructueux à cause des sautes d'humeur de l'étireuse, ou des interférences en dents de scies qui apparaissaient et disparaissaient sans raison apparente (vive le Hum Bug !!!), ou encore à cause des travaux du siècle sur le site de l'IGF qui n'ont jamais cessés depuis 2012 (qui ont d'ailleurs chassé tous les petits lapins qui peuplaient les environs du bâtiment et nous faisaient bien rire pendant le découpage des tranches au vibratome, face à la fenêtre)...

Une autre partie sensible a été la mise au point du système d'enregistrement par multi-électrodes. Bien que ce matériel était présent dans l'institut depuis plus de 20 ans, personne ne l'avait encore utilisé ! La mise au point est toujours en cours à l'heure actuelle.

Il était difficile d'obtenir des conseils avisés sur l'étude du thalamus et de ses fonctionnement physio-pathologique, car personne dans l'institut ne travaille sur cette circuiterie thalamo-corticale. Nous avons vécu, Federica et moi-même, quelques moments de solitude avec nos data. De plus, les études portant sur ce réseau chez la souris sont récentes et peu étayées par rapport aux travaux effectués chez le rat ou chez le chat par exemple. Etant donné que le fonctionnement du réseau diffère légèrement entre ces espèces, il était souvent difficile de s'appuyer sur des références bibliographiques spécifiques pour interpréter mes données.

Nous attendions depuis le début de ma thèse l'arrivée d'un composé, l'ADX71743, afin de réaliser plusieurs expériences. Cependant le composé ne nous a été envoyé que très récemment, ce qui a fortement limité le nombre de tests que je pouvais effectuer.

Un autre aspect de ma thèse était le monitorat. Je pense que vous n'aurez jamais entendu un tel emploi du temps : 10h de cours non-stop (sauf 1h de pause à midi), de 8h à 20h, à Nimes (à 30min de train de Montpellier donc la journée débutait à 5h30 du mat' et finissait à 21h) au lieu d'enseigner à l'UM1 ou l'UM2 comme tout les autres étudiants de ma promo, avec parfois biensûr quelques petits retards SNCF histoire d'imposer un petit footing matinal supplémentaire. Heureusement les étudiants étaient vraiment adorables et mon "binôme", Simon, m'accompagnait dans cette aventure. Bien que éreintants j'ai énormément apprécié ces enseignements.

Pour finir, l'écriture du manuscrit. Une multitude de références bibliographiques lorsqu'on touche à des grands domaines de recherche tels que la transmission et la plasticité synaptiques, ou encore la circuiterie thalamo-corticale. On pourrait comparer ça à un essaim d'abeille : de loin, ces domaines semblent former un tout, compact et unifié, linéaire et cohérent. En s'approchant, on commence à distinguer une multitude d'éléments qui interagissent plus ou moins explicitement les uns avec les autres, mais qui s'inscrivent quand même pour la plupart dans ce même tout. Si l'on s'approche encore, l'essaim se disperse, et la nature individuelle de chaque élément prend tout son sens. Ici, les abeilles sont des articles, chacun apportant un concept concernant des acteurs moléculaires ou cellulaires, s'imbriquant plus ou moins bien avec d'autres articles, ou faussant parfois les pistes. Le nombre de références bibliographiques citées dans ce manuscrit a été largement diminué dans cette version finale.

Enfin, comme dans une aventure, l'histoire a connu une fin heureuse, avec un article que nous venons de soumettre. Cependant, même la soumission ne s'est pas passée comme prévu : le site web est en effet resté en maintenance précisement le jour où nous voulions soumettre l'article en ligne. Malgré ces contre-temps, cette thèse a constitué une belle et heureuse expérience.

Nouveaux mécanismes d'action du récepteur mGlu7a dans le thalamus : de la synapse au comportement

Résumé

Le fonctionnement cérébral est régi par deux grandes forces : un système excitateur, principalement supporté par la transmission glutamatergique, qui s'oppose à un système inhibiteur, principalement supporté par la transmission GABAergique. L'influence mutuelle et équilibrée de ces deux forces est déterminante pour établir et maintenir une activité neuronale physiologique au sein des réseaux neuronaux. Le récepteur métabotropique du glutamate de type 7, mGlu7, est capable de moduler à la fois la transmission glutamatergique et GABAergique, mais sa localisation et son rôle synaptique précis restent largement méconnus à l'heure actuelle.

Il semble important pour contrôler le fonctionnement d'une circuiterie particulière supportant notamment la perception sensorielle lors de l'éveil ou la perte de conscience lors de l'endormissement, mais aussi les crises épileptiques d'absence lors d'un dysfonctionnement : le circuit thalamo-cortical. Cette thèse porte sur l'étude des fonctions physiologiques médiées par le récepteur mGlu7a au sein du réseau thalamo-cortical chez la souris. Pour cela, j'ai décortiqué la localisation et les processus électrophysiologiques engendrés par le récepteur dans les synapses thalamiques constituant la circuiterie thalamo-corticale. Le récepteur mGlu7a s'est avéré essentiel dans le contrôle des rythmes oscillatoires au sein du thalamus, associés à la fois au sommeil (les fuseaux de sommeil) et aux épilepsies de type absence.

Ce récepteur était présumé ne fonctionner que lors d'activités neuronales intenses. Cette étude complète ce tableau. Elle met en évidence une activité constitutive du récepteur mGlu7a au sein des synapses excitatrices et inhibitrices. Il exerce donc un frein permanent sur l'entrée de Ca^{2+} dans les présynapses, un acteur crucial pour le développement du système nerveux, la transmission synaptique, l'excitabilité et la plasticité neuronales. Je montre que cette activité module la libération de glutamate et de GABA, mais aussi la plasticité à court terme dans certaines synapses du circuit. De plus, le récepteur mGlu7a limite le tonus inhibiteur au sein du thalamus et ainsi l'excitabilité globale thalamique.

De façon surprenante pour un récepteur du glutamate, l'ensemble de ces résultats suggère une action physiologique du récepteur mGlu7a particulièrement impliquée dans le contrôle de l'état d'excitabilité des neurones GABAergiques thalamiques et corticaux. En limitant l'apparition d'activités synchrones au sein de la circuiterie, son action abouti *in fine* au maintien d'un état conscient de l'individu, nécessaire aux traitements des informations sensorielles, mais aussi à l'apprentissage et la mémoire.

Mots clés : récepteur métabotropique du glutamate mGlu7 – boucle thalamo-corticale – fuseaux de sommeil – épilepsie absence – transmission synaptique – plasticité synaptique

New action mechanisms of the mGlu7a receptor in the thalamus : from synapse to behaviour

Summary

Brain functionning is gouverned by two master forces : excitation, mainly supported by glutamatergic transmission, and inhibition, mainly supported by GABAergic transmission. The mutual and balanced influence of these two forces is instrumental to establish and maintain a physiological neuronal activity, particulary in neuronal networks involving several interconnected brain area and neuron types. The metabotropic glutamate receptor type 7, mGlu7, modulates both glutamatergic and GABAergic transmission, but its precise localization and synaptic role are still widly unknown.

Recently, a genetic mouse model has highlighted mGlu7a receptor's involvement into the functionning of a particular network supporting somatosensory perception during arousal and loss of consciousness during sleep, as well as absence epileptic seizures : the thalamo-cortical network. This thesis aims at understanding physiological functions mediated by the mGlu7a receptor in the thalamo-cortical circuit. I have dissected localization and electrophysiological processes triggered by the receptor in thalamic synapses. The mGlu7a receptor was proved as essential to control oscillatory rythmes in the thalamus, associated with both sleep-related waves (spindles) and absence epileptic seizures.

This receptor was supposed to function only during high neuronal activities. In addition, our study highlights a constitutive activity of mGlu7a receptor in excitatory and inhibitory synapses. It thus exerts a permanent brake on Ca^{2+} presynaptic entry, which is crucial for neuronal developpement, synaptic transmission, excitability and plasticity. I found that this mechanism modulates glutamate and GABA release, but also short term plasticity in the studied network. Moreover, mGlu7a receptor slows down the inhibitory tonus in the thalamus and thalamic excitability.

Surprisingly for a glutamate receptor, these data suggest that the physiological action of mGlu7a receptor is highly involved in the control of the excitability of inhibitory thalamic and cortical neurons. By decreasing synchronous activities of the network, its action leads *in fine* to the maintenance of a conscious, awake state of a subject, that is necessary for sensorial informations processing, learning and memory.

Key words : metabotropic glutamate receptor mGlu7 – thalamo-cortical loop – sleep spindles – absence epilepsy – synaptic transmission – synaptic plasticity

Table des matières

Liste des figures 11

Liste des tableaux 13

Abréviations 15

Avant-Propos 17

I Introduction 19

I.1 Neurones et communication nerveuse : généralités . . . 21
I.1.1 Synapses et transmission nerveuse . . . 21
I.1.2 Neurotransmetteurs, transporteurs et récepteurs . . . 23
I.1.3 Récepteurs ionotropiques . . . 24
I.1.4 Récepteurs métabotropiques . . . 26
I.1.5 Activation des récepteurs métabotropiques . . . 28
I.1.6 Activité constitutive des récepteurs métabotropiques . . . 29
I.1.7 Adaptation de la transmission : Plasticité synaptique . . . 32
I.2 Neurotransmission glutamatergique . . . 34
I.2.1 Glutamate . . . 34
I.2.2 Récepteurs glutamatergiques ionotropiques : AMPA, NMDA et kaïnate 35
I.2.2.1 Structure des iGluRs . . . 36
I.2.2.2 Récepteur kaïnate . . . 36
I.2.2.3 Récepteur AMPA . . . 37
I.2.2.4 Récepteur NMDA . . . 38
I.2.2.5 Neuropathologies associées aux iGluRs . . . 39
I.2.3 Récepteur métabotropiques du glutamate : structure et fonction . . . 40
I.2.3.1 Récepteurs mGlu du groupe I . . . 43
I.2.3.2 Récepteurs mGlu des groupes II et III . . . 43
I.2.3.3 Neuropathologies associées aux mGluRs . . . 44
I.3 Le récepteur métabotropique au glutamate 7 (mGlu7) . . . 45
I.3.1 Le gène *GRM7* et ses variants d'épissages . . . 45
I.3.2 Localisation du récepteur mGlu7 dans le SNC mammalien . . . 45
I.3.3 Signalisations et fonctions : voie PICK1 et inhibition des canaux Ca_v . . . 47
I.3.4 Outils pharmacologiques et génétiques . . . 50
I.3.5 Récepteur mGlu7 et neuropathologies . . . 52
I.4 Neurotransmission GABAergique . . . 53
I.4.1 GABA . . . 53
I.4.2 Récepteurs ionotropiques GABAergiques : inhibition phasique et tonique 54
I.4.3 Récepteurs métabotropiques GABAergiques . . . 55
I.4.4 Transmission GABAergique et neuropathologies . . . 55
I.5 Le réseau Thalamo-Cortical . . . 55
I.5.1 Généralités . . . 55
I.5.2 Connectivité du circuit thalamo-cortical . . . 58
I.5.3 Thalamus et noyaux thalamiques . . . 60

I.5.3.1 Le noyau Ventro-Postéro-Médian (VPM) 63
I.5.3.2 Le Noyau Réticulaire Thalamique (NRT) 64
I.5.4 Le cortex somatosensoriel S1, ou cortex à tonneaux 66
I.5.4.1 Six couches corticales 67
I.5.4.2 Trois grandes classes de neurones interconnectés dans la couche IV 68
I.5.4.3 Neurones excitateurs 69
I.5.4.4 Interneurones inhibiteurs : Fast-Spiking et Regular-Spiking . . 69
I.5.5 Adaptation de la boucle Thalamo-Corticale 70
I.6 Rythmes physio-pathologiques du réseau Thalamo-Cortical 71
I.6.1 Oscillations du circuit Thalamo-Cortical pendant l'éveil 71
I.6.2 Oscillations du circuit Thalamo-Cortical pendant le sommeil 72
I.6.3 Oscillations pathologiques : épilepsie de type Absence 73
I.6.3.1 Généralités 73
I.6.3.2 Mécanismes cellulaires des crises d'absence 74
I.6.3.3 Modèles murins d'épilepsie absence et souris KI mGlu7^{AAA} . . 76
I.7 Objectifs de la thèse 78

II Résultats **81**
II.1 Localisation du récepteur mGlu7 dans la boucle thalamo-corticale 82
II.1.1 Objectifs de l'étude 82
II.1.2 Matériel et méthodes 82
II.1.2.1 Génotypage des souris mGlu7^{AAA} 82
II.1.2.2 Anticorps et co-marquages 83
II.1.2.3 Immunofluorescence sur cellules HEK293 87
II.1.2.4 Perfusion des souris, préparation des tranches thalamo-corticales et immunohistochimie 87
II.1.2.5 Identification visuelle des structures thalamo-corticales 87
II.1.3 Résultats 88
II.1.3.1 Sélection des anticorps anti-mGlu7a présentant une bonne spécificité 88
II.1.3.2 Optimisation des conditions de marquage du récepteur mGlu7 89
II.1.3.3 Expression du récepteur mGlu7 dans les synapses glutamatergiques et GABAergiques de la boucle thalamo-corticale 89
II.1.4 Discussion 92
II.2 Modulation des oscillations thalamo-corticales 95
II.2.1 Objectifs de l'étude 95
II.2.2 Matériel et méthodes 95
II.2.2.1 Préparation des tranches thalamo-corticales aiguës 95
II.2.2.2 Induction et enregistrement des oscillations thalamiques avec une Multi-Electrode 95
II.2.3 Résultats : le récepteur mGlu7 freine les activités oscillatoires au sein du thalamus 96
II.2.4 Discussion 97
II.3 Contrôle de la boucle thalamo-corticale par le récepteur mGlu7a 99
II.3.1 Objectifs de l'étude 99
II.3.2 Article (en préparation) 100
II.3.3 Discussion de l'article 125

III Discussion et Perspectives **129**
III.1 Souris Knock-in mGlu7^{AAA} et étude de la voie mGlu7a-PICK1 130
III.2 mGlu7, un récepteur qui pèse lourd sur la balance excitation/inhibition 130
III.3 Activité constitutive du récepteur mGlu7a 131
III.4 Fonctions du récepteur mGlu7a dans le circuit thalamo-cortical 133
III.4.1 Le récepteur mGlu7a, chef d'orchestre des rythmes thalamiques 133
III.4.2 Contrôles agoniste-dépendant et -indépendant des neurones thalamiques : modulation de l'activité spontanée, de la transmission et de la plasticité synaptiques 133
III.4.3 Impact du récepteur mGlu7a sur le fonctionnement de la boucle thalamo-corticale 135
III.5 Vers une réévaluation du rôle du récepteur mGlu7 dans le SNC 137
III.6 Le récepteur mGlu7, une future cible thérapeutique ? 138

Bibliographie **141**

Table des figures

I.1 **Illustrations schématiques d'un neurone et des caractéristiques ultrastructurelles de ses contacts synaptiques.** 22
I.2 **Mécanismes d'activation des RCPG et des protéines G.** 29
I.3 **Principales voies de signalisation médiées par le couplage des récepteurs aux différentes protéines G.** 30
I.4 **Représentation schématique des outils pharmacologiques permettant de détecter une activité constitutive** 31
I.5 **Mécanismes présynaptiques induisant une plasticité à court terme.** . 33
I.6 **Représentation du récepteur mGlu7 dimérique et de ses principaux partenaires protéiques.** 42
I.7 **Variants d'épissage du récepteur mGlu7 et mutation du domaine PDZ-ligand chez la souris mGlu7^{AAA}.** 46
I.8 **Modulation de l'activité synaptique par le récepteur mGlu7a.** 49
I.9 **Représentation schématique du thalamus et du cortex somatosensoriel dans un cerveau humain.** 56
I.10 **Illustration schématique des voies somatosensorielles chez la souris.** . 59
I.11 **Illustration schématique de la boucle thalamo-corticale.** 60
I.12 **Représentation schématique du thalamus et ses noyaux.** 62
I.13 **Potentiels d'action thalamiques distincts lors du mode tonique et du mode burst.** 65
I.14 **Représentation schématique des activités électrophysiologiques thalamiques en conditions physio-pathologiques.** 73

II.1 **Angle de coupe et structures thalamo-corticales.** 88
II.2 **Vérification de la spécificité des anticorps anti-mGlu7 en cellules HEK.** 90
II.3 **Sélection des conditions de marquage optimales sur tranches.** 91
II.4 **Sélection des conditions d'amplification optimales.** 92
II.5 **Expression du récepteur mGlu7 dans les synapses du NRT et des fibres cortico-thalamiques.** 93
II.6 **Le récepteur mGlu7 diminue la durée des oscillations thalamiques.** . 96
II.7 **Proportion des courants AMPA et NMDA impliqués dans les réponses postsynaptiques thalamiques.** 127

Liste des tableaux

I.1 **Classification des neurotransmetteurs.** 24
I.2 **Classification et structure générale des récepteurs ionotropiques.** . . . 25
I.3 **Classification des RCPG en trois sous-familles principales.** 27
I.4 **Classification des différentes sous-unités des protéines G et principales voies de signalisation associées.** 30
I.5 **Classification des mGluRs et leurs principales voies de signalisation.** 41
I.6 **Expression des mGluRs du groupe III dans la boucle thalamo-corticale.** 47
I.7 **Classification des canaux Ca^{2+} voltage-dépendants et expression dans les neurones thalamiques.** 48
I.8 **Principaux noyaux thalamiques et fonctions physiologiques associées.** 61
I.9 **Polymorphismes associés à l'épilepsie absence chez l'homme.** 75
I.10 **Altérations génétiques et phénotypiques des modèles animaux d'épilepsie absence.** 77

II.1 **Anticorps anti-mGlu7a : conditions expérimentales.** 84
II.2 **Marqueurs synaptiques et neuronaux de la boucle thalamo-corticale.** 85
II.3 **Co-marquages utilisés pour localiser le récepteur mGlu7 dans la boucle thalamo-corticale.** 86

Liste des abréviations

ADNc : ADN codant
AMPA : α-amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate
AMPc : Adénosine monophosphate cyclique
Ca_v : Canal calcique voltage-dépendant
CT : Cortico-thalamique
DAG : Diacylglycérol
DPO : Dépolarisation Pointe-Onde
GABA : Acide gamma-aminobutyrique
iGluR : Récepteur ionotropique du glutamate
IN FS : Interneurone Fast-Spiking
IN RS : Interneurone Regular-Spiking
IP3 : Inositol-3-phosphate
mGluR : Récepteur métabotropique du glutamate
mGlu7 : Récepteur métabotropique du glutamate de type 7
NMDA : N-méthyl-D-aspartate
NRT : Noyau réticulaire thalamique
PA : Potentiel d'action
PICK1 : Protéine interagissant avec la PKC 1
PKC : Protéine kinase C
PPSE : Potentiel postsynaptique excitateur
PPSI : Potentiel postsynaptique inhibiteur
RCPG : Récepteurs Couplés aux Protéines G
SNC : Système nerveux central
TC : Thalamo-cortical
VPM : Noyau ventro-postéro-médian thalamique

Avant-propos

On connait depuis longtemps l'acide glutamique, ou glutamate, en tant qu'acide aminé constituant les protéines de l'organisme. Il est omniprésent dans notre alimentation : couramment utilisé dans les préparations industrielles aussi bien que dans les restaurants pour relever le goût, on le trouve par exemple dans le sel, le poivre, l'huile, les biscuits, les vins, les conserves de légumes et de poissons, les hamburgers, les chips, les boissons gazeuses, et en grande quantité dans les plats asiatiques. Le glutamate donne un goût particulier, le gout umami, aux préparations. Une autre fonction du glutamate, spécifique au système nerveux, est cependant longtemps restée méconnue. Ce n'est qu'en 1954 que Hayashi et ses collègues trouvèrent que le glutamate pouvait induire des convulsions lorsqu'il était injecté de façon intra-artérielle ou directement dans le cerveau [210]. Peu après en 1959, l'équipe de Curtis a montré que le glutamate dépolarisait et excitait les neurones du système nerveux central [122]. Takeuchi démontrait en 1963 que le glutamate activait des récepteurs répondant au neurotransmetteur naturel (dont la nature restait inconnue) à la jonction neuro-musculaire chez l'écrevisse, comme attendu pour un neurotransmetteur excitateur. Cependant, plusieurs aspects de l'action du glutamate semblaient contraire à ce rôle. Par exemple, on le trouve en forte concentration dans le cerveau et la plupart des neurones y sont sensibles, ce qui semblait à l'encontre de l'action localisée classiquement attribuée aux neurotransmetteurs.

Il a fallu attendre les années quatre vingt pour que de nouvelles évidences valident la fonction de neurotransmetteur du glutamate, notamment avec la découverte de ses différents récepteurs. L'idée que le glutamate pouvait posséder plusieurs récepteurs distincts fut proposée par McLennan et ses collègues en 1968. Ces chercheurs montraient une action différentielle du glutamate ou de ses analogues selon les aires cérébrales [319]. Des différences régionales similaires furent trouvées par Duggan au début des années 1970 au niveau de la moelle épinière [147]. Une avancée majeure a été effectuée avec la mise en évidence des récepteurs canaux (ionotropiques) du glutamate dans les années 1980 : les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA), kaïnate puis a-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionate (AMPA), en fonction de leur activation par certaines molécules agonistes (NMDA, kaïnate et AMPA respectivement, [342]). Ensuite un nouveau type de récepteur fut découvert en 1985 par une équipe de l'institut : un récepteur couplé aux protéines G (métabotropique ; RCPG), répondant au glutamate par une augmentation de l'hydrolyse du phosphatidylinositol et de la mobilisation calcique intracellulaire [445]. Ce récepteur est maintenant appelé récepteur métabotropique du glutamate 1 ou mGlu1. Peu après, un second type de récepteur métabotropique du glutamate couplé négativement à l'adénylate cyclase fut mis en évidence [419]. Au cours des années 1990, de nombreux progrès ont été effectués notamment en biologie moléculaire, permettant peu à peu d'identifier les gènes et la structure des récepteurs du glutamate. L'existence de huit sous-types de récepteurs métabotropiques fut ainsi dévoilée (mGlu1 à mGlu8). On sait maintenant que le glutamate est utilisé dans 50 à 60 % des terminaisons axonales et que près de 90 % des neurones y sont sensibles, faisant de cette molécule le principal neurotransmetteur excitateur du système nerveux central mammalien.

Parmi les récepteurs métabotropiques du glutamate, le récepteur mGlu7 est celui qui présente la plus forte conservation génétique. La fonction de ce récepteur est longtemps restée dans l'ombre, essentiellement à cause du manque d'outils pharmacologiques. En 2008, Federica Bertaso et ses collègues ont mis en évidence que l'inactivation partielle du récepteur induit des crises épileptiques d'absence chez le rongeur [41]. Ces crises impliquent un dysfonctionnement du dialogue entre deux structures cérébrales distinctes : le thalamus et le cortex, suggérant un

rôle clé du récepteur mGlu7a dans les synapses formant le réseau thalamo-cortical. Les rôles attribués actuellement au récepteur mGlu7 semblent largement sous-estimés. Il nous a donc paru nécessaire de mettre en lumière ses fonctions au niveau synaptique.

Lors de cette thèse, j'ai pris avantage de récents outils génétiques et pharmacologiques pour étudier les fonctions physiologiques supportées par le récepteur mGlu7a. Plus précisément, mes objectifs étaient de cartographier l'expression du récepteur et d'étudier ses fonctions synaptiques *in vitro* et *in vivo*. La partie I introductive présente les principaux mécanismes et acteurs moléculaires de la neurotransmission et de la plasticité synaptique. Une description détaillée du récepteur mGlu7 et du circuit thalamo-cortical est également consignée. La partie II développe les résultats expérimentaux obtenus : la localisation du récepteur mGlu7 dans les présynapses thalamiques, son rôle dans l'établissement des rythmes thalamo-corticaux et des comportements associés, et ses effets spécifiques sur la transmission et la plasticité synaptiques. L'ensemble de ces résultats propose un nouveau concept quant au rôle du récepteur mGlu7 dans la modulation de l'excitabilité neuronale, discuté dans la partie III, où le récepteur pourrait exercer un contrôle permanent sur la balance excitation/inhibition grâce à son activité constitutive.

Chapitre I

Introduction

Contents

I.1 Neurones et communication nerveuse : généralités 21

I.1.1 Synapses et transmission nerveuse 21

I.1.2 Neurotransmetteurs, transporteurs et récepteurs 23

I.1.3 Récepteurs ionotropiques 24

I.1.4 Récepteurs métabotropiques 26

I.1.5 Activation des récepteurs métabotropiques 28

I.1.6 Activité constitutive des récepteurs métabotropiques 29

I.1.7 Adaptation de la transmission : Plasticité synaptique 32

I.2 Neurotransmission glutamatergique 34

I.2.1 Glutamate 34

I.2.2 Récepteurs glutamatergiques ionotropiques : AMPA, NMDA et kaïnate . 35

I.2.2.1 Structure des iGluRs 36

I.2.2.2 Récepteur kaïnate 36

I.2.2.3 Récepteur AMPA 37

I.2.2.4 Récepteur NMDA 38

I.2.2.5 Neuropathologies associées aux iGluRs 39

I.2.3 Récepteur métabotropiques du glutamate : structure et fonction 40

I.2.3.1 Récepteurs mGlu du groupe I 43

I.2.3.2 Récepteurs mGlu des groupes II et III 43

I.2.3.3 Neuropathologies associées aux mGluRs 44

I.3 Le récepteur métabotropique au glutamate 7 (mGlu7) 45

I.3.1 Le gène *GRM7* et ses variants d'épissages 45

I.3.2 Localisation du récepteur mGlu7 dans le SNC mammalien 45

I.3.3 Signalisations et fonctions : voie PICK1 et inhibition des canaux Ca_v . . . 47

I.3.4 Outils pharmacologiques et génétiques 50

I.3.5 Récepteur mGlu7 et neuropathologies 52

I.4 Neurotransmission GABAergique 53

I.4.1 GABA 53

I.4.2 Récepteurs ionotropiques GABAergiques : inhibition phasique et tonique 54

I.4.3 Récepteurs métabotropiques GABAergiques 55

I.4.4 Transmission GABAergique et neuropathologies 55

I.5 Le réseau Thalamo-Cortical 55
I.5.1 Généralités 55
I.5.2 Connectivité du circuit thalamo-cortical 58
I.5.3 Thalamus et noyaux thalamiques 60
I.5.3.1 Le noyau Ventro-Postéro-Médian (VPM) 63
I.5.3.2 Le Noyau Réticulaire Thalamique (NRT) 64
I.5.4 Le cortex somatosensoriel S1, ou cortex à tonneaux 66
I.5.4.1 Six couches corticales 67
I.5.4.2 Trois grandes classes de neurones interconnectés dans la couche IV 68
I.5.4.3 Neurones excitateurs 69
I.5.4.4 Interneurones inhibiteurs : Fast-Spiking et Regular-Spiking . . . 69
I.5.5 Adaptation de la boucle Thalamo-Corticale 70
I.6 Rythmes physio-pathologiques du réseau Thalamo-Cortical 71
I.6.1 Oscillations du circuit Thalamo-Cortical pendant l'éveil 71
I.6.2 Oscillations du circuit Thalamo-Cortical pendant le sommeil 72
I.6.3 Oscillations pathologiques : épilepsie de type Absence 73
I.6.3.1 Généralités 73
I.6.3.2 Mécanismes cellulaires des crises d'absence 74
I.6.3.3 Modèles murins d'épilepsie absence et souris KI mGlu7^{AAA} . . . 76
I.7 Objectifs de la thèse 78

I.1 Neurones et communication nerveuse : généralités

I.1.1 Synapses et transmission nerveuse

Le cerveau est un organe extrêmement complexe où des milliards de neurones s'organisent en réseaux et communiquent entre eux de façon précise grâce à des contacts spécifiques : les synapses. Le nombre total de neurones du cerveau humain est estimé à environ 100 milliards (75 millions chez la souris) et chaque neurone a en moyenne 10000 synapses. [452].

Un neurone est composé de trois parties : le corps cellulaire (soma) contenant le noyau, l'axone qui sert à transmettre l'influx nerveux (un axone peut mesurer de 1 μm à plus d'1 m) et qui se termine souvent en arborescence et enfin les dendrites, beaucoup plus ramifiées (Fig.I.1a). Les dendrites servent à recueillir l'influx nerveux et à le transférer jusqu'au soma.

Il existe deux types de synapses : les synapses électriques et les synapses chimiques [236]. Les synapses électriques sont formées par des jonctions communicantes grâce auxquelles l'activité électrique d'un neurone est directement transmise à un second neurone (Fig.I.1b). Ces structures, fréquentes chez les invertébrés, sont cependant rarement retrouvées chez les vertébrés, chez qui la neurotransmission s'effectue en majorité via des synapses chimiques (Fig.I.1c). La synapse chimique implique trois parties distinctes : la terminaison axonale appelée présynapse, qui contient des vésicules dans lesquelles sont stockés les neurotransmetteurs, la fente synaptique, un petit espace entre la présynapse et la postsynapse, et la postsynapse qui contient les récepteurs sur lesquels viennent se fixer les neurotransmetteurs. Ces contacts peuvent se former sur les dendrites, les axones ainsi que sur les somas [452].

Différentes études de microscopie électronique ont montré l'existence de deux types de synapses chimiques. Les synapses de type I possèdent des vésicules sphériques au niveau présynaptique ainsi qu'un épaississement apparent de la membrane postsynaptique, la densité postsynaptique (PSD), formant une synapse asymétrique. Les synapses de type II quant à elles possèdent une fine PSD et une fine fente synaptique, présentant une configuration symétrique. D'autres études ont démontré que les synapses de type I sont excitatrices, alors que celles de type II sont inhibitrices [196].

En condition basale, les neurones présentent des charges ioniques inégales de part et d'autre de leur membrane plasmique. Les membranes sont donc soumises à une différence de potentiel, de l'ordre de -60 mV : elles sont polarisées. Les activités nerveuses correspondent à des modifications de ce potentiel membranaire. L'influx nerveux, appelé potentiel d'action (PA), est généré selon la loi dite du "tout ou rien". Il résulte d'une dépolarisation membranaire qui doit obligatoirement atteindre une valeur seuil d'environ -40 mV pour générer un PA. Lorsque ce seuil est atteint, des canaux ioniques sodiques et potassiques sensibles au voltage s'ouvrent massivement. Le flux d'ions à travers ces canaux induit une inversion rapide et puissante du potentiel de membrane, qui atteint environ +40 mV, avant de revenir au potentiel de repos : c'est le potentiel d'action. Ainsi, une dépolarisation membranaire tendra à atteindre le seuil d'excitation, alors qu'une hyperpolarisation diminuera la probabilité d'atteindre cette valeur seuil [151].

La transmission synaptique permet aux influx nerveux de médier l'information d'un neurone à une cellule cible (neurone, muscle ou cellules glandulaires). Le PA est généré au niveau du soma et se propage le long de l'axone jusqu'à sa terminaison, la présynapse. Cela induit l'ouverture rapide et massive de canaux calciques voltage-dépendants (Ca_v), sources principales de l'entrée de calcium présynaptique [150, 360, 79]. L'entrée de calcium dans la présynapse induit une cascade d'évènements qui déclenchent la fusion des vésicules avec la membrane plasmique et la libération de neurotransmetteur dans la fente synaptique [452]. Le neurotransmetteur diffuse alors et se fixe sur ses récepteurs postsynaptiques spécifiques (Fig.I.1c). Cela engendre

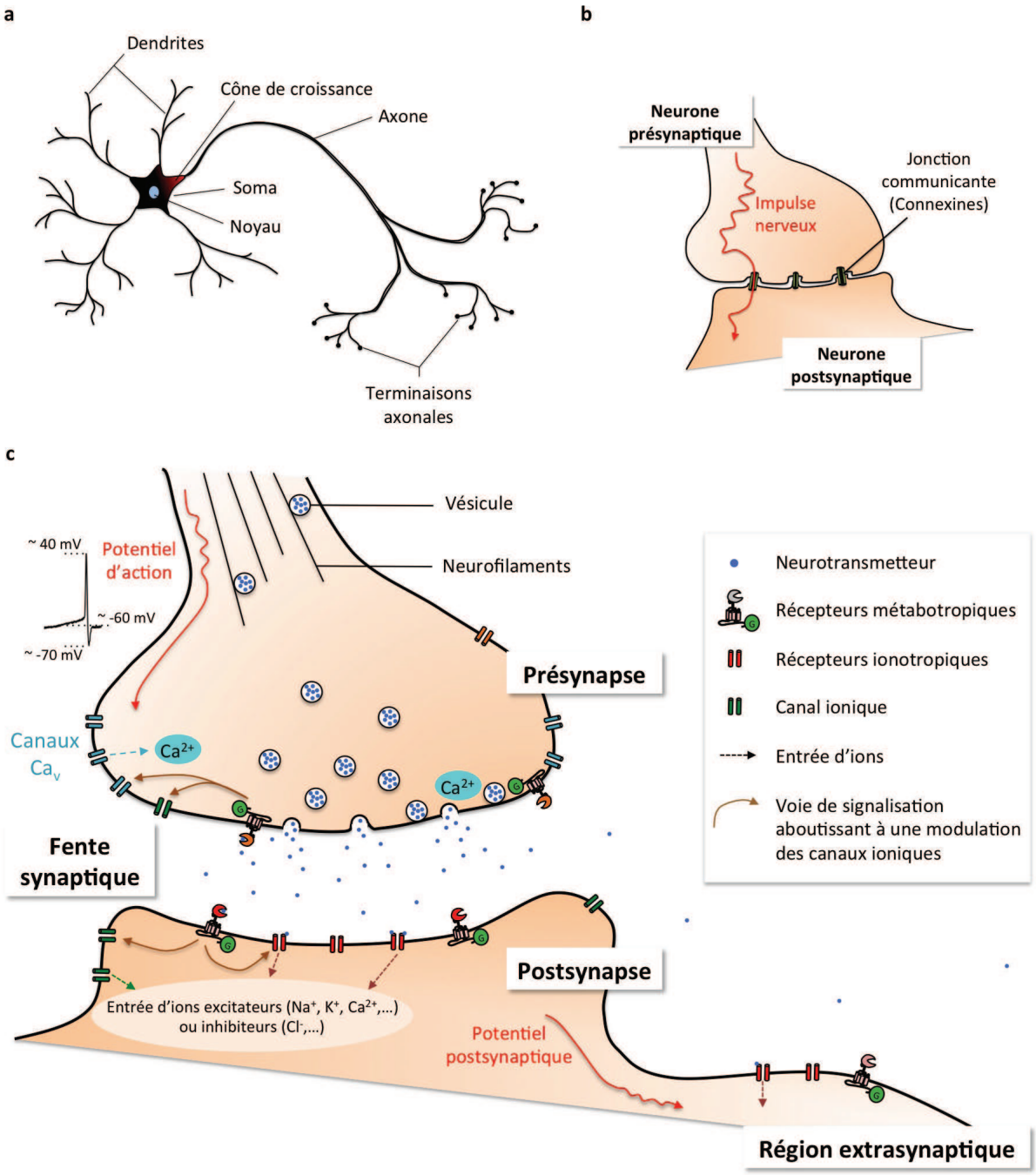


FIGURE I.1 – **Illustrations schématiques d'un neurone et des caractéristiques ultrastructurelles de ses contacts synaptiques.**

(a) Schéma d'un neurone avec ses dendrites et son axone. (b) Une synapse électrique formée par l'assemblage de connexine en canaux ioniques, permettant aux influx nerveuses de se propager instantanément d'un neurone à l'autre. (c) Une synapse chimique dont les principaux éléments pré- et postsynaptiques sont indiqués. Ces synapses convertissent les influx électriques en signaux chimiques. L'arrivée d'un potentiel d'action induit l'ouverture de canaux calciques voltage-dépendant et l'entrée de Ca^{2+} dans la présynapse. Les ions Ca^{2+} provoquent la fusion des vésicules à la membrane et la libération de neurotransmetteur dans la fente synaptique. Les molécules se lient sur leurs récepteurs ionotropiques et métabotropiques. Leur activation engendre directement ou indirectement une entrée d'ions, induisant une différence de potentiel membranaire : les potentiels postsynaptiques excitateurs ou inhibiteurs. S'il n'est pas immédiatement recapté par les cellules, le neurotransmetteur peut diffuser et activer des récepteurs extrasynaptiques.

un flux d'ions entrant ou sortant qui modifie le potentiel membranaire. Si la cellule cible est un neurone, ce potentiel postsynaptique (PPS) va à son tour se propager de façon passive jusqu'au soma où il induira un nouveau potentiel d'action, ou au contraire empêchera le déclenchement d'un PA respectivement [151].

Grâce à l'évolution des techniques, les biologistes ont pu, vers les années 50, mesurer les courants électriques qui résultent de l'activité de groupes de canaux ioniques [216]. Depuis les années 70, grâce à la technique du patch-clamp, on sait même détecter les courants générés par des canaux ioniques individuels. Le principe du patch-clamp est simple : en posant une fine pipette (microélectrode) en verre de forme adéquate sur une membrane cellulaire, on isole un petit morceau (*patch* en anglais) de membrane, avec les canaux ioniques qu'il contient, puis on étudie individuellement les propriétés chimiques et électriques des canaux. Le principal avantage de cette technique par rapport à l'enregistrement intracellulaire classique est donc de pouvoir passer du stade cellulaire au stade moléculaire. Dans la technique du patch-clamp, une fenêtre peut également être créée entre la microélectrode et l'intérieur de la cellule afin d'enregistrer l'ensemble des courants ioniques de la cellule. L'avantage du patch-clamp par rapport à l'enregistrement intracellulaire classique est d'avoir un très faible taux de fuite de courant au niveau du contact entre l'électrode et la membrane de la cellule enregistrée et ainsi d'augmenter le rapport signal/bruit. Cette technique a permis à ses inventeurs [344] d'obtenir le prix Nobel de médecine en 1991 et des avancées significatives dans la compréhension des mécanismes des propriétés d'excitabilité cellulaire, notamment au niveau du système nerveux. Un grand nombre de résultats présentés dans cette thèse ont été obtenus grâce au patch-clamp.

I.1.2 Neurotransmetteurs, transporteurs et récepteurs

Les neurotransmetteurs sont des messagers chimiques qui portent l'information d'un neurone à un autre. La complexité de ces molécules est très variable, allant de deux carbones pour la glycine à de gros peptides [236]. Plusieurs classes de neurotransmetteurs ont été identifiées. Les principales sont les acides aminés, les monoamines (synthétisées à partir d'un acide aminé) et les endorphines (peptides opiacés), mais diverses autres substances servent également de neurotransmetteurs, comme les hormones peptidiques et les gaz (monoxyde de carbone et monoxyde d'azote) par exemple (Table I.1). Le glutamate et le GABA, qui nous intéressent dans le cadre de cette thèse, sont tout deux des acides aminés. Le bon fonctionnement du SNC dépend de son état homéostasique, régulé et maintenu par deux forces opposées : l'excitation et l'inhibition. Deux principaux neurotransmetteurs jouent un rôle clé dans cette balance excitation/inhibition. Ce sont le Glutamate et le GABA, qui à eux seuls couvrent plus de 90 % de la neurotransmission au sein du SNC [508]. Les neurotransmetteurs sont synthétisés puis stockés dans des vésicules qui sont acheminées le long de l'axone jusqu'aux présynapses. Ces molécules sont libérées massivement dans la fente synaptique lorsqu'un PA arrive au niveau présynaptique. Après s'être fixés spécifiquement sur leurs récepteurs, les neurotransmetteurs sont rapidement éliminés de la fente synaptique soit en étant dégradés par des enzymes, soit en étant recapturés par des transporteurs spécifiques et recyclés au niveau des présynapses et des cellules gliales. Ce processus prépare la synapse à transmettre une nouvelle information de façon fiable et efficace [96]. Cependant, quelques molécules peuvent parfois diffuser hors de la fente synaptique et activer des récepteurs extrasynaptiques [62].

Les neurotransmetteurs activent deux types distincts de récepteurs : les récepteurs ionotropiques qui forment des canaux ioniques à travers la membrane, laissant directement entrer ou sortir des cations ou des anions lorsque le neurotransmetteur est fixé. Ces récepteurs permettent une transmission rapide de l'information, de l'ordre de la milliseconde. Au contraire,

Table I.1 – **Classification des neurotransmetteurs.**

Neurotransmetteurs à petites molécules	Neuropeptides (3-36 acides aminés)	Gaz
• **Acides aminés** - Glutamate - GABA - Glycine • **Monoamines** - Catécholamines : dopamine, noradrénaline, adrénaline - Indolamines : sérotonine - Imidazolamines : histamine • **Purines** - ATP - Adénosine	• **Peptides opiacés** - Enképhaline - Endomorphine - Dynorphine • **Hormones peptidiques** - Ocytocine - Substance P - Vasopressine - Prolactine - Cholécytokinine - Neuropeptide Y - Angiotensine ...	CO et NO

D'après [236].

les récepteurs métabotropiques activent des protéines G et ainsi des voies de signalisation intracellulaires qui régulent l'ouverture ou la fermeture de canaux ioniques, modulant ainsi la transmission synaptique. Leur action peut durer de quelques millisecondes à plusieurs heures [236].

Les récepteurs présentent un profil d'expression et de localisation subcellulaire spécifique pour chaque neurotransmetteur. Certains sont exprimés au niveau de la postsynapse, où ils participent à la génèse des potentiels postsynaptiques. D'autres sont exprimés au niveau présynaptique : les auto-récépteurs dans les présynapses libérant leur neurotransmetteur et les hétéro-récepteurs dans les présynapses libérant un autre type de neurotransmetteur. Comme mentionné auparavant certains récepteurs sont également exprimés au niveau extrasynaptique. La transmission extrasynaptique est plus diffuse car elle dépend de la concentration ambiante du neurotransmetteur [476]. Elle participe de façon permanente au contrôle de l'excitabilité neuronale, contrairement à la transmission synaptique qui est phasique, rapide et localisée.

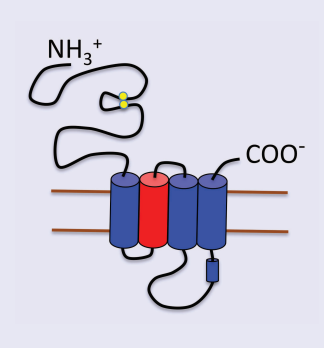
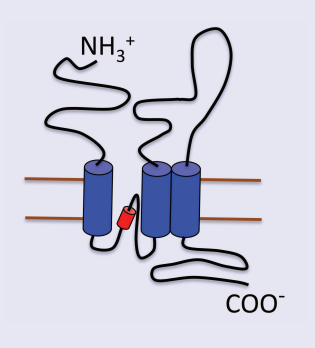
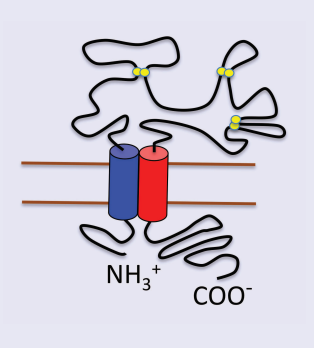
L'activation spécifique des récepteurs ionotropiques et métabotropiques par un neurotransmetteur donné peut parfois aboutir à des effets antagonistes, à la fois excitateurs et inhibiteurs, comme c'est le cas pour le glutamate par exemple. Ce double effet permet de réguler directement la libération et l'effet du neurotransmetteur, participant ainsi au maintient de l'état homéostatique du cerveau [302].

I.1.3 Récepteurs ionotropiques

Les récepteurs ionotropiques sont des canaux ioniques insérés dans la membrane. Lorsque le neurotransmetteur se lie sur le récepteur, cela induit l'ouverture du canal et le passage d'ions du milieu extracellulaire au milieu intracellulaire ou inversement. Certains sont sélectifs aux cations (Ca^{2+}, Na^{2+}, K^{+}), d'autres aux anions (Cl^{-}) [236]. Le flux d'ion traversant la membrane via ces récepteurs engendre un courant de l'ordre du picoAmpère mesurable grâce

à des méthodes électrophysiologiques, qui modifie le potentiel membranaire (Em). Lorsque le neurone est au repos, son potentiel de membrane est d'environ -60 mV. La liaison des neurotransmetteurs aux récepteurs ionotropiques peut induire une dépolarisation (excitatrice) de la postsynapse, ou au contraire une hyperpolarisation (inhibitrice), qui se propage ensuite de façon passive le long du dendrite jusqu'au soma [510].

TABLE I.2 – **Classification et structure générale des récepteurs ionotropiques.**

Superfamille des récepteurs à Cys-loop	**Famille des récepteurs du glutamate**	**Famille des récepteurs P2X**
		
Pentamères	Tétramères	Trimères
Ach nicotiniques $5HT_3$ $GABA_A$ Glycine ZAC	NMDA AMPA Kaïnate	P2X

Les segments transmembranaires TM2, en rouge, forment le pore du canal lors de l'association fonctionnelle en multimères. Les ponts disulfures sont représentés en jaunes. D'après [247].

La durée de ces processus (dépolarisation et hyperpolarisation) est déterminée par la durée d'ouverture du pore ionique des récepteurs ionotropiques (quelques millisecondes). Les potentiels postsynaptiques excitateurs (PPSE) sont portés généralement par les récepteurs du glutamate localisés dans la densité postsynaptique, alors que les potentiels postsynaptiques inhibiteurs (PPSI) impliquent des récepteurs du GABA ou de la Glycine [236]. D'autres récepteurs ionotropiques se situent au niveau de la présynapse, où ils modulent la libération de neurotransmetteur : c'est le cas de récepteurs activés par la sérotonine (5-HT_3), l'acétylcholine (récepteurs nicotiniques) ou encore l'ATP (récepteurs P2X). Enfin, certains récepteurs sont exprimés de façon extrasynaptique où ils influencent l'excitabilité du neurone [510].

Au point de vue structurel, les récepteurs ionotropiques sont des hétéro-multimères, c'est-à-dire qu'ils sont formés de l'assemblage de plusieurs protéines ou sous-unités qui peuvent être de natures différentes. Les sites de liaison des neurotransmetteurs sont situés dans la partie extracellulaire des sous-unités. Le changement de conformation du récepteur induit par la liaison du ligand dispose les différentes sous-unités en cercle, permettant la formation d'un pore aqueux au travers duquel les ions peuvent diffuser. En fonction de leurs caractéristiques moléculaires, les récepteurs ionotropiques sont séparés en trois superfamilles : les récepteurs

dits à cys-loop (récepteurs Acéthylcholine, GABA, Glycine et sérotonine), les récepteurs du glutamate et les récepteurs de l'ATP (P2X) (voir Table I.2).

I.1.4 Récepteurs métabotropiques

Les récepteurs métabotropiques sont des protéines à 7 domaines transmembranaires (7TM). L'activation d'un récepteur métabotropique par la liaison d'un ligand induit un changement de conformation des sept hélices transmembranaires, qui aboutit à l'activation d'une protéine G intracellulaire d'où leur nom de Récepteurs Couplés aux Protéines G (RCPG). Les RCPG constituent la plus grande superfamille de gènes, représentant plus de 3 % du génome chez l'homme [387]. Parmi ces récepteurs, on distingue environ 500 récepteurs chimiosensoriels qui détectent différentes substances : odorants, phéromones, lumière et près de 300 autres sensibles aux molécules produites par l'organisme : neurotransmetteurs, peptides, lipides et nucléotides [410]. Les RCPG interagissent donc avec une très grande diversité de ligands et interviennent dans toutes les grandes fonctions de l'organisme : le système sensoriel (vision, odorat, goût, toucher), la régulation hormonale, la transmission nerveuse, la prolifération cellulaire, le développement... On estime que 80 % des hormones et des neurotransmetteurs connus activent un RCPG [45]. Les RCPG permettent à la cellule de réagir à la présence d'un ligand donné dans l'environnement extracellulaire : ce rôle de transducteur les place comme des cibles thérapeutiques par excellence. La moitié des médicaments commercialisés dans le monde, dont 30 % des 50 médicaments les plus vendus, ont pour cible un système RCPG ou sa machinerie de régulation.

L'identification des gènes codant pour des protéines à sept domaines transmembranaires ont permis de classer les RCPG mammaliens en plusieurs grandes familles qui se différencient selon leur structure, le type et le lieu de fixation de leur ligand [387] (voir Table I.3). La famille A, de loin la plus nombreuse, inclut de nombreux récepteurs et peut être subdivisée en plusieurs types :

- les opsines sont des récepteurs du système visuel dont le représentant le plus étudié est la rhodopsine. Ces récepteurs possèdent la particularité de contenir un ligand cryptique, le rétinal. Sous l'action de photons, cette partie de la protéine change de conformation, ce qui provoque l'activation du récepteur ;

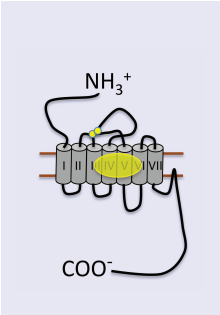
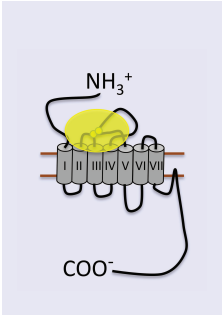
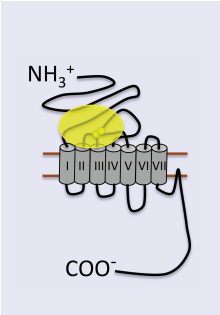
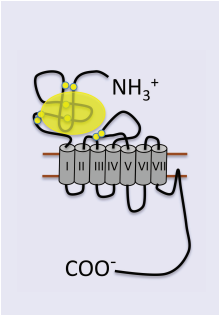
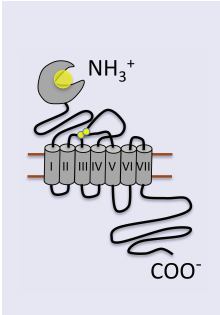
- les récepteurs des molécules odorantes constituent la classe la plus nombreuse. Elle compte plusieurs milliers de gènes chez les rongeurs contre environ 500 chez l'homme ;

- les récepteurs de petites molécules endogènes ont pour ligands : les amines biogéniques, les acides aminés, les prostanoïdes, les nucléosides et nucléotides, les phospholipides, les acides gras. Le ligand se lie de manière non covalente au sein d'un domaine structural formé par l'arrangement extracellulaire des sept hélices transmembranaires du récepteur ;

- les récepteurs peptidiques interagissent avec des hormones, des neurotransmetteurs ou des substances paracrines. Dans ce cas, les boucles extracellulaires participent également au processus de liaison de ces ligands plus massifs ;

- les récepteurs à motif LRR (*Leucine Rich Repeat*), appelés *LRR-containing GPCR* (LGR), possèdent une longue queue aminoterminale (350-500 aa). Ce sont des récepteurs de glycoprotéines : l'hormone lutéinisante (LH), la gonadotropine chorionique (CG), l'hormone stimulant les follicules (FSH) et l'hormone stimulant la thyroïde (TSH) ;

TABLE I.3 – **Classification des RCPG en trois sous-familles principales.**

Famille A			Famille B	Famille C
				
Récepteurs Rhodopsine/β_2 adrénergiques			**Récepteurs glucagon/VIP/calcitonine**	**Récepteurs aux neurotransmetteurs/ Ca^{2+}**
Rétiniens Odorants Catécholamines Adénosine ATP Opiacées Enképhaline Anandamine	Peptides Cytokines IL8 Formyl Met-Leu-Phe PAF-acéther Thrombine	Glycoprotéines Hormones (LH, TSH, FSH, CG)	Calcitonine α-latrotoxine Sécrétine PTH VIP PACAP GnRH CRF	mGluRs Ca^{2+} $GABA_B$ Phéromones (VR, GOVN)

Les RCPG ont une structure centrale commune constituée de sept hélices transmembranaires (TM I à TM VII) connectées par trois boucles intracellulaires et trois boucles extracellulaires. Les extrémités N- et C-terminales diffèrent selon les récepteurs. La liaison de l'agoniste sur son site de liaison orthostérique est représenté en jaune. Les principaux récepteurs de chaque famille sont indiqués dans la partie inférieure du tableau. D'après [387].

- les récepteurs activés par une protéase (*Protease Activating Receptors*, PAR) sont activés par un mécanisme protéolytique. Une protéase (thrombine, sérine protéase) clive la queue amino-terminale, la nouvelle extrémité exposée constituant le ligand qui active le récepteur.

Les récepteurs de la famille B ont pour ligands des peptides de la famille des hormones et peptides gastro-intestinaux. Ils possèdent un long domaine amino-terminal (environ 120 acides aminés) contenant un motif HBD (*Hormone Binding Domain*). Citons par exemple les récepteurs de l'hormone parathyroïde (PTH), le glucagon et le PACAP (*Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide*). Les récepteurs Frizzled et Smoothened, qui ont pour ligand les Wnts, peuvent également être classés dans cette famille.

La famille C regroupe des récepteurs comportant une large boucle extracellulaire (domaine *Venus Fly Trap*, VFT) : récepteurs du glutamate (récepteurs métabotropiques mGluRs), récepteur $GABA_B$ et récepteur sensible aux ions calcium CaR. Ces récepteurs s'associent souvent

en dimères fonctionnels homomériques ou hétéromériques [390]. Le récepteur mGlu7, qui fait l'objet de cette thèse, appartient à cette famille.

La famille D regroupe certains récepteurs des phéromones détectées par l'organe vomé-ronasal. Ils sont très nombreux chez les rongeurs, mais sont surtout des pseudo-gènes chez l'homme.

I.1.5 Activation des récepteurs métabotropiques

La structure tertiaire d'un RCPG est la suivante (Table I.3) : un domaine amino-terminal extracellulaire, un domaine transmembranaire comportant sept hélices (7TM) et un domaine carboxy-terminal intracellulaire [410]. Ces récepteurs peuvent également comporter des ponts disulfures sur les boucles extracellulaires, notamment entre la première et la seconde boucle. Ils sont en outre la cible de modifications post-traductionnelles : glycosylation sur les parties amino- et carboxy-terminales, ou palmitoylation permettant un ancrage du domaine carboxy-terminal dans la membrane plasmique. Comme mentionné précédemment, les RCPG possèdent un répertoire de ligands très étendu [387] : amines biogéniques, neurotransmetteurs, lipides, peptides, protéines, molécules odorantes... L'interaction du ligand avec la partie extracellulaire ou les hélices transmembranaires induit l'activation du récepteur, c'est-à-dire le changement de son organisation tridimensionnelle [323]. La rhodopsine est le premier RCPG dont la structure a été explicitée par cristallographie [367]. Sous l'effet de la lumière, sa 4ième hélice transmembranaire pivote d'environ 30° et se sépare de l'hélice 3, tandis que les hélices 6 et 7 s'écartent l'une de l'autre. Ceci ouvre un domaine du côté cytoplasmique, ce qui permet l'activation de la protéine G trimérique α, β et γ [410].

On distingue les agents pharmacologiques se liant au niveau du domaine de liaison du ligand extracellulaire, les agonistes et antagonistes orthostériques (aussi appelés neutres ou compétitifs, car ils entrent en compétition avec l'agoniste endogène pour se fixer sur son site de liaison) et ceux se liant directement au niveau des 7TM, les modulateurs allostériques positifs ou négatifs [312], activant ou inhibant respectivement le récepteur indépendamment de l'agoniste.

La protéine G est une GTPase (protéine hydrolysant le guanosyl-triphosphate, GTP, en guanosyl diphosphate, GDP) qui interagit avec le récepteur. Une fois le récepteur activé par un agoniste, la protéine G s'active à son tour, libérant le GDP qui est remplacé par du GTP au niveau de la sous-unité α (voir Fig.I.2). La sous-unité α active (liée au GTP) se détache des sous-unités $\beta\gamma$ et chacune peut initier des cascades de signalisation. Celles-ci sont différentes selon le sous-type de sous-unité (Gα : Gαi/o, Gαq/11, Gαs ou Gα12, voir Table I.4). Ces sous-unités modulent directement ou indirectement l'activité d'enzymes telles les adénylates cyclases (AC), les phospholipases (PLC), les tyrosines kinases, les phosphodiestérases (PDE), les phosphoinositide kinases, les RCPG kinases, les canaux ioniques, le circuit des *Mitogen-Activated Protein Kinases* (MAPK)... Ceci induit des variations de concentration en seconds messagers tels que l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc), le calcium intracellulaire ou encore l'inositol triphosphate (IP3) (voir Fig.I.3). L'activité des protéines G se poursuit jusqu'à ce que l'activité GTPase de la sous-unité α provoque l'hydrolyse du GTP en GDP, ramenant la protéine G à l'état de trimère $\alpha\beta\gamma$ inactif [410].

Ce système RCPG $\rightarrow$ protéine G $\rightarrow$ second messager assure une certaine diversité de signalisation de par l'affinité sélective de chaque RCPG à différentes protéines G et permet une amplification efficace du signal. Au-delà de ce fonctionnement canonique de couplage aux protéines G, les RCPG peuvent interagir avec d'autres protéines comme les arrestines, les RCPG

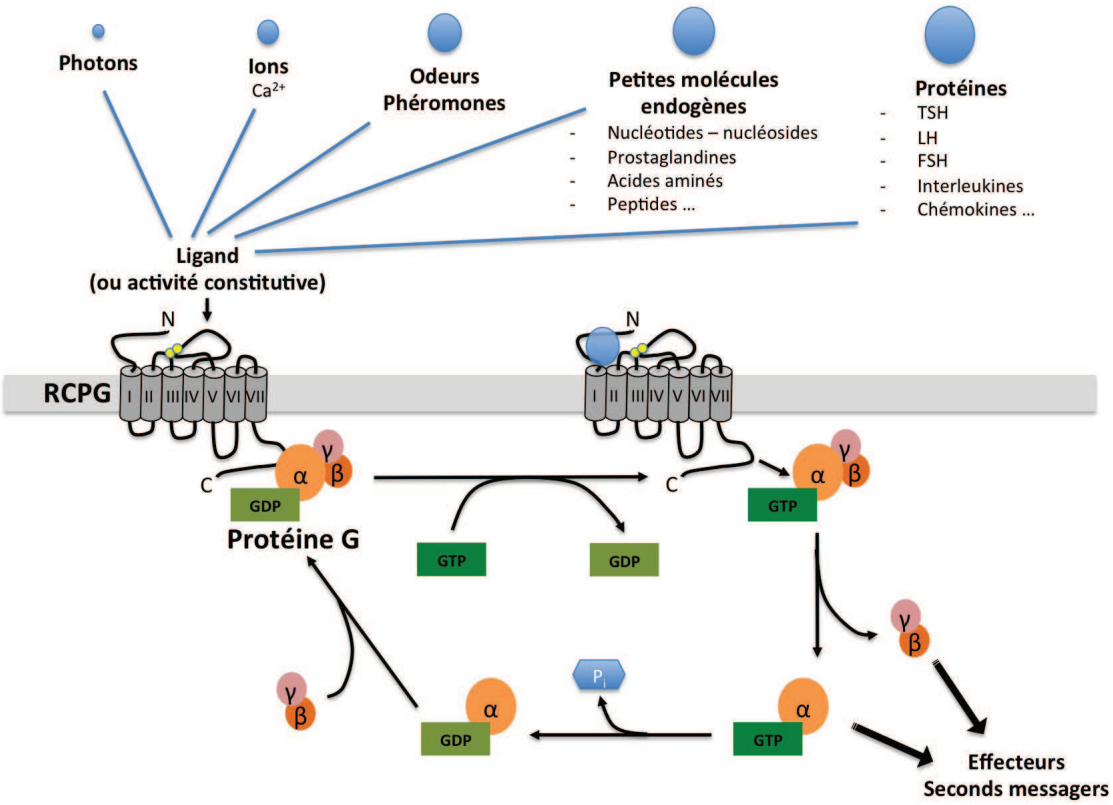


FIGURE I.2 – **Mécanismes d'activation des RCPG et des protéines G.**
D'après [51] et [446].

kinases (GRK) et certaines protéines d'échafaudage contenant des motifs PDZ ou SH2/SH3 par exemple. Ces protéines régulent les RCPG, notamment leur trafic, leur regroupement dans des zones actives (pré- ou post-synaptiques) et leurs interactions avec le cytosquelette. Elles peuvent également moduler leur signalisation intracellulaire, par exemple la stimulation de la voies des MAPK kinases par les β-arrestines [50].

Nous avons exposé comment un récepteur était susceptible d'activer des voies de signalisations intracellulaires en réponse à la liaison d'un agoniste. Cette activation peut induire un phénomène appelé désensibilisation, c'est-à-dire une diminution de la réponse cellulaire pendant la stimulation prolongée du récepteur. Cette baisse de la réponse du récepteur fait intervenir deux phénomènes étroitement intriqués : le découplage entre le récepteur et la protéine G et l'endocytose des récepteurs activés [166].

I.1.6 Activité constitutive des récepteurs métabotropiques

Nous allons maintenant voir que les RCPG peuvent également présenter une activité indépendante de l'agoniste, dite *activité constitutive*. Le modèle à deux états fonctionnels des RCPG, actif et inactif, reste un concept largement utilisé en pharmacologie [414]. Un agoniste stabilise ou augmente la fraction de RCPG à l'état activé, qui peut ainsi interagir et activer une protéine G, alors qu'un antagoniste neutre empêche l'action de l'agoniste sans pour autant avoir d'effet en absence d'agoniste. Cependant au cours de ces vingt dernières années, ce modèle à deux états des RCPG a été étoffé par des mécanismes bien plus complexes. Une notion particulièrement importante est celle d'activité constitutive. Les RCPG ont en général

TABLE I.4 – **Classification des différentes sous-unités des protéines G et principales voies de signalisation associées.**

Type de sous-unité	Principales voies de signalisation
α_i/o (inhibiteur)	↓ Adénylate Cyclase (AC) : ↓ AMPc, ↓ Ca^{2+} Rétine : ↓ Phosphodiestérase (PDE) : ↓ GMPc
α_q (excitateur)	↑ Phospholipase C (PLC) : ↑ IP3 et DAG, ↑ PKC, ↑ Ca^{2+}
α_s (excitateur)	↑ Adénylate Cyclase (AC) : ↑ AMPc, ↑ Ca^{2+}
$\beta\gamma$	Canaux ioniques (ouverture canaux K^+, fermeture canaux Ca^{2+}) ↑ Phospholipase C (PLC) : ↑ IP3 et DAG, ↑ PKC, ↑ Ca^{2+} ↑ Adénylate Cyclase (AC) : ↑ AMPc, ↑ Ca^{2+}

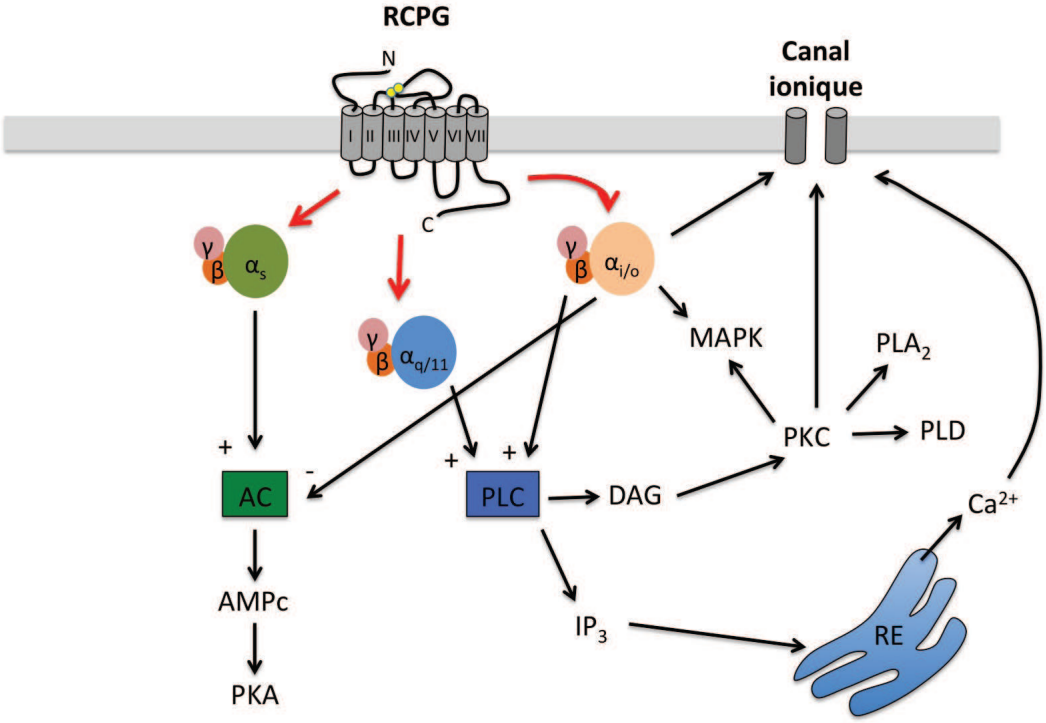


FIGURE I.3 – **Principales voies de signalisation médiées par le couplage des récepteurs aux différentes protéines G.**

Illustration schématique des processus engendrés par l'activation des protéines G_s, $G_q/11$ et G_i/o par un RCPG. La production de seconds messagers induite par les protéines G affecte notamment les taux de Ca^{2+} intracellulaires et l'ouverture ou la fermeture de différents canaux ioniques membranaires. Remarquez les nombreuses interactions possibles entre les voies de signalisation. D'après [213].

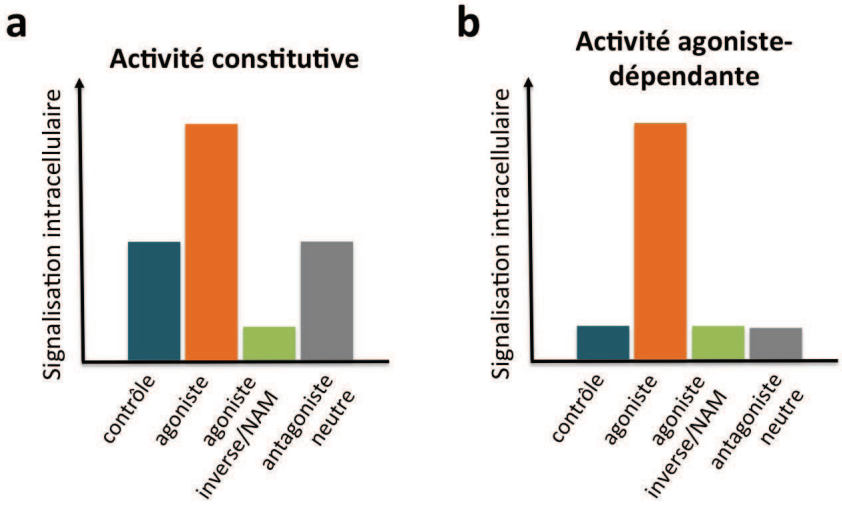


FIGURE I.4 – **Représentation schématique des outils pharmacologiques permettant de détecter une activité constitutive**

(a) Lorsqu'un RCPG présente une activité constitutive, il induit une signalisation intracellulaire basale (condition contrôle en bleu). Cette activité peut être augmentée en présence d'agoniste si l'activité constitutive n'est pas maximale (orange) et inhibée par un modulateur allostérique négatif (vert). Par contre un antagoniste neutre empêchant la liaison de l'agoniste au récepteur n'a pas d'effet (gris). (b) Lorsque l'activité d'un RCPG ne dépend que de l'agoniste, ni les agonistes inverses ou modulateur allostérique négatif (NAM), ni l'antagoniste n'affectent l'activité de ce récepteur en absence d'agoniste. Il est donc nécessaire de comparer les effets d'un antagoniste neutre par rapport à un modulateur allostérique négatif pour conclure à une activité constitutive.

une faible stabilité thermodynamique et protéolytique qui désorganise certaines régions telles que les domaines intra- et extracellulaires, induisant une activité du récepteur en l'absence de ligand [274, 86, 244, 424, 53]. Cette activité constitutive résulte en une fonction physiologique indépendante de la liaison d'un agoniste. Cette activité peut être bloquée par un agoniste inverse (par exemple un modulateur allostérique négatif), qui favorise l'état inactif du RCPG [467] (voir Fig.I.4).

L'activité constitutive des RCPG constitue un contrôle tonique (permanent) essentiel de l'activité neuronale basale [329]. En cas de mauvaise régulation ou de mutation génétique d'un RCPG, l'activité constitutive peut être augmentée et aboutir à différentes pathologies du SNC (syndrome d'hyperstimulation ovarien, rétinite pigmenteuse, hyperthyroïdisme, puberté précosse... [480]). Expérimentalement, l'expression hétérologue d'un grand nombre de RCPG induit la transduction de signaux ligand-indépendants, qui augmente proportionnellement avec l'augmentation de l'expression du RCPG (voir par exemple [484]). Jusqu'à présent, cette activité constitutive a été trouvée dans plus de 60 RCPG des familles A à C. Cependant, bien que presque tous les RCPG puissent théoriquement montrer une activité constitutive, celle-ci est très variable en intensité selon les sous-types de récepteurs. Par exemple, plusieurs études ont montré une forte activité constitutive du récepteur adrénergique $\beta 2$ contrairement au récepteur $\beta 1$ [155], ainsi que le récepteur dopaminergique D5 comparé au récepteur D1 [484]. Les études des interactions de différents partenaires avec les régions intracellulaires des RCPG, notamment au niveau de l'extrémité C-terminale, se sont avérées cruciales pour comprendre le fonctionnement des RCPG [50]. Ces interactions servent généralement à réguler la localisation

subcellulaire, l'échafaudage (*scaffolding*) et/ou le trafic des RCPG. Elles peuvent cependant également réguler le degré d'activité constitutive du récepteur [9].

L'hypothèse selon laquelle le récepteur mGlu7 présente une activité constitutive sera abordée plus loin (voir sections I.3 et I.7).

I.1.7 Adaptation de la transmission : Plasticité synaptique

Historiquement, la conception de la fonction de la synapse était limitée à un simple transfert de l'information d'un neurone à l'autre. Il était admis qu'une fois établies, les synapses étaient relativement stables. Cependant, de nombreux travaux effectués ces 50 dernières années ont bouleversé cette vision de la synapse. Les synapses sont en réalité extrêmement plastiques, c'est-à dire qu'elles sont capables de modifier l'efficacité de la neurotransmission. Cette plasticité intervient dès le développement embryonnaire, peut perdurer tout au long de la vie et est souvent associée à des modifications morphologiques. Ces phénomènes synaptiques constituent la base de l'apprentissage et de la mémoire [300, 306].

Il existe deux types de plasticité synaptique : la dépression et la facilitation synaptique. Les mécanismes moléculaires qui sous-tendent à cette plasticité sont différents selon qu'elle est à court terme (quelques secondes), ou à long terme (plusieurs jours ou semaine) [98]. La plasticité à court terme peut être induite en stimulant une synapse de façon répétitive (*paired-pulses* ou train de stimulation) et varie en fonction de la fréquence de stimulation [528]. Les mécanismes moléculaires à l'origine de cette plasticité résident au niveau présynaptique (voir Fig.I.5). La dépression à court terme est généralement associée à une déplétion de neurotransmetteur. Elle se produit dans les neurones présentant une forte probabilité de libération de neurotransmetteur. La forte réactivité de ces neurones leur confère un rôle important dans la transmission de l'information : ils sont appelés *"drivers"* en anglais [401]. Suite à une première stimulation, le stock de neurotransmetteur disponible pour une seconde réponse serait insuffisant. Le second PA afférent engendrera donc une libération amoindrie de neurotransmetteur et par conséquent la réponse postsynaptique sera plus faible.

De façon opposée, la facilitation à court terme correspond à une libération plus forte du neurotransmetteur au fur et à mesure des stimulations répétitives. Depuis les travaux expérimentaux de Katz & Miledi, la facilitation synaptique est généralement associée au "calcium résiduel" [239, 528]. Lors de son arrivée dans la présynapse, un potentiel d'action induit l'ouverture de canaux Ca_v et l'influx massif de calcium engendre la libération de neurotransmetteur. La concentration en Ca^{2+} nécessite un certain temps pour décroître et revenir à un taux initial. Si un second PA atteint la présynapse lorsque la concentration de calcium n'est pas revenue à son niveau basal, l'influx calcique associé au second PA s'ajoutera au calcium résiduel résultant du premier PA. La libération de neurotransmetteur sera donc plus efficace lors du second PA et la réponse postsynaptique augmentée. La facilitation à court terme est généralement retrouvée dans des neurones qui présentent une faible probabilité de libération de neurotransmetteur et régulent l'activité d'autres neurones : ils sont appelés *"modulateurs"* [401].

Le taux de Ca^{2+} intracellulaire est donc déterminant pour l'établissement de la plasticité synaptique à court terme. Les Ca_v sont la source principale de l'entrée de calcium présynaptique dans le système nerveux central [150, 360, 79] et sont finement régulés notamment par les sous-unité $\beta\gamma$ de la protéine G_i/o, activée par le récepteur mGlu7 (voir section I.3.3). La modulation synaptique médiée par le récepteur mGlu7a est ainsi susceptible d'affecter la plasticité à court terme, ce qui sera étudié dans le cadre de cette thèse (voir section I.7).

Contrairement à la plasticité à court terme, la plasticité à long terme est associée à un changement d'efficacité durable de la transmission synaptique entre deux neurones sous-tendant

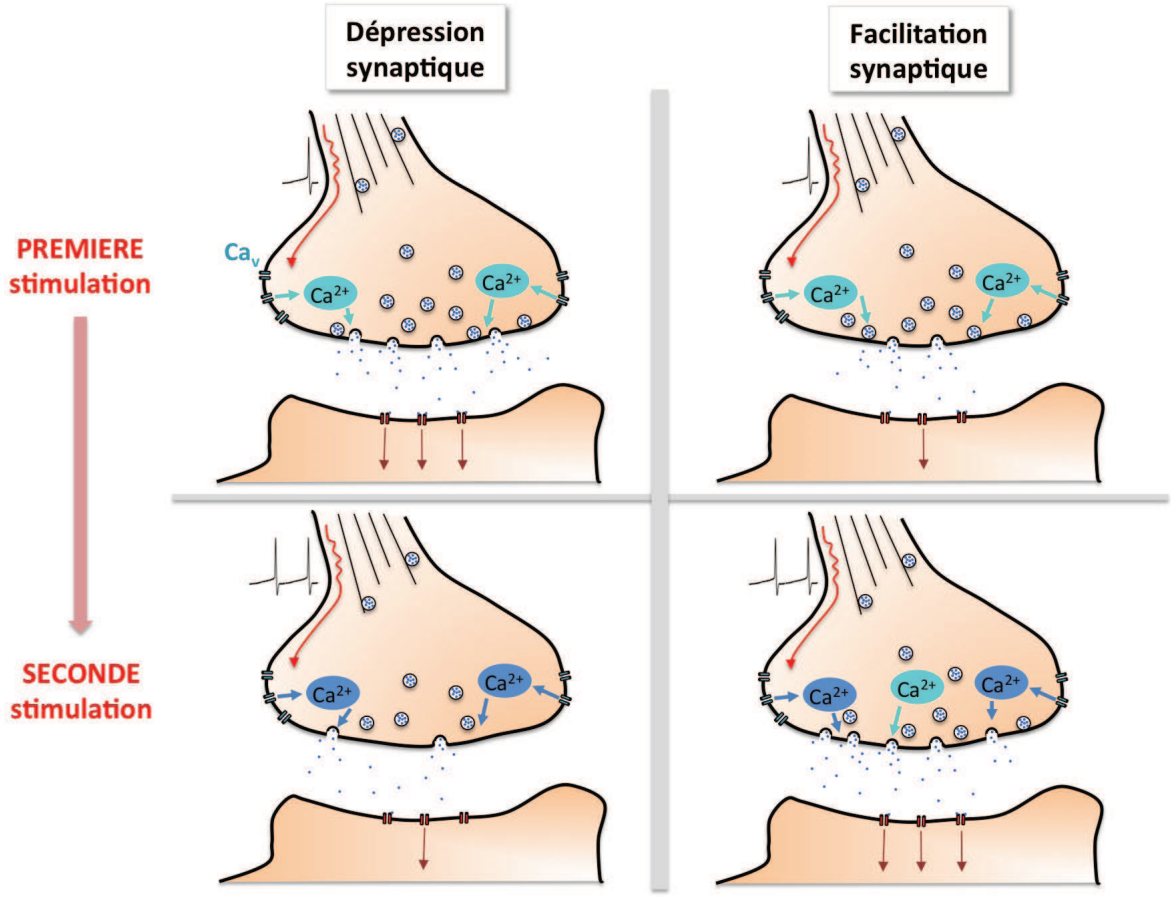


FIGURE I.5 – **Mécanismes présynaptiques induisant une plasticité à court terme.**

L'arrivée d'un PA au niveau de la présynapse induit une entrée de Ca^{2+} au travers de canaux Ca_v. Cela peut engendrer deux processus. Dans le premier cas (à gauche), le Ca^{2+} induit une forte libération de neurotransmetteur et le stock en neurotransmetteur serait diminué lors de l'arrivée d'un deuxième PA proche dans le temps, aboutissant à une dépression synaptique. Dans le second cas (à droite), le premier PA induit une accumulation de Ca^{2+} ce qui permet une libération plus forte de neurotransmetteur lors de l'arrivée d'un PA rapproché dans le temps. Ainsi, le Ca^{2+} résiduel induit une facilitation synaptique. Le Ca^{2+} entrant dans la présynapse lors de la première stimulation est représenté en bleu clair, alors que le Ca^{2+} entrant lors de la seconde stimulation est représenté en bleu foncé.

au stockage de l'information [48]. La découverte en 1973 de la potentiation à long terme (LTP) dans l'hippocampe par Tim Bliss [49] a suscité une exploration excitante des bases moléculaires et des corrélats comportementaux associés à la plasticité synaptique. La LTP a depuis été observée dans de nombreuses synapses du SNC. Peu après, le phénomène inverse de la LTP, la dépression à long terme (LTD), fût observée dans l'aire CA1 de l'hippocampe [146], puis dans d'autres aires cérébrales (cortex cérébelleux, néocortex, hippocampe, striatum, noyau accumbens...). Contrairement à la LTP, la LTD est caractérisée par une diminution à long terme de la transmission synaptique. Bien qu'au départ considérées comme bases moléculaires de l'apprentissage et de la mémoire, la potentiation et la dépression à long terme se sont de surcroît avérées essentielles pour de multiples fonctions cérébrales physiologiques et pathologiques [299, 241], dont la stabilisation ou l'élimination des synapses au cours du développement [171]. Le maintien de la LTP et de la LTD pendant plusieurs heures, voire plusieurs semaines, requiert la transcription de gènes et une synthèse protéique [403, 240, 301]. De plus, la plasticité à long terme est corrélée à des modifications morphologiques : augmentation du nombre et du volume des épines dendritiques lors d'une LTP, ou au contraire diminution de la densité d'épines dendritiques et une diminution de leur volume lors d'une LTD. Les épines dendritiques subissent donc des modifications morphologiques bidirectionnelles en fonction de l'activité neuronale [340]. Les récepteurs du glutamate sont nécessaires pour l'induction et l'expression de la LTP et de la LTD et les récepteurs GABAergiques sont impliqués dans leur modulation [98]. Ces phénomènes de plasticité résultent en effet avant tout d'une augmentation ou d'une diminution du nombre de récepteurs AMPA post-synaptiques (voir I.2.2.3).

I.2 Neurotransmission glutamatergique

I.2.1 Glutamate

En plus d'être une molécule essentielle au métabolisme neuronal [499], le glutamate est utilisé comme neurotransmetteur dans 50 à 60 % des terminaisons axonales excitatrices [112] et près de 90 % des neurones y sont sensibles, faisant de cette molécule le principal neurotransmetteur excitateur du SNC mammalien. Le tissu cérébral contient 5-15 mmol de glutamate par kg selon les régions. Ceci correspond majoritairement au glutamate intracellulaire [366] et vésiculaire [439], la concentration extracellulaire ne dépassant pas quelques micromoles [205, 212]. Cela est bien supérieur à n'importe quel autre acide aminé endogène. Son rôle est au cœur de la plupart des hautes fonctions cérébrales, telles que la cognition, l'apprentissage, la mémoire et intervient également lors du développement du SNC [322].

Le glutamate a pour principal précurseur la glutamine, mais il peut aussi être synthétisé à partir de l'aspartate. La glutamine est synthétisée dans les cellules gliales par la glutamine synthétase à partir du glutamate recapté de la fente synaptique. La glutamine est ensuite captée par les neurones glutamatergiques et transformée en glutamate par la glutaminase, une enzyme mitochondriale [214]. Il est ensuite stocké dans des vésicules et acheminé au niveau présynaptique [214]. Lors d'une stimulation d'afférences (chimique, électrique, ou comportementale), l'exocytose de ces vésicules constitue la source principale de glutamate dans l'espace extracellulaire, confinée (ou presque) au niveau synaptique en condition physiologique. Les vésicules sont parfois libérées de façon spontanée en l'absence de PA afférent et ce phénomène dépend du taux de calcium intracellulaire présynaptique [257].

Malgré son rôle primordial dans le SNC, le glutamate à forte concentration est également une puissante neurotoxine [112, 197]. Son accumulation dans l'espace extracellulaire peut induire une suractivation délétère de ses récepteurs gliaux et neuronaux, conduisant à une exci-

totoxicité cellulaire. Il est donc crucial de pouvoir réguler finement la diffusion et la durée de vie du glutamate extracellulaire, non seulement pour éviter l'excitotoxicité, mais aussi pour induire une réponse synaptique adaptée. Etant donné l'absence d'enzymes extracellulaires pouvant métaboliser le glutamate, ce dernier doit être éliminé par recapture par les cellules [125]. Les transporteurs du glutamate, situés sur les cellules gliales et les neurones, assurent cette recapture [6, 437] et le glutamate peut ainsi être recyclé.

Il a récemment été observé que les PA peuvent également induire la fusion rapide de vésicules au niveau de microdomaines calciques le long d'axones non-myélinisés de la substance blanche [527, 257]. Cette libération diffuse suggère une participation importante du glutamate dans la communication entre neurones et cellules gliales [526, 13]. De plus, plusieurs études thermodynamiques et pharmacologiques ont démontré que l'activité des transporteurs du glutamate et du GABA peut s'inverser [21, 280]. Le potentiel de membrane à partir duquel certains transporteurs s'inversent est proche du potentiel de repos des neurones [404], suggérant que certains neurotransmetteurs tel que le glutamate et le GABA peuvent également être libérés de façon non-vésiculaire [515, 477] via ces transporteurs. Ainsi la concentration ambiante de neurotransmetteur dans le milieu extracellulaire varie en fonction de l'état fonctionnel des transporteurs et de la libération vésiculaire synaptique et extrasynaptique. En conditions basales, cet efflux est insensible à la TTX [492]. Dans le striatum chez le rat, le blocage du transport de glutamate par l'antiporteur cystéine-glutamate produit une forte diminution (60%) de la concentration ambiante de glutamate, alors que le blocage des canaux sodiques et calciques voltages-dépendants ne produit qu'une faible diminution (0–30 %) [26]. Ceci confirme l'existence d'une source non-vésiculaire et extrasynaptique, neuronale et astrocytaire, de libération de glutamate via l'antiporteur cystéine-glutamate. Ces libérations permanentes permettent de maintenir un faible bruit-de-fond nécessaire à une transmission efficace et soutenue.

I.2.2 Récepteurs glutamatergiques ionotropiques : AMPA, NMDA et kaïnate

Une fois dans le milieu extracellulaire, le glutamate médie la neurotransmission en se fixant sur ses récepteurs [99]. Plusieurs types de récepteurs ont été identifiés à ce jour : trois récepteurs ionotropiques (iGluRs) AMPA, NMDA et kaïnate d'une part et d'autre part huit récepteurs métabotropiques (récepteurs mGlu1-8) [322]. Si les récepteurs ionotropiques médient de façon puissante l'excitation neuronale, seuls 2 des 8 récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluRs) sont excitateurs. La majorité des mGluRs a en effet un rôle inhibiteur. Ce système permet un contrôle réactif et adaptable : le glutamate est ainsi capable d'autoréguler sa propre libération. De plus, comme nous le verrons dans les sections suivantes, les GluRs peuvent également moduler l'activité de neurones non-glutamatergiques, faisant d'eux une réelle plateforme à l'interface de la communication entre virtuellement tous les neurones du SNC.

La pharmacologie, la physiologie moléculaire et l'expression des iGluRs ont été étudiées en détails. Les iGluRs sont subdivisés en trois groupes distincts : les récepteurs a-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionate (AMPA), kaïnate et N-méthyl-D-aspartate (NMDA), en fonction de leur activation par des agonistes spécifiques (AMPA, kaïnate et NMDA respectivement) [342, 423]. Cette classification pharmacologique a été confirmée par de plus récentes études génétiques. Selon la nomenclature moderne [100], 18 gènes ont été identifiés comme codant une sous-unité de iGluR : 4 pour les sous-unités du récepteur AMPA (GluA1-4), 5 pour les sous-unités du récepteur kaïnate (GluK1-5), 7 pour les récepteurs NMDA (GluN1, GluN2A-D,

GluN3A et GluN3B) et 2 pour des sous-unités orphelines D (GluD1 et GluD2) [217]. Enfin, un récepteur du glutamate procaryotique sélectif aux ions K^+, GluR0, a également été cloné et structurellement caractérisé [87]. L'épissage alternatif de ces gènes et l'édition de certains ARN accroit la diversité des iGluRs [450].

I.2.2.1 Structure des iGluRs

Toutes les sous-unités des iGluRs possèdent une structure commune : un large domaine N-terminal formé par un tandem de deux larges domaines bilobés extracellulaires, quatre segments transmembranaires et une extrémité C-terminale intracellulaire (voir Table I.2).

Des études immunocytochimiques et biochimiques ont confirmé la localisation intracellulaire du domaine C-terminal [383, 485]. Des études par glycosylation ont permis de conclure que le récepteur AMPA a trois domaines transmembranaires, qui correspondent aux TM1, TM3 et TM4 et un segment M2 qui forme un coude en épingle (*hairpin turn*) membranaire à proximité de l'espace intracellulaire [217]. D'autres méthodes utilisant des protéines chimériques, des mutations ponctuelles et la cristallographie supportent l'idée que ce modèle topologique initialement établi pour les sous-unités AMPA est également applicable à celles des récepteurs du kaïnate et du NMDA [313, 487].

Les extrémités C-terminales sont cruciales pour établir un grand nombre d'interactions avec des protéines intracellulaires, notamment via leurs domaines PDZ-ligands et ainsi réguler l'adressage, la stabilisation, l'état conformationnel et le recyclage des récepteurs à la membrane. Le domaine de liaison des agonistes ($\approx$ 300 acides aminés) est directement connecté aux parties transmembranaires et le domaine amino-terminal (N-terminal, $\approx$ 380 acides aminés) intervient notamment dans l'oligomérisation des iGluRs [25]. Les récepteurs AMPA montrent une affinité pour le glutamate nettement plus faible que celle des récepteurs NMDA, les récepteurs kaïnate ayant une affinité intermédiaire [22].

Les iGluRs fonctionnent sous forme tétramérique [411], constituant un canal ionique perméable aux cations (notamment Na^+ et K^+, mais aussi dans certains cas au Ca^{2+}). Les récepteurs NMDA sont des hétéro-tétramères, alors que les récepteurs AMPA et kaïnate peuvent être homo- ou hétéro-tétramèriques. Des études cristallographiques récemment réalisées sur le domaine de liaison du ligand ont conduit à proposer un modèle selon lequel les iGluRs fonctionnent en dimères de dimères [14]. Selon ce modèle, les domaines de liaison du ligand de deux sous-unités adjacentes dimérisent via une apposition dos-à-dos de leurs lobes supérieurs. La liaison des agonistes dans la cavité interlobe de chaque domaine provoque leur fermeture et ce mouvement écarte les lobes inférieurs des deux domaines de liaison du ligand adjacents. Cette séparation se traduit en tension au niveau des segments transmembranaires, ce qui conduit à l'ouverture du pore du récepteur-canal. Il est intéressant de souligner que l'activation des mGluRs, dont les domaines de liaison des agonistes forment des dimères, implique des mécanismes semblables [180].

I.2.2.2 Récepteur kaïnate

Les cellules des différentes régions cérébrales expriment des combinaisons de sous-unités spécifiques possédant des propriétés pharmacologiques et électrophysiogiques distinctes les unes des autres [509]. Dans le cerveau humain, le récepteur du kaïnate comporte majoritairement les sous-unités GluK2 et GluK5 [278]. Les récepteurs du kaïnate, comme tous les iGluR, sont perméables aux cations et ont des caractéristiques d'activation et de désensibilisation rapides. Leur activation induit un courant entrant qui dépolarise la membrane neuronale.

La première démonstration de l'existence de récepteurs kaïnate postsynaptiques fût présentée par Vignes et al., au niveau des synapses entre les fibres moussues et les cellules pyramidales CA3 dans l'hippocampe [495]. Des PPSE médiés par ces récepteurs ont également été observés dans les interneurones GABAergiques de l'aire CA1 de l'hippocampe, dans les cellules de Golgi et les cellules Purkinje du cervelet, dans les cellules pyramidales et les interneurones du néocortex, dans la corne dorsale de la moelle épinière, dans les cellules bipolaires "Off" rétiniennes, dans l'amygdale basolatérale, ainsi que dans certains neurones du ganglion rachidien dorsal [36]. Une analyse de Frerking et Ohliger-Frerking suggère que les PPSE médiés par le récepteur du kaïnate contribueraient physiologiquement à une dépolarisation substantielle et prolongée lors de décharges neuronales répétitives [174]. Ainsi, ce récepteur apparaît comme un intégrateur temporel des signaux excitateurs.

On les trouve aussi fréquemment au niveau somatodendritique où ils modulent l'activité du neurone, comme cela a été observé dans les interneurones de l'aire CA1 de l'hippocampe [36, 278]. La stimulation des astrocytes influencerait l'activation tonique de ces récepteurs somatodendritiques. Ces récepteurs sont également exprimés au niveau présynaptique où ils régulent la libération de neurotransmetteur, notamment de glutamate et de GABA [278]. Des études pharmacologiques et l'analyse de modèles murins mutés pour ce récepteur ont démontré un rôle d'auto-récepteur facilitateur [417]. Son activation induit la dépolarisation de la présynapse et renforce ainsi l'action des canaux Ca^{2+} voltage-dépendants. Ces récepteurs présynaptiques influencent également la potentialisation à long terme de la neurotransmission entre les fibres moussues et les cellules CA3 de l'hippocampe [416, 395].

Une particularité des récepteurs du kaïnate serait de pouvoir activer une protéine G [278]. Cette voie de signalisation non-canonique impliquerait la phospholipase C (PLC) qui active la synthèse de diacylglycérol (DAG) et la PKC. A son tour la PKC inhiberait des canaux calciques. Des canaux K^+- et Ca^{2+}-dépendants seraient ainsi inhibés, induisant une augmentation drastique de l'excitabilité membranaire. Les récepteurs du kaïnate extrasynaptiques activés par le glutamate ambiant ainsi que les récepteurs pré- et post-synaptiques pourraient donc jouer un rôle dans la régulation tonique de l'excitabilité neuronale et de la libération synaptique de neurotransmetteur. Cet effet métabotropique est particulièrement important pour assurer une activité neuronale spontanée requise pour le développement des réseaux neuronaux [35].

I.2.2.3 Récepteur AMPA

Contrairement aux récepteurs kaïnate dont l'expression est restreinte à certaines régions cérébrales, les récepteurs AMPA et NMDA colocalisent dans la densité postsynaptique de la vaste majorité des synapses glutamatergiques. Ces deux iGluRs sont activés de façon concomitante lorsque le glutamate est libéré de la présynapse. Cependant, les récepteurs AMPA désensibilisent (c'est-à-dire qu'ils perdent leur activité malgré la liaison du glutamate) en une dizaine de millisecondes [179]. Ce phénomène régule la durée de la transmission synaptique, qui de façon optimale doit être relativement brève afin d'éviter des effets neurotoxiques en conditions physiologiques. En conditions pathologiques, comme lors d'ischémies cérébrales, il n'est pas assez efficace et ne permet pas d'éviter les effets délétères de fortes concentrations de glutamate extracellulaire qui induisent une nécrose et/ou une apoptose neuronale [284].

Le récepteur AMPA est le véritable fer de lance de la transmission excitatrice. Dans l'hippocampe adulte, les récepteurs sont majoritairement constitués des sous-unités GluA1 et GluA2 ou GluA3 et GluA2 [504]. L'hippocampe immature ainsi que les autres régions cérébrales adultes expriment GluA4, qui multimérise avec GluA2 pour former un récepteur AMPA fonctionnel [525]. Bien que les domaines extracellulaires et les régions transmembranaires des dif-

férentes sous-unités soient similaires, elles diffèrent par la longueur de leur partie C-terminale. Ce domaine est connu pour interagir avec un grand nombre de protéines cytoplasmiques, notamment via leurs domaines PDZ-ligand [133].

Le récepteur AMPA n'est généralement perméable qu'au Na^+ et au K^+ dans le SNC mature [183], car la présence de la sous-unité GluA2 dans l'hétéro-tétramère rend le récepteur imperméable au Ca^{2+}. Les récepteurs AMPA sont indispensables à la transmission synaptique glutamatergique. Les synapses qui n'expriment pas de récepteurs AMPA sont dites "silencieuses", aucun courant postsynaptique excitateur ne pouvant être généré. La fraction de synapses silencieuses est importante aux premiers stades de développement synaptique, puis diminue au cours de la maturation des réseaux neuronaux [224].

En plus de leur localisation postsynaptique, on trouve également des récepteurs AMPA au niveau présynaptique [129, 177], où ils activent une MAPK (*mitogen-activated protein kinase*). Cette voie contrôle le recyclage des vésicules présynaptique et aurait donc un rôle dans la plasticité synaptique à court terme [177, 75] et la formation ou le désassemblage de synapses [129]. Les récepteurs AMPA présynaptique et postsynaptiques sont également indispensables à l'expression de la plasticité synaptique à long terme, permettant à la fois une potentiation ou une dépression à long terme, en agissant de paire avec les récepteurs NMDA [258, 500].

L'expression de la LTD et de la LTP résulte du recyclage et de l'adressage des récepteurs AMPA à la membrane. Alors que la LTP nécessite l'activation de la CaMKII et une mobilisation rapide du nombre de récepteurs AMPA à la membrane plasmique [258, 28, 38], la LTD dépend de l'activation d'une cascade de phosphatases dont la calcineurine et la protéine phosphatase 1 qui ont une haute affinité pour le calcium [337], et de la diminution du nombre de récepteurs AMPA à la membrane [75, 430]. Nous verrons plus loin que ces phénomènes de plasticité peuvent aussi être contrôlés par les récepteurs NMDA et les mGluRs [52, 359].

I.2.2.4 Récepteur NMDA

Les récepteurs NMDA fonctionnels sont composés de deux sous-unités GluN1 (liant la glycine ou la D-sérine) et de deux autres sous-unités, GluN2 et/ou GluN3 (liant le glutamate) [336, 428, 179]. Pour être activés, ces récepteurs possèdent la propriété de devoir lier non seulement le glutamate, mais aussi un co-agoniste, la glycine ou la D-sérine, pour être activés. Ainsi, des variations de la concentration locale de co-agonistes peuvent moduler les réponses NMDA. Ainsi, l'activité des récepteurs NMDA peut être régulée par les astrocytes qui synthétisent et libérent de la D-sérine [369]. L'activité des récepteurs NMDA peut être contrôlée par de nombreux modulateurs allostériques extracellulaires. Par exemple, les ions Zn^{2+} inhibent les récepteurs GluN1/GluN2A avec une haute affinité (IC50 $\approx$ 10 nM) [464]. Cette modulation revêt une importance physiologique car du Zn^{2+} est coaccumulé avec le glutamate dans les vésicules d'exocytose de certaines terminaisons glutamatergiques et serait libéré à la synapse pour inhiber les réponses NMDA [370].

L'hétérogénéité des récepteurs NMDA résulte de différences au niveau de la partie N-terminale de la sous-unité GluN2. Cette région distale forme un module qui régule finement l'activité des récepteurs. La signalisation de ces récepteurs dépend aussi du nombre et de la composition des récepteurs NMDA, modulés par différents facteurs qui interagissent principalement au niveau intracellulaire [127, 505].

Des études immunocytochimiques en microscopies optique et électronique ont montré que le récepteur NMDA est localisé de façon ubiquitaire dans le cerveau, au niveau des membranes postsynaptiques. Il a cependant également été observé dans les membranes extrasynaptiques dans le cortex néonatal [336, 11] chez le rat. De plus, l'existence de récepteurs présynaptiques

fût démontrée par Liu et ses collègues [285] qui détectèrent une immunoréactivité pour la sous-unité GluN1 dans les cornes ventrales et dorsales de la moelle épinière, plus particulièrement sur les terminaisons axonales à proximité des zones actives. Il a depuis été observé dans de nombreuses présynapses excitatrices du SNC mammalien, incluant le néocortex, l'hippocampe, le cervelet, le cortex visuel, le cortex cingulaire antérieur, le noyau accumbens, l'amygdale et la rétine (voir [149] pour revue).

On trouve aussi les récepteurs NMDA au niveau de synapses inhibitrices du noyau bed de la strie terminale, du cortex cérébelleux, du noyau paraventriculaire l'hypothalamique, du néocortex et du noyau arqué [130, 148]. Des plexus riches en varicosités immunoréactives pour GluN1 existent dans de nombreux noyaux, tels que le prosencéphale basal, le thalamus médian et l'hypothalamus périventriculaire [371], liés aux fonctions autonomes, limbiques et neuroendocrines. Enfin, les cellules gliales expriment également le récepteur NMDA [107].

Une fois lié par le glutamate, le récepteur NMDA requiert une dépolarisation membranaire simultanée pour permettre le flux de cations. En effet, les ions Mg^{2+} bloquent le pore des récepteurs NMDA et n'est expulsé du canal que lorsque la dépolarisation membranaire est suffisante. Le seuil de dépolarisation nécessaire pour expulser les ions Mg^{2+} du pore diffère selon la composition en sous-unités du récepteur, allant de -25 mV pour les complexes GluN1-GluN2A-B, à -45 mV pour GluN1-GluN2C-D [336].

Ils sont perméables à différents cations : Na^+, K^+, Ba^{2+} et Ca^{2+} et présentent une inactivation/désensibilisation lente [276]. Dans la majorité des synapses, les récepteurs AMPA sont imperméables au Ca^{2+} et l'entrée de calcium induite par les iGluRs se fait donc principalement via les récepteurs NMDA. Cette entrée d'ions Ca^{2+} joue un rôle déterminant dans la plasticité synaptique (LTP/LTD), l'apprentissage et la mémoire [281, 500].

I.2.2.5 Neuropathologies associées aux iGluRs

De nombreuses neuropathologies sont induites par des dysfonctionnements des iGluRs. Ces dysfonctionnements peuvent provenir d'un mauvais adressage des récepteurs, d'un défaut de régulation par des protéines intracellulaires ou d'un excés de concentration extracellulaire en glutamate [101, 46, 322]. Ces modifications génèrent généralement un excès de Ca^{2+} intracellulaire dont les conséquences sont délétères. Les voies de signalisation médiées par le Ca^{2+} sont nombreuses et souvent nécessaires au développement et à la plasticité neuronales, mais elles peuvent cependant rapidement induire la production de radicaux libres menant à une excitotoxicité cellulaire [140, 141, 92]. Cette excitotoxicité peut engendrer une mort cellulaire par apoptose ou par nécrose que l'on retrouve dans différentes pathologies neurodégénératives, ou encore une hyperexcitabilité cellulaire induisant des activités anomales au sein de réseaux neuronaux [89], parfois corrélées à une restructuration délétère des circuits neuronaux.

La plupart des études sur l'excitotoxicité se sont focalisées sur la contribution pathologique du Ca^{2+} via les iGluRs, mais des hypothèses alternatives ou complémentaires existent également, comme notamment une cytotoxicité due au zinc [502], ou encore une activité altérée des transporteurs du glutamate. Ainsi, les affections neurologiques impliquant une suractivation des iGluRs (AMPA, NMDA et/ou kaïnate) et un excès de Ca^{2+} intracellulaire sont extrêmement vastes.

Chez l'homme, des polymorphismes des gènes codant pour des iGluRs ont été associés à différentes pathologies neurodéveloppementales ou neurodégénératives [56]. Ces données ont été complétées grâce à différents modèles expérimentaux, qui ont permis de confirmer une implication des iGluRs dans des ischémies, hypoxies, hypoglycémies, traumatismes physiques, addictions aux drogues et à l'alcool, empoisonnements métaboliques, démences liées à des

déficiences immunitaires héréditaires, différentes crises épileptiques, autisme, maladies de Parkinson, d'Alzheimer et de Huntington, ainsi que des atteintes du système moteur telle que la sclérose en plaque amyotrophique [112, 227, 56]. Ces récepteurs jouent aussi un rôle dans la genèse de douleurs neuropathiques de par leur expression au niveau de la moelle épinière [385]. Parallèlement aux affections neuronales, le fonctionnement des cellules gliales, notamment des oligodendrocytes, des microglies et des astrocytes qui expriment des iGluRs, est également fréquemment altéré [311]. De plus, les sous-unités orphelines GluRD2 sont impliquées dans l'ataxie [522].

Par contre, la sous-activation des iGluRs est plus rare mais peut également engendrer de graves modifications. Un hypofonctionnement des récepteurs NMDA induit un état psychotomimétique ressemblant à la schizophrénie [226] ou à l'autisme [511]. De plus, une diminution développementale du ratio AMPA sur NMDA dans l'aire CA1 hippocampique est associée au syndrome de l'X Fragile [388].

I.2.3 Récepteur métabotropiques du glutamate : structure et fonction

Alors que les iGluRs sont responsables de la transmission excitatrice rapide, les récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluRs) modulent cette transmission. Les mGluRs appartiennent à la superfamille des RCPG, plus précisément à la famille C, tout comme les récepteurs métabotropiques du GABA, les récepteurs $GABA_B$ (voir section I.1.4 et Table I.3). Le premier mGluR fût découvert par le laboratoire [445] et par Nicoletti [348] en 1985, puis l'ADN codant pour un mGluR (maintenant appelé récepteur mGlu1a) fût cloné en 1991 par deux équipes indépendantes [220, 308]. Depuis, huit gènes ont été identifiés comme codant les mGluRs [470, 343]. La plupart de ces sous-types possèdent différents variants d'épissage, exprimés dans des sous-types cellulaires distincts au sein du SNC.

Les mGluRs sont classifiés en trois sous-groupes en fonction de leurs homologies de séquence. Les mGluRs du groupe I incluent les sous-unité mGlu1 et mGlu5, ceux du groupe II incluent les sous-unités mGlu2 et mGlu3 et ceux du groupe III incluent les sous-unités mGlu4, mGlu6, mGlu7 et mGlu8 (voir Table I.5). Les sous-unités d'un même groupe ont environ 70 % d'homologie de séquence, contre 45 % entre deux groupes [105].

Tous les RCPG de classe C présentent une structure commune, comportant quatre domaines distincts : deux domaines extracellulaires, un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire. Tous les membres de cette famille forment des dimères de façon constitutive (voir la structure du récepteur mGlu7a représentée dans la Fig.I.6) [230]. Les mGluRs possèdent un très large domaine extracellulaire N-terminal, contenant le site de liaison du glutamate. L'étude cristallographique de cette région a démontré que chaque domaine N-terminal est constitué de deux lobes, un lobe étant positionné au-dessus de l'autre [260]. La liaison du glutamate s'effectue dans une poche située entre les deux lobes. Plusieurs études fonctionnelles ont suggéré que les domaines extracellulaires de deux récepteurs dimérisent dos-à-dos. Dans chacun des récepteurs, les deux lobes agissent tels un "pacman" : ils se replient sur eux mêmes en emprisonnant une molécule de glutamate. C'est pourquoi on appelle aussi ce domaine "*Venus Fly Trap*" (VFT), en référence aux plantes carnivores qui se referment de façon similaire sur leurs proies. Les dimères peuvent donc présenter trois états conformationnels fonctionnels différents : ouvert-ouvert, ouvert-fermé et fermé-fermé selon que le glutamate est fixé sur aucune, une ou deux poches de liaison respectivement. Les ligands agonistes favorisent la configuration fermée-fermée, active, alors que les ligands antagonistes favorisent la configuration ouverte-ouverte, inactive. La liaison du glutamate dans un seul ou dans les deux sites de liaison induit un changement conformationnel du dimère de récepteur [42, 260]. Les

TABLE I.5 – **Classification des mGluRs et leurs principales voies de signalisation.**

Famille	Couplage	Transduction principale	Agents pharmacologiques
Groupe I (principalement post-synaptique)			
mGlu1	$G_{q/11}$ (excitateur)	↑ PLC, ↑ Ca^{2+} ↑ AC (dans certains systèmes) ↑ phosphorylation MAPK	Agonistes : (S)-3,5-DHPG ; quisqualate Antagonistes : (S)-MCPG ; LY367385*
mGlu5			Agonistes : (S)-3,5-DHPG ; quisqualate ; CHPG Antagonistes : (S)-MCPG ; MPEP*
Groupe II (pré- et post-synaptique)			
mGlu2	$G_{i/o}$ (inhibiteur)	↓ Adénylate cyclase Activation canaux K^+ Inhibition canaux Ca^{2+}	Agonistes : DCG-IV ; LY354740 ; 2R,4R-ACPD Antagonistes : LY341495 ; HYDIA ; mCD-CCG
mGlu3			Agonistes : DCG-IV ; LY354740 ; 2R,4R-ACPD Antagonistes : LY341495 ; HYDIA ; mCD-CCG
Groupe III (principalement présynaptique sauf mGlu6)			
mGlu4	$G_{i/o}$ (inhibiteur)	↓ Adénylate cyclase ↑ PLC via $G_{q/11}$	Agonistes : L-AP4 ; L-SOP ; ACPT-I Antagonistes : MSOP ; MAP4 ; DCG-IV ; CPPG
mGlu6 (rétine)		↑ Phosphodiestérase, ↑ GMPc	Agonistes : L-AP4 ; L-SOP ; ACPT-I Antagonistes : MSOP ; MAP4 ; DCG-IV ; CPPG
mGlu7		**↓ Adénylate cyclase** **↓ Canaux Ca^{2+} de type N et P/Q**	**Agonistes : L-AP4 ; L-SOP ; *AMN082**** **Antagonistes : MSOP ; MAP4 ; CPPG ; *MMPIP** + ADX71743***
mGlu8		↓ Adénylate cyclase ↓ Canaux Ca^{2+} de type N	Agonistes : L-AP4 ; L-SOP ; 3,4-DCPG ; ACPT-I Antagonistes : MSOP ; MAP4 ; DCG-IV ; CPPG

Les modulateurs allostériques sont indiqués avec une astérisque. Les agents controversés sont indiqués en italique. Notez que l'ADX71743 (Addex Therapeutics et Françine Acher) n'est pas encore commercialisé. Modifié de [474] et [351].

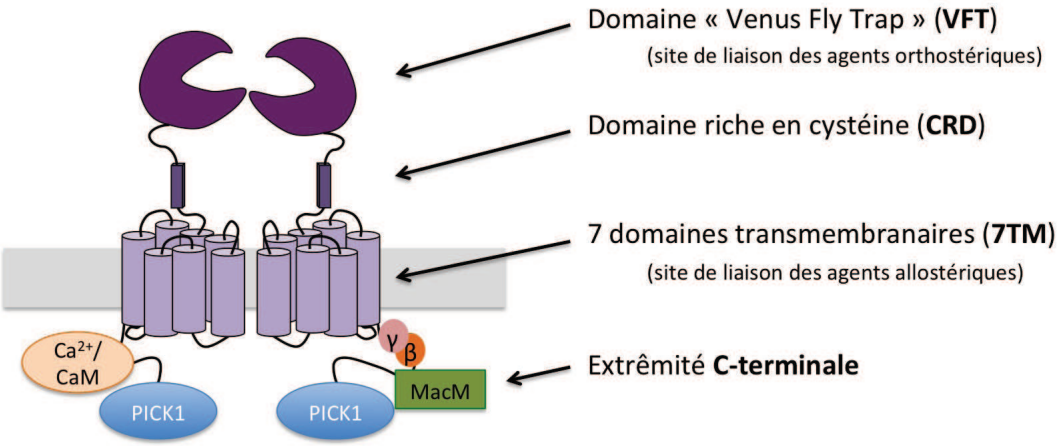


FIGURE I.6 – **Représentation du récepteur mGlu7 dimérique et de ses principaux partenaires protéiques.**

Le récepteur mGlu7a présente une organisation fonctionnelle homodimérique. La liaison du glutamate dans le VFT induit une modification conformationnelle relayée au niveau intracellulaire via les domaines CRD et 7TM, alors que la liaison d'un agoniste allostérique modifie directement la conformation des 7TM du récepteur. L'augmentation du taux de Ca^{2+} intracellulaire induirait la liaison de la calmoduline (CaM) au récepteur et le découplage de la protéine MacMARCKs (MacM) et des sous-unités $\beta\gamma$ de la protéine Go avec la partie C-terminale du récepteur. Dans cet état, les sous-unités $\beta\gamma$ induiraient l'inhibition des canaux calciques voltage-dépendant. D'après [351].

changements conformationnels des VFT se répercutent au niveau intracellulaire. Deux domaines jouent un rôle important dans ce transfert. Le premier, situé au niveau N-terminal, est appelé "domaine riche en cystéine" (Cystein-rich domain, CRD) car il contient neuf résidus cystéines, dont huit sont liés par des ponts disulfure [339]. La neuvième cystéine est elle liée par un pont disulfure avec une cystéine dans le lobe 2 d'un VFT : cette liaison est cruciale pour la propagation du signal entre les VFT et le CRD [407]. Le second domaine est constitué des sept hélices transmembranaires (7TM) reliées entre-elles par 3 boucles intracellulaires. La spécificité du couplage du récepteur avec la protéine G serait régulée par la boucle intracellulaire i2 [391, 128]. La majorité des modulateurs allostériques agissent au niveau des 7TM : les modulateurs allostériques positifs (PAM) n'activent pas directement le récepteur, mais potentialisent la réponse du récepteur à des agonistes orthostériques, alors que les modulateurs allostériques négatifs (NAM) inhibent cette réponse [389, 206] (voir Fig.I.6). Enfin, le domaine C-terminal intracellulaire est crucial pour moduler la liaison du récepteur avec une protéine G et transduire le signal. Cette région présente des épissages alternatifs et des modifications post-traductionnelles importantes et supporte les interactions entre le récepteur et de nombreuses protéines intracellulaires [163]. Comme pour les iGluRs, les interactions avec les protéines intracellulaires sont nécessaires pour le contrôle de l'adressage, la stabilisation, la conformation ou encore du recyclage des mGluRs [185, 50, 158, 297].

I.2.3.1 Récepteurs mGlu du groupe I

Les mGluRs présentent un profil d'expression et une régulation spatio-temporelle propre [290]. Chez l'adulte, les récepteurs mGlu du groupe I (récepteurs mGlu1 & 5) sont localisés majoritairement à la périphérie des densités postsynaptiques (PSD) [29, 291], bien qu'on les trouve également à la présynapse, dans des régions extrasynaptiques et dans les astrocytes. Ils sont exprimés de façon ubiquitaire dans le cerveau, mais principalement dans les cellules pyramidales de l'aire CA3 de l'hippocampe, dans les cellules de Purkinje du cervelet, dans le bulbe olfactif et dans le thalamus. Les récepteurs mGlu5 sont majoritairement localisés dans le cortex, le striatum, le noyau accumbens, les aires CA1 et CA3 de l'hippocampe et les cellules granulaires du bulbe olfactif [246]. On retrouve également ces récepteurs hors du cerveau, dans les afférences terminales de la peau [44], les mélanocytes [172], les ostéoblastes [198], les cellules cardiaques [190], les thymocytes [465] et les cellules hépatocytaires [466].

Ces récepteurs sont couplés à une protéine Gαq/11 : leur activation engendre l'hydrolyse de phosphoinositide par la phospholipase C [308, 2, 12], la libération de Ca^{2+} et l'activation de la protéine kinase C (PKC) (Table I.5). Cette dernière active à son tour les phospholipases D et A2 et la voie des MAPK [213]. Cependant, les récepteurs mGlu du groupe I sont également capables, dans une moindre mesure, d'activer les protéines de types Gαs et Gαi/o, selon le type de variant du récepteur et le système d'expression dans lequel il se trouve [295].

Les mGluRs du groupe I modulent l'activité de différents canaux ioniques. Ils peuvent inhiber des canaux calciques [279, 475], moduler positivement ou négativement des canaux potassiques [162, 427] et enfin augmenter la probabilité d'ouverture des récepteurs NMDA via la PKC [289]. Ces effets peuvent induire une dépolarisation postsynaptique et une adaptation de la décharge des neurones. Les mGluRs du groupe I sont également capables d'activer des voies de signalisation indépendamment de leur protéine G. Par exemple, ils peuvent activer la phospholipase D, ce qui conduit à la formation de DAG [237, 426]. Ils peuvent également moduler les courants postsynaptiques excitateurs dans des neurones hippocampiques en activant la voie Src (une tyrosine kinase) [215].

Comme beaucoup de RCPG, les mGluRs du groupe I peuvent désensibiliser. Dans la plupart des cas, la désensibilisation est déclenchée par une phosphorylation du récepteur, gouvernée principalement par la PKC et les GRKs (*G protein-coupled Receptor Kinases*). Suite à sa phosphorylation, le récepteur est reconnu par la β-arrestine qui le découple de sa protéine G. La β-arrestine induit le recrutement de la clathrine, qui permet l'endocytose du récepteur. Une fois internalisé, il sera soit « re- sensibilisé » par déphosphorylation et ré-adressé à la membrane, soit envoyé vers les lysosomes où il sera dégradé [136]. L'internalisation des mGluRs du groupe I peut être constitutive, ou induite par l'agoniste.

Les mGluRs du groupe I jouent un rôle important dans l'induction de plasticité synaptique à long terme, impliquée dans l'apprentissage et la mémoire [405, 294]. On observe en effet un défaut de LTP hippocampique et d'apprentissage ainsi qu'un défaut de LTD dans le cervelet chez les souris invalidées pour le gène codant pour la sous-unité mGlu1 [106]. De plus, un rôle dans le développement et la différentiation neuronale a été décrit [169, 207], ainsi que dans la dégénérescence neuronale [66] et dans l'induction de la réactivité astrocytaire [16].

I.2.3.2 Récepteurs mGlu des groupes II et III

Les récepteurs du groupe II (récepteurs mGlu2 et 3) et du groupe III (récepteurs mGlu4, 6, 7 et 8) sont nettement moins bien caractérisés que ceux du groupe I. Ils sont principalement présynaptiques et sont très largement exprimés dans le SNC [105].

Concernant le groupe II, le récepteur mGlu2 est plutôt exprimé à la périphérie des zones

actives présynaptiques, mais on le trouve également au niveau postsynaptique [345], alors que le récepteur mGlu3 est exprimé autant au niveau présynaptique qu'au niveau postsynaptique, ainsi que sur certaines cellules gliales [384, 17].

Parmi tous les mGluRs, le récepteur mGlu7 montre de loin l'expression la plus répandue dans le SNC ; il fait l'objet de cette thèse et sera décrit en détail dans la partie I.3. Concernant les autres mGluRs du groupe III, une étude en microscopie optique et électronique a démontré que le récepteur mGlu4 est aussi largement exprimé dans le SNC, notamment dans le cervelet, l'hippocampe, le bulbe olfactif, la moelle épinière et le thalamus [355]. On le trouve au niveau présynaptique, au sein de la zone active [310], dans les synapses asymétriques (glutamatergiques) en tant qu'autorécepteur et symétriques en tant qu'hétérorécepteur, alors que son expression postsynaptique n'a été observée que dans les synapses asymétriques [57]. Le récepteur mGlu8 montre une distribution plus restreinte, dispersée dans le cortex et certains noyaux thalamiques et plus robuste dans le cervelet et le bulbe olfactif. Il est exprimé principalement dans les zones actives présynaptiques [436], sauf dans la rétine où il est observé aux niveaux postsynaptiques et extrasynaptiques [255]. Il joue également un rôle développemental. L'expression du récepteur mGlu6 est quant à elle restreinte à la rétine, dans les postsynapses des cellules bipolaires ON [60].

Les récepteurs des groupes II et III sont couplés aux protéines Gi/o (Table I.5). Ces protéines G inhibent la production d'AMPc en freinant l'activité de l'adénylate cyclase (AC) et modulent directement l'activité de canaux ioniques et autres partenaires transducteurs via la libération de la sous-unité $\beta\gamma$ [105] (voir Table I.4). Cela aboutit à une diminution du Ca^{2+} présynaptique et de la libération de neurotransmetteur. Parmi ceux du groupe III, le récepteur mGlu4 se couple également avec la protéine Gq, aboutissant à l'activation de la voie PLC-PKC [3]. Les voies de signalisation du récepteur mGlu7a seront décrites plus précisément dans la partie I.3.3. Leur activation induit notamment l'inhibition de canaux Ca^{2+} et module des canaux K^+. Par conséquent, les récepteurs présynaptiques diminuent la probabilité de libération vésiculaire de neurotransmetteurs [187, 59] et certains inhibent aussi les réponses postsynaptiques. En plus de réguler l'excitabilité neuronale, ces récepteurs jouent d'autres rôles importants, comme par exemple la régulation du métabolisme, la transcription génique et participent à la fonction gliale et à la communication neurone-cellule gliales.

Cependant, tout comme les récepteurs du groupe I, ces récepteurs peuvent aussi activer d'autres voies de signalisation indépendantes de la protéine G, dont l'activation des MAPK et de la phosphatidylinositol-3-kinase [223] et ils présentent également une désensibilisation suite à leur activation prolongée par un agoniste [136]. Enfin, comme les autres récepteurs du glutamate, ils interviennent dans les mécanismes de plasticité à long terme (présynaptique et postsynaptique), notamment la LTD [186, 10, 365].

I.2.3.3 Neuropathologies associées aux mGluRs

La compréhension des rôles physio-pathologiques d'un RCPG fait souvent appel à des techniques génétiques. Parmi les mGluRs, les récepteurs mGlu1 furent les premiers à être inactivés chez la souris. Depuis, tous les mGluRs ont été génétiquement délétés (*Knock-Out*) chez la souris : ces études ont démontré des rôles potentiels de chaque récepteur dans les fonctions cellulaires et dans différents états physio-pathologiques. Le développement d'outils pharmacologiques et électrophysiologiques a permis de compléter ces études, dévoilant un large spectre d'action des mGluRs.

Les mGluRs du groupe I sont impliqués dans diverses formes d'excitotoxicité, qui sont parfois accompagnées d'une dérégulation gliale [311]. Quelques exemples non-exhaustifs sont

les ischémies [338], l'épilepsie [324], les maladies de Huntington [479], de Parkinson [88] et d'Alzheimer [402] ; ils sont aussi impliqués dans le syndrome de l'X fragile [30], l'anxiété [27], l'addiction aux drogues [91], l'ataxie [413], la nociception [282] et dans la schizophrénie [103].

Les mGluRs des groupes II et III ont un rôle généralement antagoniste à ceux du groupe I : leur activation est souvent neuroprotectrice et optimisante pour les fonctions cognitives [105, 418]. Citons par exemple leurs effets bénéfiques chez les modèles murins de psychoses [335], de troubles de l'anxiété et de stress [283], d'épilepsie [85], des maladies de Huntington [70] Parkinson [412] et Alzheimer [273], la schizophrénie [334], ainsi que de nociception [178]. Le dysfonctionnement du récepteur mGlu6 a lui été associé à différentes formes de cécité congénitale stationnaire nocturne [523] et autres troubles de la vision [307]. Les pathologies associées au récepteur mGlu7 seront présentées dans la section I.3.

Les mGluRs constituent des cibles thérapeutiques puissantes contre un grand nombre de troubles neurologiques et psychatriques [66, 351]. L'avantage des drogues visant les mGluRs réside en la modulation subtile de la transmission glutamatergique et GABAergique et permet d'éviter les effets secondaires liés à l'usage d'agonistes ou antagonistes des iGluRs.

I.3 Le récepteur métabotropique au glutamate 7 (mGlu7)

I.3.1 Le gène *GRM7* et ses variants d'épissages

Le gène codant pour la sous-unité mGlu7 (*GRM7*) montre la plus forte conservation au cours de l'évolution parmi tous les *GRMs*, des plus petits organismes eucaryotes aux primates [358]. *GRM7* possède deux variants d'épissage distincts : mGlu7a et mGlu7b [170] (voir Fig.I.7). *GRM7* possède également des variants exprimés dans des tissus non-neuronaux : mGlu7c, d et e [422], mais ces isoformes n'ont jamais été confirmées par hybridation in-situ, immunohistochimie, ni par analyses fonctionnelles et restent donc méconnues.

La taille totale des ADNc codant pour les sous-unités mGlu7a et b humaines diffèrent au niveau de l'extrémité C-terminale (3') de la région codante par l'insertion alternative de 92 nucléotides. Ils codent pour deux protéines de 915 et 922 acides aminés respectivement [170, 111]. Dans mGlu7b, les 15 derniers acides aminés de mGlu7a sont remplacés par une nouvelle séquence de 23 acides aminés ne présentant pas de similarité avec le C-terminal des autres mGluRs.

I.3.2 Localisation du récepteur mGlu7 dans le SNC mammalien

Quelques études d'hybridation in-situ et d'immunocytochimie ont révélé la distribution des ARNm et des protéines mGlu7 dans le cerveau mammalien. mGlu7a est l'isoforme majeure du SNC [249] et a donc été étudiée plus en détail. Ainsi, la plupart des anticorps générés à ce jour sont dirigés contre mGlu7a. La grande difficulté dans l'étude du récepteur mGlu7 réside dans le manque d'outils pharmacologiques spécifiques. Kinoshita et ses collègues avaient réussi à générer un anticorps spécifique contre mGlu7a [249] et ce même anticorps a été utilisé jusqu'à épuisement dans la plupart des études réalisées jusqu'à aujourd'hui. A l'heure actuelle, il existe quelques anticorps commerciaux, mais l'obtention d'un marquage spécifique reste un défi (voir partie II.1).

L'utilisation de ces anticorps a permis de révéler une expression plus vaste du récepteur mGlu7a comparé aux autres mGluRs chez le rat et la souris [250, 298, 249, 254]. Le niveau d'expression du récepteur mGlu7a évolue au cours du développement et est régulé différemment selon les régions cérébrales [58]. Les ARNm de mGlu7a sont faiblement détectés à la naissance

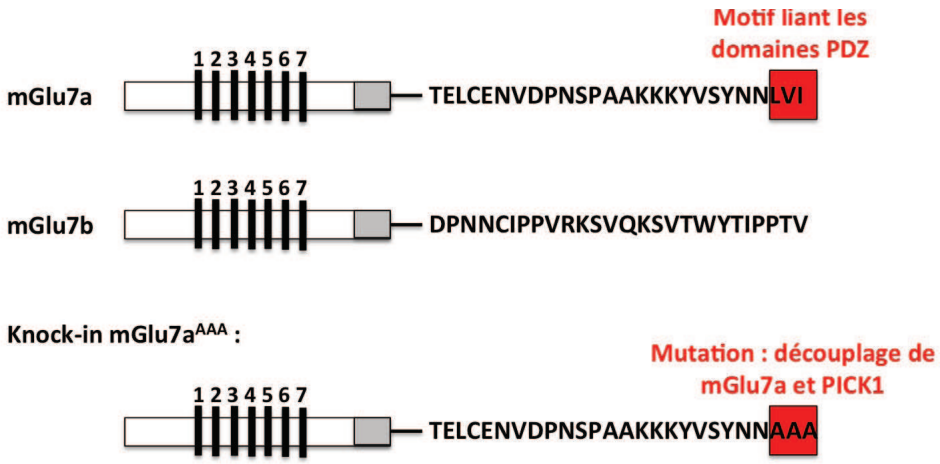


FIGURE I.7 – **Variants d'épissage du récepteur mGlu7 et mutation du domaine PDZ-ligand chez la souris mGlu7^{AAA}.**

Représentation schématique des deux variants d'épissage du récepteur mGlu7, mGlu7a et mGlu7b. Les sept régions transmembranaires sont indiquées par les barres noires numérotées. Leurs séquences diffèrent au niveau des 26 derniers acides aminés de l'extrémité C-terminale. Chez la souris knock-in (KI) pour mGlu7a, les trois derniers acides aminés formant le domaine PDZ-ligand (leucine, valine, isoleucine, LVI) ont été remplacés par trois alanines (AAA).

et augmentent pendant le développement postnatal. Dans le cortex (hippocampe, néocortex et cortex olfactif), les analyses immunohistochimiques ont révélé un niveau d'expression maximal au septième jour postnatal (P7) et à P14, qui décline chez les rats plus âgés [58]. Au contraire, les niveaux d'expression de mGlu7a dans le pons, la médulla et le cervelet sont plus élevés à P7 puis déclinent jusqu'à P14 et se stabilisent. Chez l'adulte, les niveaux protéiques de mGlu7a sont particulièrement élevés dans les aires sensorielles, comme le cortex piriforme et entorhinal, le colliculus supérieur, le noyau cochléaire dorsal, le bulbe olfactif, ou encore l'hippocampe, le noyau réticulaire thalamique (NRT), le striatum, le globus pallidus et le nerf facial. On le trouve aussi dans la moelle épinière. Par contre, les immunomarquages sont rarement détectés dans le noyau septal médian, le noyau ventro-postéro-médian (VPM), l'aire tegmentale ventrale, le noyau oculomoteur et les noyaux cérébelleux [249, 58]. L'expression du récepteur mGlu7, ainsi que les autres mGluRs du groupe III dans les régions thalamo-corticales est récapitulée dans la Table I.6.

Dans les régions néocorticales, l'immunomarquage du récepteur mGlu7a est plus disperse. Il est intense dans la couche I corticale, modéré dans les couches II, III et V et faible dans les couches IV et VI. Dans l'amygdale, un marquage intense à modéré a été observé dans les régions corticales périamygdaloïdes. Dans l'hippocampe, le récepteur mGlu7a est fortement exprimé dans les aires CA1 (dans le stratum oriens, le stratum radiatum, plus modérément dans le stratum lacunosum-moleculare) et CA3 (dans le stratum lacunosum-moleculare, plus modérément dans le stratum oriens et le stratum radiatum et faiblement dans le stratum lucidum). Le gyrus denté montre aussi une forte expression de mGlu7a dans la couche moléculaire, mais pas dans la couche granulaire [249]. En plus d'une large distribution au sein du SNC, la localisation présynaptique du récepteur mGlu7 lui confère un rôle clé dans le contrôle de la neurotransmission. Il est en effet adressé principalement au niveau des zones actives glutamatergiques. Cependant, il a aussi été détecté dans certaine zones actives GABAergiques,

TABLE I.6 – **Expression des mGluRs du groupe III dans la boucle thalamo-corticale.**

Région cérébrale	Expression de mGlu7a	Autres mGluRs co-exprimés
Thalamus		
VPM	–	4
NRT	+	8
Cortex Somatosensoriel S1		
Couche II/III	++	4, 8
Couche IV	+	4, 8
Couche VI	+	4, 8

notamment dans l'hippocampe [436, 451], l'hypothalamus [420] et le cortex somatosensoriel [124].

L'expression précise du récepteur mGlu7 dans les différents sous-types cellulaires reste cependant largement méconnue. L'expression du récepteur mGlu7 au sein du réseau thalamo-cortical est étudiée dans le cadre de cette thèse (voir section I.7).

I.3.3 Signalisations et fonctions : voie PICK1 et inhibition des canaux Ca_v

Comme tous les mGluRs, la topologie du récepteur mGlu7 est typique des RCPG, comportant un domaine à 7 hélices transmembranaires, un domaine C-terminal intracellulaire et un domaine N-terminal extracellulaire où se situe le site de liaison au glutamate [167] (voir section I.1.4 et Fig.I.6). Généralement, le récepteur mGlu7 fonctionne sous forme d'homodimère [263].

Le domaine C-terminal du récepteur mGlu7 peut lier la calmoduline (une protéine sensible au Ca^{2+}), les sous-unités $\beta\gamma$ des protéines Go trimériques ($G\alpha o\beta\gamma$), la protéine GRIP, la synthénine, la "*macrophage myristoylated alanine-rich c-kinase substrate*" (MacMARCKS), ainsi que la protéine interagissant avec la protéine kinase C 1 (*Protein Interacting with C Kinase 1*, PICK1) au niveau du motif PDZ-ligand [135, 152]. PICK1 joue un rôle crucial pour la fonction de ce récepteur : elle régule notamment l'échafaudage et l'agrégation du récepteur mGlu7 à la synapse [54, 468], et comme nous allons le voir, attribue au récepteur mGlu7 des voies de signalisation non-canoniques.

Le couplage du récepteur mGlu7 aux protéines Gi/o a été montrée dans des préparations de synapsosomes et de façon indirecte [326]. Une cascade non-canonique dépendante de la Ca^{2+}/calmoduline et de la protéine kinase C (PKC) [341, 379], et nécessitant l'interaction du récepteur avec PICK1 a été démontrée dans les neurones (Fig.I.8a,b).

Plus précisément, lorsqu'un agoniste lie le récepteur mGlu7, celui-ci active la protéine Go ; la sous-unité αo inhibe l'AC alors que les sous-unités $\beta\gamma$ stimulent la phospholipase C (PLC), induisant la formation de seconds messagers DAG et d'IP3. PICK1 lie et maintient la PKC à proximité du récepteur, permettant son activation par ces seconds messagers. La PKC médie l'inhibition des canaux calciques voltage-dépendants de type P/Q et/ou de type N [327]. Comme nous l'avons mentionné précédemment, ces canaux sont particulièrement importants pour générer l'influx calcique dans la présynapse. Les neurones thalamiques expriment à la fois les canaux Ca_v de type N et de type P/Q (Table I.7). Le récepteur mGlu7 est donc susceptible d'inhiber ces deux canaux dans leurs terminaisons axonales. L'inhibition de l'entrée de Ca^{2+} dans la présynapse diminue la libération de neurotransmetteur et inhibe donc la transmission

synaptique [379, 378]. Certains travaux ont démontré que la diminution de l'AMPc ne participe que faiblement à la modulation mGlu7-dépendante de la neurotransmission [326, 305], suggérant que l'activation du récepteur mGlu7 abouti principalement l'inhibition des canaux Ca_v.

Le récepteur mGlu7 agit comme un autorécepteur, qui inhibe la libération de glutamate. D'autres travaux ont également attribué un rôle d'hétérorécepteur à mGlu7, capable d'inhiber la libération de GABA dans des présynapses hippocampiques [425] et hypothalamiques [420].

Une propriété notable du récepteur mGlu7 est de présenter une affinité très faible pour le glutamate par rapport aux autres mGluRs [358, 105, 514, 409], de l'ordre du millimolaire (EC50 $\approx$ 1 mM). Il a été proposé que le récepteur mGlu7 est inactif lors de la neurotransmission normale et n'interviendrait que lors d'activités synaptiques élevées engendrant une forte libération de glutamate [352, 351]. Caldwell et al. ont démontré un lien entre la concentration en Ca^{2+} intracellulaire et l'efficacité de l'activation du récepteur mGlu7 par le L-AP4 dans des ovocytes de Xenope [71]. La calmoduline lie le récepteur de façon compétitive avec les sous-unités $G\beta\gamma$ [354]. L'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire induit le couplage de la calmoduline avec le récepteur et par conséquent une meilleure activation de la voie mGlu7/PICK1 via la $G\beta\gamma$ et la PKC, aboutissant à une inhibition efficace des Ca_v. Les auteurs en ont conclu que le récepteur mGlu7a freine la libération de glutamate quand l'entrée de Ca^{2+} est trop importante. Cela qui lui confère une propriété de *"filtre passe-bas"* car il freine les réponses synaptiques des activités à hautes fréquences (responsables de fortes entrées de Ca^{2+}).

Table I.7 – **Classification des canaux Ca^{2+} voltage-dépendants et expression dans les neurones thalamiques.**

Type de courant Ca^{2+}	Sous-unité $\alpha 1$	Expression dans le NRT et le VPM
Canaux à haut seuil d'activation		
L	$Ca_v1.1$	-
	$Ca_v1.2$	NRT, VPM
	$Ca_v1.3$	NRT, VPM
	$Ca_v1.4$	-
P/Q	$Ca_v2.1$	NRT, VPM
N	$Ca_v2.2$	NRT, VPM
R	$Ca_v2.3$	NRT
Canaux à bas seuil d'activation		
T	$Ca_v3.1$	VPM
	$Ca_v3.2$	NRT
	$Ca_v3.3$	NRT

On distingue les canaux Ca_v à haut-seuil d'activation (qui s'activent lorsque le potentiel de membrane est supérieur à -50 mV) et ceux à bas-seuil (qui s'activent lorsque le potentiel de membrane atteint environ -70 mV). Remarquez que les deux canaux Ca_v inhibés par la voie mGlu7a-PICK1, les canaux de type P/Q et de type N, sont co-exprimés dans les présynapses thalamiques. D'après les données de [501].

De plus, il a été observé pour d'autres RCPG que les sous-unités $\beta\gamma$ peuvent également

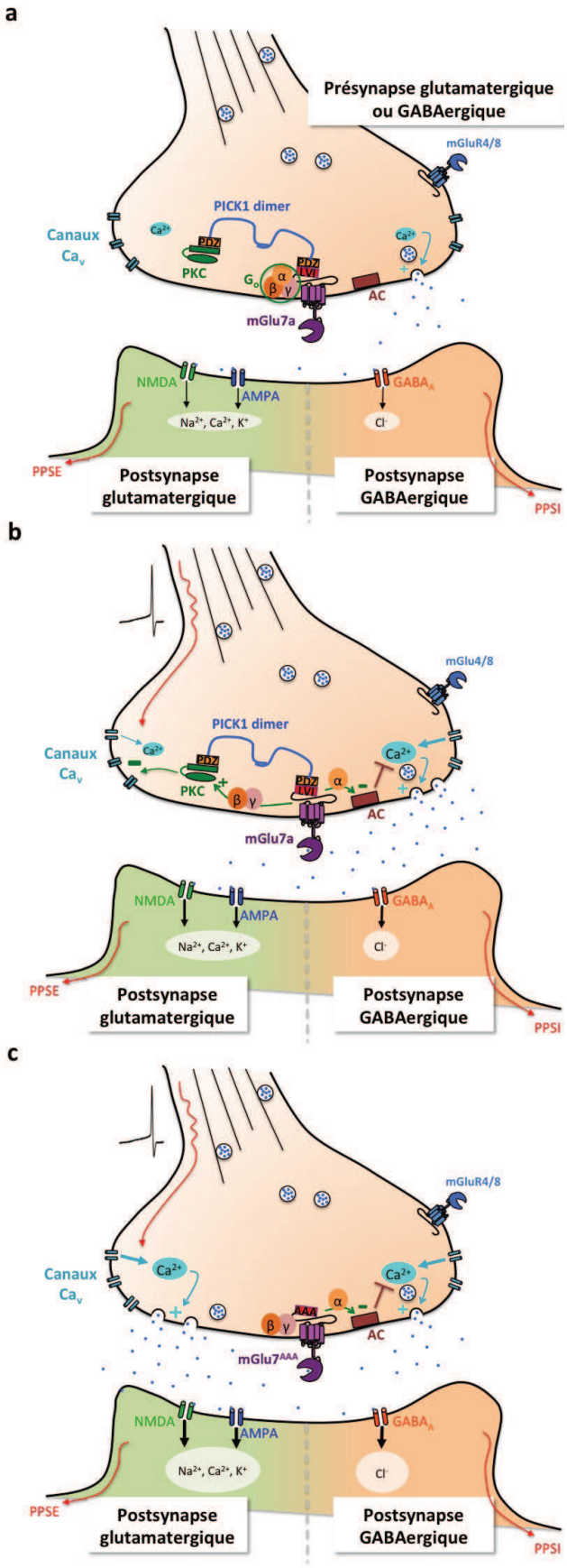


FIGURE I.8 – **Modulation de l'activité synaptique par le récepteur mGlu7a.**
(a) Au repos, la faible concentration de Ca^{2+} présynaptique induit la fusion de quelques vésicules à la membrane, aboutissant à de petits potentiels postsynaptiques spontanés. Dans cet état, mGlu7 (représenté à l'état de monomère par simplification) ne présente pas d'activité agoniste-dépendante car la concentration en glutamate dans la fente synaptique est largement inférieure au niveau requis pour activer le récepteur. (b) Un potentiel d'action arrive au niveau présynaptique et induit l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants (Ca_v). Le glutamate libéré à la synapse active le récepteur mGlu7 lorsque sa concentration atteint un niveau suffisant et induit l'activation de la protéine Go. La sous-unité α_o se dissocie des sous-unités $\beta\gamma$ et inhibe l'adénylate cyclase (AC) : cette voie aboutit à la diminution du taux d'AMPc et à la fermeture de canaux calciques, inhibant ainsi la libération de neurotransmetteur. Les sous-unités $\beta\gamma$ quant à elles activent la PKC maintenue à proximité du récepteur grâce à un dimère de PICK1 ; dans ces conditions la PKC induit à son tour la fermeture des canaux calciques voltage-dépendants, inhibe l'entrée de calcium et par conséquent la libération de neurotransmetteur. (c) Chez la souris knock-in mGlu7^{AAA}, le domaine de liaison de mGlu7a avec PICK1 est muté, ce qui aboli le couplage de mGlu7a avec PICK1. La PKC ne peut plus être activée par les sous-unités $\beta\gamma$ et la voie de signalisation aboutissant à l'inhibition des canaux Ca_v n'est plus fonctionnelle, alors que la voie dépendante de l'AMPc l'est toujours.

inhiber directement l'exocytose des vésicules [47] et exercer une inhibition tonique des canaux Ca^{2+} voltage-dépendants, en l'absence d'agoniste (voir [31] par exemple). Bertaso et ses collègues ont démontré que MacMARCKS antagonise une inhibition tonique des canaux Ca^{2+} de type P/Q, dépendante du récepteur mGlu7, suggérant une activité constitutive de mGlu7a [40]. Cependant, aucune démonstration formelle d'activité constitutive du récepteur mGlu7 n'a été proposée à ce jour.

Une étude comparant l'effet de différents agonistes et antagonistes des mGluRs du groupe III sur le taux de glutamate ambiant (voir section I.1.6) a démontré que le récepteur mGlu7 inhibe la libération non-vésiculaire de glutamate dans le noyau accumbens [516]. Cet effet dépend des antiporteurs cystine-glutamate et suggère un rôle essentiel du récepteur dans le contrôle des niveaux ambiants de glutamate.

En plus de son rôle dans la neurotransmission, le récepteur mGlu7 est aussi impliqué dans différentes formes de plasticité synaptique. Par exemple, dans des tranches d'hippocampe, l'activation du récepteur mGlu7 combinée à une stimulation à haute fréquence des synapses entre les fibres moussues hippocampiques et les interneurones du stratum lucidum induit une LTD présynaptique. Cette LTD dépend d'une inhibition des canaux Ca^{2+} de type P/Q via la voie PICK1 et PKC. Par contre, lorsque l'activation du récepteur mGlu7 est prolongée, cela induit une internalisation (désensibilisation) du récepteur. Dans ce cas, la plasticité générée par stimulation à haute fréquence devient alors une LTP présynaptique [375]. Cette LTP ne dépend pas simplement de la désinhibition des canaux Ca^{2+}, mais dépend également de la voie PKA-AMPc [376]. Cela confère au récepteur mGlu7 un rôle important dans l'apprentissage et la mémoire.

Étant donné son expression ubiquitaire au sein du SNC, notamment au niveau des régions somatosensorielles, motrices et celles associées aux émotions et à la peur, le récepteur mGlu7 participe à un grand nombre de fonctions cérébrales que les études pharmacologiques et génétiques commencent peu à peu à décrypter [352]. Cependant, de nombreuses incertitudes demeurent quant au rôle propre du récepteur mGlu7 au sein des réseaux neuronaux. Un nombre croissant d'études dénote un effet du récepteur au sein de neurones non-glutamatergiques, mais il s'avère difficile de déterminer avec certitude les sous-types cellulaires impliqués à cause de la pauvre pharmacologie spécifique de ce récepteur.

D'autres questions quant à l'activation spatio-temporelle du récepteur mGlu7 se posent également. Physiologiquement, il semble peu probable que des taux de glutamate de l'ordre du mM soient atteints au niveau des synapses GABAergiques dans lesquelles le récepteur mGlu7 est souvent exprimé, ainsi qu'au niveau extracellulaire. De plus, le dysfonctionnement du récepteur mGlu7 induit de graves phénotypes pathologiques qui seront décrits dans la section suivante, difficilement attribuables à un simple rôle de filtre passe-bas. La contribution réelle de mGlu7 dans la neurotransmission semble donc mal comprise et suggère une implication plus tonique du récepteur au sein du SNC. La possibilité d'une activité constitutive du récepteur sera discutée dans le cadre de cette thèse (voir section I.7).

I.3.4 Outils pharmacologiques et génétiques

Les récepteurs mGlu du groupes III et mGlu7 en particulier sont encore mal caractérisés à cause de leur pharmacologie limitée. Jusqu'à très récemment, il n'existait aucun agent pharmacologique agissant spécifiquement sur le récepteur mGlu7 [351]. La plupart sont en effet des ligands de plusieurs mGluRs du groupe III, ou agissent sur d'autres composants intracellulaires, masquant ainsi l'effet propre de mGlu7 (Table I.5). Ce biais est d'autant plus important que les mGluRs du groupes III sont souvent exprimés dans des mêmes synapses, où ils agissent

de façon similaire.

Les agents pharmacologiques agissent soit de façon orthostérique (en liant la poche de liaison au glutamate dans le domaine VFT, au niveau extracellulaire), soit de façon allostérique (en s'intercalant généralement entre les sept hélices transmembranaires) en induisant une activation ou une inhibition indépendamment de la présence de l'agoniste [93, 312].

Le premier agoniste orthostérique des récepteurs du groupe III découvert fût le L-AP4. Ce composé présente une affinité pour les récepteurs mGlu4 et mGlu8 (EC50 $\approx 0.5 - 5$ μM) nettement supérieure à mGlu7 (EC50 $\approx 100 - 500$ μM) [182]. Des propriétés similaires ont été trouvées pour la L-SOP et le (S)-PPG [105, 182]. Ces trois composés ne traversent pas la barrière hémato-encéphalique et ont donc rarement été utilisés *in vivo*. Depuis, de nouveaux agonistes orthostériques présentant une fonction carboxylique, capable de traverser la BHE, ont été mis au point, tels que l'ACPT-I et le (S)-DCPG [4, 368]. La spécificité de ces composés laisse toujours à désirer.

Des antagonistes orthostériques ont aussi été découverts. Les analogues du L-AP4 et du L-SOP, appelés MAP4 et MSOP, sont sélectifs des mGluRs du groupe III. D'autres dérivés plus efficaces ont été décrits quelques années plus tard, notamment le CPPG et le MPPG [419, 272]. Tous ces antagonistes ne traversent que faiblement la BHE et agissent sur les quatre mGluRs du groupe III. Un antagoniste des mGluRs du groupe II, le LY341495, antagonise également les mGluRs du groupe III.

Des modulateurs allostériques ont aussi été développés. Le premier modulateur allostérique positif (PAM) du récepteur mGlu7 est l'AMN082 [331]. Ce composé a fait l'objet d'un grand nombre d'études *in vivo* ; malheureusement, plusieurs travaux ont par la suite révélé une action non-spécifique de l'AMN082. Par exemple, contrairement au L-AP4, l'AMN082 n'induit pas de mobilisation calcique [471], ni d'activation des canaux GIRK et n'active pas le récepteur mGlu7 au niveau des collatérales de Schaeffer hippocampiques [24]. Cela démontre une activité de l'AMN082 dépendante du contexte, différente selon les systèmes *in vitro* et les voies de signalisations engagées. De plus, *in vivo* l'AMN082 est rapidement métabolisée en Met-1, qui lie le transporteur aux monoamines (sérotonine, dopamine, noradrénaline...) [406].

Des problèmes similaires ont été observés avec la découverte du premier modulateur allostérique négatif (NAM) du récepteur mGlu7, le MMPIP. Ce NAM inhibe la mobilisation calcique induite par le L-AP4, mais n'empêche pas l'inhibition de l'accumulation de AMPc, ni l'activation des canaux GIRK, ni l'inhibition de la transmission synaptique induite par le L-AP4 au niveau de l'hippocampe [350]. Ici encore, l'activité de ce composé semble dépendant du contexte cellulaire et n'agit que sur certaines voies de signalisation, induisant un antagonisme permissif [245]. Les résultats obtenus avec l'AMN082 et le MMPIP doivent donc être interprétés avec prudence [351].

Très récemment, un nouveau NAM appelé ADX71743 a été mis au point par Addex Therapeutics puis synthétisé par Françine Acher (voir détails dans la section II.3). Ce composé présente une bonne affinité pour le récepteur mGlu7 et semble agir de façon spécifique et efficace [235], ouvrant enfin de meilleures perspectives quant à l'étude du récepteur mGlu7.

Parallèlement aux outils pharmacologiques, des modèles animaux mutants pour le récepteur mGlu7 ont aussi été créés. Des souris déficientes pour mGlu7 (knockout mGlu7$^{-/-}$) ont été générées en 1998 [309]. Plus récemment en 2008, des souris knock-in mutées spécifiquement au niveau du motif PDZ-ligand de mGlu7a, le site de liaison avec PICK1, ont été générées [524]. Les trois acides aminés du motif PDZ-ligand (leucine, valine et isoleucine, LVI) ont été remplacés par trois alanines (AAA, Fig.I.7) : cette mutation empêche le couplage de PICK1 avec mGlu7a et par conséquent les voies de signalisation associées à ce couplage fonctionnel sont spécifiquement abolies (Fig.I.8c).

De façon surprenante, les phénotypes des souris mGlu7 knockout (KO) et mGlu7^{AAA} knock-in (KI) sont relativement différents. Cela suggère que la voie mGlu7/PICK1 menant à l'inhibition des canaux Ca_v supporte des fonctions spécifiques, masquées lorsque le récepteur est totalement délété des présynapses. Nous avons donc utilisé le modèle de souris KI mGlu7^{AAA} pour décrypter le rôle spécifique de la voie mGlu7/PICK1. Il est en effet important de remarquer que des mécanismes de compensation se mettent souvent en place lors d'une délétion génique [251, 302] : des protéines similaires peuvent tenter de compenser la fonction du récepteur absent en modifiant leur expression ou leur activité. Ce mécanisme de compensation est d'autant plus probable pour les récepteurs mGlu du groupe III, qui sont souvent exprimés de façon concomitante et dont l'activation a toujours un effet inhibiteur. La compensation de l'absence du récepteur mGlu7 par une augmentation de l'expression et/ou de l'activité des récepteurs mGlu4 et 8 pourrait participer à l'induction de certaines différences phénotypiques chez les souris KO par rapport aux souris KI. O'Connor et ses collègues ont d'ailleurs montré que l'injection d'un ARN interférent (siARN) inactivant l'ARNm de mGlu7 chez la souris adulte induit un phénotype différent que celui des KO : cela montre un effet différentiel entre l'absence totale du récepteur comparé à l'inactivation ponctuelle du récepteur, semblant confirmer des mécanismes de compensation supplémentaires chez le KO [353].

De plus, de par ses différentes voies de signalisation aboutissant à la modulation du taux de Ca^{2+} intracellulaire, le récepteur mGlu7 pourrait éventuellement participer à la mise en place des réseaux neuronaux. L'absence du récepteur mGlu7 pourrait donc induire des modifications développementales chez les souris mutantes. Ces deux biais n'ont jamais été vérifiés. Les souris KO présentent également des niveaux réduits d'enzymes impliquées dans la synthèse de GABA, les GAD65 et GAD67 et de la reeline [507]. Le phénotype des souris KO résulte donc d'une accumulation potentielle de plusieurs facteurs qui pourraient directement ou indirectement être liés à l'absence du récepteur mGlu7.

I.3.5 Récepteur mGlu7 et neuropathologies

L'activation des mGluRs du groupe III au niveau des présynapses glutamatergique est généralement neuroprotectrice, car ils inhibent le relargage de glutamate et limitent ainsi l'excitotoxicité induite par les iGluRs postsynaptiques [347]. Inversement, ces mGluRs peuvent avoir des effet neurotoxiques de par leur expression au niveau des présynapses GABAergiques [263].

Chez l'homme, des polymorphismes du gène *GRM7* ont récemment été associés à l'autisme [518], la schizophrénie [356], des défauts d'attention et l'hyperactivité [372], à des défauts d'audition liés à l'âge [176], mais pas encore aux épilepsies [195].

Les premiers travaux expérimentaux rendant compte d'un effet du récepteur mGlu7 sur l'induction de crises épileptiques ont utilisé une pharmacologie peu spécifique, ne permettant pas de déterminer avec certitude les implications d'autres mGluRs du groupe III. L'injection focale de l'agoniste L-AP4 dans l'hippocampe est anti-convulsivant [1, 481], alors que l'injection des antagonistes MAP4, MPPG et MSOP est pro-convulsivant [272, 188].

Depuis, le rôle physio-pathologique du récepteur mGlu7 à été clarifié grâce à des modèles murins. Les souris KO mGlu7$^{-/-}$ présentent en effet une susceptibilité accrue aux convulsivants [415] et développent des crises épileptiques à partir de la douzième semaine postnatale lorsqu'elles sont placées dans un nouvel environnement [309]. Sansig et ses collègues ont observé l'induction de crises tonico-cloniques chez l'adulte (>12 semaines) suite à un changement de litière [415]. Cependant, ces souris ne présentent pas de crises épileptiques spontanées, suggérant que la délétion du récepteur mGlu7 résulte uniquement en une susceptibilité augmentée. Cette interprétation semble compatible avec l'attribution classique du rôle de *"filtre passe-bas"*

du récepteur [379]. Les souris KO mGlu7$^{-/-}$ montrent aussi de nombreux défauts d'apprentissages [309, 218, 193] associés à des défauts de plasticité synaptique, notamment pour les apprentissages d'aversion et de peur dépendant de l'amygdale [309, 165]. De plus, ces souris présentent une diminution des états d'anxiété et de dépression [72, 121, 453], corrélés à une dérégulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. Enfin, ces souris présentent un défaut d'addiction à l'alcool, suggérant un rôle du récepteur mGlu7 dans ce comportement [204]. Elles pourraient aussi présenter des défauts de nociception, de mouvements, d'attention et d'éveil, reflétant l'absence du récepteur mGlu7 dans la moelle épinière, le cervelet et le locus coeruleus respectivement, mais cela n'a jamais été étudié [352].

Les souris KI mGlu7^{AAA}, quant à elles, présentent un phénotype assez distinct par rapport aux souris KO pour le récepteur mGlu7. Le découplage de PICK1 et mGlu7a (Fig.I.8c) induit des crises d'épilepsie particulières : les crises de type absence, qui apparaissent spontanément dès la cinquième semaine postnatale [41]. Ces crises résultent d'un dysfonctionnement de la boucle thalamo-corticale, qui sera présenté en détail dans la partie I.6. Ces souris sont également susceptibles aux convulsivants et présentent des déficits de mémoire de travail spatiale [524].

I.4 Neurotransmission GABAergique

I.4.1 GABA

L'acide γ-amino-butyrique (GABA) est le principal neurotransmetteur inhibiteur du SNC mammalien. Il est indispensable à la régulation de l'excitabilité neuronale. Le GABA est présent à haute concentration (de l'ordre de quelques millimolaires dans le cytosol, jusqu'à plus de 100 mM dans les vésicules) dans 25 à 50% des neurones [161] et tous les neurones du SNC y sont virtuellement sensibles. Les neurones GABAergiques sont de divers types et sont hautement spécialisés [175, 252]. La plupart sont des interneurones qui contrôlent localement l'activité de réseaux neuronaux, alors que d'autres sont des neurones principaux épineux et en tant que tel innervent d'autres aires cérébrales. C'est le cas notamment des neurones épineux du striatum médian et les cellules de Purkinje du cervelet. Les neurones GABAergiques sont indispensables au développement, à la fonction et à la plasticité des circuits neuronaux.

Le GABA est métabolisé à partir du L-glutamate par une décarboxylase (*Glutamic Acid Decarboxylase*, GAD). Les GADs sont exprimées dans les neurones GABAergiques, ainsi que dans certains tissus périphériques qui synthétisent également du GABA [317]. Deux gènes codants pour GAD65 (ou GAD 65 kDa, indiquant le poids moléculaire de cette enzyme) et GAD67 (ou GAD 67 kDa) existent [159] ; la GAD65 est localisée préférentiellement dans les membranes notamment dans les terminaisons nerveuses, alors que la GAD67 est plus largement distribuée dans les cellules [448].

Comme la plupart des neurotransmetteurs, le GABA est stocké dans des vésicules synaptiques. Après sa libération dans la fente synaptique, le GABA diffuse et agit sur ses récepteurs ionotropiques et métabotropiques. L'activation des récepteurs GABAergiques induit une hyperpolarisation postsynaptique, qui inhibe l'activité neuronale. Tout comme le glutamate, le GABA est rapidement recapté, principalement par les présynapses et les cellules gliales, grâce à des transporteurs spécifiques [199], mais il peut aussi diffuser et activer des récepteurs extrasynaptiques.

De même que les transporteurs du glutamate, les transporteurs du GABA peuvent s'inverser [364, 74] : le GABA peut donc aussi être libéré de façon non-vésiculaire [515]. Ainsi, sa concentration extracellulaire dépend de l'état fonctionnel des transporteurs du GABA et

de sa libération vésiculaire synaptique et extrasynaptique. Comme nous le verrons plus tard, la bonne régulation du taux de GABA ambiant est cruciale pour contrôler l'excitabilité des réseaux neuronaux.

I.4.2 Récepteurs ionotropiques GABAergiques : inhibition phasique et tonique

Les récepteurs ionotropiques du GABA sont de deux types : le récepteur $GABA_A$ et le récepteur $GABA_C$. Ces récepteurs forment des canaux ioniques perméables aux ions Cl^- et l'entrée de Cl^- hyperpolarise la membrane neuronale [157], ce qui inhibe l'activité neuronale.

Les récepteurs $GABA_A$ sont ubiquitaires [498], mais leur expression est plus forte dans le cortex, l'hippocampe, les ganglions de la base, le thalamus, le cervelet et le tronc cérébral [519]. De études de clonage moléculaire ont dévoilé l'existence de 8 sous-unités différentes ($\alpha, \beta, \gamma, \delta, \eta, \theta, \pi$ et ρ) présentant différents sous-types et variants. Actuellement, 19 ADNc pour un récepteur $GABA_A$ ont été clonés chez l'homme [442]. Ces récepteurs s'assemblent en hétéro-pentamères. Ils sont sélectivement bloqués par la bicuculline et la gabazine et sont modulés par les stéroïdes, l'éthanol, les barbituriques et autres anesthétiques et les benzodiadépines (anxiolytiques) [361, 440] : un grand nombre de médicaments anxiolytiques, hypnotiques ou anti-convulsivants agissent sur les récepteurs $GABA_A$ [506]. L'activation des récepteurs $GABA_A$ médie une inhibition synaptique rapide (quelques millisecondes). Dans certains cas particuliers, notamment lors du développement, la concentration intracellulaire en Cl^- peut être élevée. Dans ces conditions, l'activation des récepteurs $GABA_A$ induit une sortie de Cl^- dépolarisante pour le neurone [37].

Les récepteur $GABA_A$ présentent des compositions sous-unitaires différentes selon les régions cérébrales et les compartiments cellulaires, ce qui leur confère des caractéristiques propres. Ils sont principalement exprimés au niveau postsynaptique, où ils induisent des potentiels postsynaptiques inhibiteurs (PPSI). Ces PPSI induisent une inhibition dite phasique, mais on peut aussi les trouver au niveau présynaptique où ils inhibent la libération de neurotransmetteur, ainsi qu'au niveau extrasynaptique [318, 363]. Les récepteurs $GABA_A$ extrasynaptiques sont activés par de faibles concentrations de GABA extracellulaire [333, 296]. Ils médient une inhibition dite tonique, permanente et cruciale pour moduler l'excitabilité neuronale globale au sein du SNC. Remarquez que seule l'utilisation d'antagonistes ou agonistes-inverses sélectifs des récepteurs $GABA_A$ permet de révéler ces courants inhibiteurs toniques. Cette inhibition tonique joue un rôle majeur dans les processus physio-pathologiques [34].

En général, les récepteurs synaptiques sont composés des sous-unités $\alpha\beta\gamma$ et sont plus affins pour la bicuculline, alors que les récepteurs extrasynaptiques comportent plutôt les sous-unités $\alpha\beta\delta$ et sont plus sensibles à la gabazine [164]. Le niveau d'expression des récepteurs $GABA_A$ extrasynaptiques est très variable selon les régions cérébrales ; dans le thalamus par exemple, ils sont fortement exprimés dans le noyau ventro-postéro-médian (VPM), mais sont absents du noyau réticulaire (NRT) [357, 64, 229, 83, 63, 374].

Les récepteurs $GABA_C$ ne sont exprimés qu'au niveau de la rétine, où ils médient l'inhibition latérale des réponses à la lumière et inhibent la libération de neurotransmetteur dans les terminaisons des cellules bipolaires [292]. Ces récepteurs se distinguent nettement des récepteurs $GABA_A$ de par leurs caractéristiques d'activation, de désensibilisation et de conductance, ainsi que par leurs ligands [156].

I.4.3 Récepteurs métabotropiques GABAergiques

Les récepteurs GABAergiques métabotropiques $GABA_B$ appartiennent, comme les mGluRs, aux RCPG de classe C (voir section I.2.3 et Table I.5) [242]. Ils sont très largement exprimés dans le SNC [303]. Il existe trois sous-types de récepteurs : $GABA_{B1}$, $GABA_{B2}$ et le moins étudié $GABA_{BL}$ [73]. Ils s'assemblent fonctionnellement en hétéro-dimères obligatoirement constitués de $GABA_{B1}$ et $GABA_{B2}$ [234, 43].

Ces récepteurs sont exprimés au niveau postsynaptique, ainsi qu'au niveau présynaptique. L'activation des récepteurs $GABA_B$ est lente (plus de 100 msec). Les récepteurs inhibent l'adénylate cyclase, des canaux Ca^{2+} et augmentent des conductances K^+ sortantes [259]. Ainsi, leur activation au niveau postsynaptique aboutit à une hyperpolarisation de la membrane neuronale et à une inhibition de la libération de neurotransmetteur au niveau présynaptique [242].

Pharmacologiquement, les récepteurs $GABA_B$ sont activés par le baclofen et le CCP27492 et inhibés par le phaclofen et le 2-hydroxy saclofen [55].

I.4.4 Transmission GABAergique et neuropathologies

Le GABA est le principal neurotransmetteur inhibiteur au sein du SNC. Des perturbations du système GABAergique ont par conséquent de graves effets sur la balance excitation/inhibition. Ces perturbations aboutissent généralement à une diminution de l'inhibition cérébrale phasique et tonique. Des défauts du système GABAergique ont été associés à diverses maladies neurodéveloppementales et psychatriques, comme par exemple les épilepsies, l'anxiété, le dépression, la schizophrénie, l'autisme, la splasticité, le syndrome de l'homme raide, les addictions aux drogues et à l'alcool, les troubles du sommeil, la maladie de Parkinson et le syndrome prémenstruel [386, 84, 512].

De plus, de nombreux médicaments ciblent le système GABAergique et notamment les récepteurs $GABA_A$, comme par exemple les neurostéroïdes, les anxiolytiques, les sédatifs et hypnotiques, les anesthésiques et les anti-convulsivants [362, 441, 296]. Plusieurs études ont récemment mis en évidence l'importance physio-pathologique de l'inhibition tonique médiée par les récepteurs $GABA_A$ extrasynaptiques, déterminante pour moduler notamment l'état de conscience [83, 192].

I.5 Le réseau Thalamo-Cortical

I.5.1 Généralités

Le thalamus est réciproquement connecté au cortex cérébral, formant des circuits complexes impliqués dans de nombreux processus fonctionnels, conscients et inconscients : intégration sensorimotrice, attention, cognition et perception (Fig.I.9, [314, 221]).

Le cortex cérébral ou néocortex est divisé en différentes aires selon des critères anatomo-fonctionnels. Ces aires sont interconnectées, mais chacune est généralement destinée à une fonction spécifique. Le thalamus, dont les neurones projettent principalement dans le cortex cérébral, est considéré comme la structure de relais par excellence pour l'acheminement des messages sensoriels vers le néocortex. Ces messages sont organisés de façon topographique, c'est-à-dire en rapport avec l'organisation spatiale du corps. De plus, le thalamus joue aussi un rôle essentiel dans la circulation, d'une aire corticale à l'autre, de toutes les informations [202].

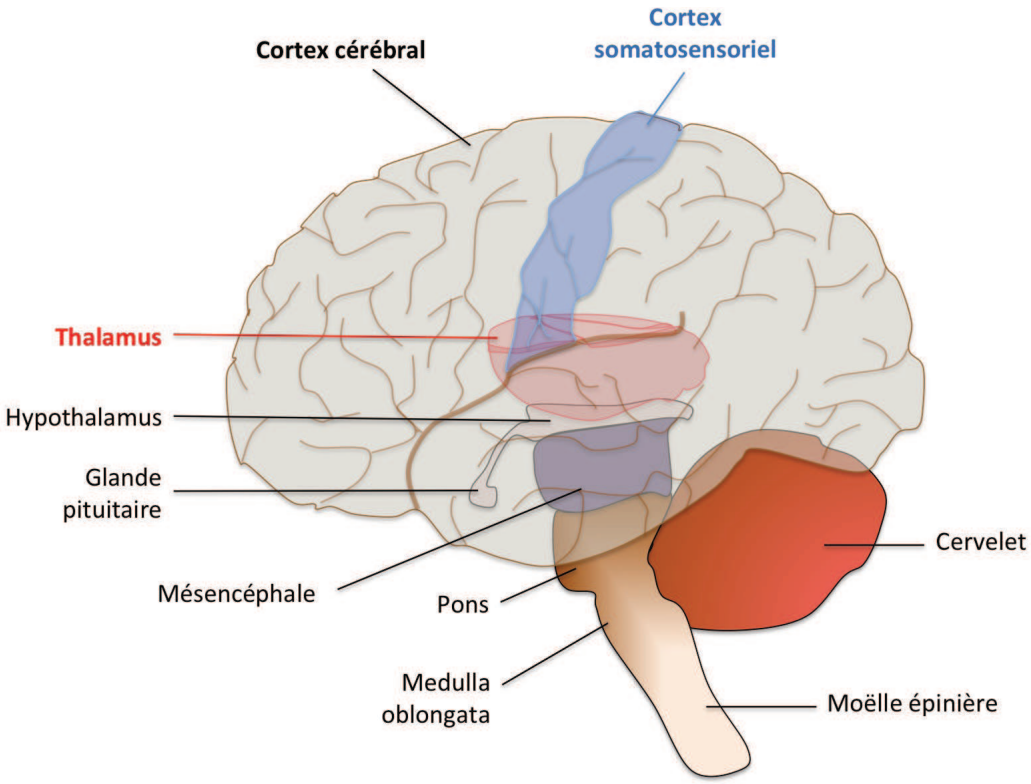


FIGURE I.9 – **Représentation schématique du thalamus et du cortex somatosensoriel dans un cerveau humain.**

Le thalamus et le cortex somatosensoriel sont localisés sur cette illustration. Modifié de lien 1 et lien 2.

Le thalamus est constitué de deux principaux types de noyaux : les noyaux d'ordre primaire et d'ordre supérieur. Les premiers sont généralement des noyaux spécifiques sensoriels (thalami visuel, somatosensoriel et auditif) et assurent la transmission de messages sensoriels vers le cortex. Les seconds sont dits "non-spécifiques" ou "associatifs" (comme le pulvinar) et servent plutôt de relais pour l'information d'une aire corticale à une autre [200] (Table I.8). Ces derniers sont supposés associer et intégrer les informations corticales pour former des objets mentaux tels que la perception de stimuli extérieurs réels, ou fictifs (par exemple, la perception d'un membre fantôme). Les principales entrées des noyaux d'ordre primaire et supérieur sont, respectivement, les afférences sensorielles spécifiques en provenance de la périphérie et les projections cortico-thalamiques (CT) issues des cellules pyramidales corticales de la couche V. De plus, les noyaux d'ordre primaire et supérieurs reçoivent des afférences modulatrices provenant des cellules pyramidales de la couche VI corticale.

En résumé, les noyaux thalamiques d'ordre primaire relaient toutes les informations sensorielles provenant directement du monde extérieur, alors que les noyaux d'ordre supérieur sont intermédiaires dans les relations cortico-corticales. Ils constituent en quelque sorte une "grille de lecture" permettant de décoder et de donner une signification aux stimuli extérieurs [433].

Il est intéressant de noter une corrélation entre les fonctions des noyaux thalamiques et leurs propriétés structurales : les noyaux d'ordre primaire contiennent des neurones de petite taille avec des dendrites touffues. Ils ont une structure dense assimilable à celle d'un filtre aux fibres serrées leur permettant de canaliser et de transmettre les informations sensorielles en provenance de la périphérie. Les noyaux d'ordre supérieur contiennent des neurones de plus grande taille avec des dendrites rayonnant d'une manière linéaire autour du corps cellulaire. Ils ont une structure moins ramassée et leur rôle est d'associer, de réordonner et ainsi d'intégrer des informations de plusieurs modalités sensorielles d'origines périphériques et/ou corticales [394].

Les connectivités constituant la base du circuit thalamo-cortical sont relativement simples, bien que les connexions intra-corticales et cortico-corticales fournissent un haut niveau de complexité. Une caractéristique essentielle de ce circuit est de générer des oscillations rythmiques [221]. Ces oscillations thalamo-corticales interviennent typiquement lors du sommeil, mais peuvent également apparaître de façon anormale durant l'éveil, générant des crises d'épilepsie très particulières : les crises de type absence.

Dans le cadre de cette thèse, nous décrirons ici en détail un circuit thalamo-cortical impliqué dans l'intégration des informations somatosensorielles en provenance des vibrisses (des moustaches) chez la souris. Ce réseau est bien caractérisé anatomiquement et fonctionnellement et constitue donc un excellent modèle expérimental pour étudier le rôle physiologique du récepteur mGlu7 au sein du réseau thalamo-cortical (voir section I.7). Ce système thalamo-cortical forme une sorte de "ménage à trois", comprenant le cortex somatosensoriel primaire (S1) et deux structures thalamiques : le noyau ventro-postéro-médian (VPM) et le noyau réticulaire thalamique (NRT), qui sera détaillé par la suite.

L'importance de la représentation corticale des différentes parties du corps varie beaucoup d'une espèce à l'autre. Elle est corrélée au "mode de vie" de l'animal et dépend de la densité de récepteurs à la périphérie. Par exemple, chez les rongeurs, les vibrisses sont très représentées au niveau du cortex somatosensoriel S1 ou cortex à tonneaux (*barrel cortex* en anglais), alors que les doigts des pattes le sont peu. En effet, les rongeurs utilisent leurs vibrisses pour détecter leur environnement proche, mais peu leurs pattes. L'utilisation de leurs vibrisses se fait un peu à la manière dont un homme utiliserait ses mains pour appréhender son environnement et se mouvoir dans une pièce sombre. Les vibrisses leur permettent d'explorer les textures, d'identifier les objets, de mesurer les distances comme repère navigationnel et

d'interagir socialement [380, 139]. Elles sont organisées en 5 rangées de 4 à 7 vibrisses. La perception sensorielle associée aux vibrisses dépend de l'aire de représentation des vibrisses au niveau du cortex somatosensoriel S1. Le nom de cortex "à tonneaux" provient de formations cyto-architecturales particulières : on trouve en effet des regroupements de cellules au niveau de la couche IV, ressemblant visuellement à des petits tonneaux. Ces tonneaux sont facilement repérables à l'aide d'un microscope sur des tranches de cerveau. On retrouve au niveau de la couche IV du cortex somatosensoriel une représentation exacte de la disposition des vibrisses sur le museau de l'animal [513].

I.5.2 Connectivité du circuit thalamo-cortical

Lors d'une tâche comportementale, le rongeur positionne ses vibrisses au contact de l'objet palpé. Elles permettent de transmettre une perturbation mécanique provoquée par la rencontre d'un objet jusqu'aux récepteurs sensoriels situés au niveau des follicules [208]. Chaque follicule est innervé par des neurones sensoriels.

Les neurones sensoriels issus des vibrisses transmettent les informations aux neurones du thalamus via un relais au niveau des noyaux trigéminaux du tronc cérébral, plus précisément au niveau du ganglion trigéminal principal (PrV). Le PrV présente deux types de neurones principaux : les premiers (68 %, type I) projettent dans un noyau thalamique d'ordre primaire, le VPM, alors que les seconds (23 %, type II) projettent dans un noyau d'ordre supérieur, le complexe postéro-médian thalamique (POm) [90]. Les afférences au niveau du VPM constituent la voie dite lemniscale, alors que les afférences au niveau du POm constituent la voie paralemniscale.

Anatomiquement, l'information issue des différentes vibrisses reste ségrégée le long de la voie lemniscale, la somatotopie étant strictement respectée. En effet, les arborisations des afférences primaires sont confinées dans une barrelette au niveau du PrV (Fig.I.10, [225]). Un neurone du VPM reçoit des informations en provenance d'1 ou 2 neurones du PrV après décussation [78, 134, 19]. Dans le VPM, les terminaisons axonales provenant du PrV sont aussi restreintes au niveau du corps d'un barréloïde [493], chaque barréloïde contenant environ 250-300 neurones [266].

Les neurones du barréloïde du VPM (aussi appelés neurones de relais) innervent à leur tour précisément un tonneau au niveau de la couche IV corticale, sans déborder sur un tonneau voisin [228, 15]. Les neurones de cette voie ont des latences de réponse courtes [138] et relayent donc rapidement au cortex une information uni-vibrissale, monosynaptique [266, 380]. Ainsi, chacune des vibrisses active des neurones localisés dans un tonneau particulier du cortex S1 : on retrouve donc au niveau du cortex S1 l'organisation des vibrisses en 5 rangées de tonneaux de chaque côté du cerveau (voir Fig.I.10).

En plus de projeter au niveau cortical, les neurones de relais envoient aussi des collatérales au niveau d'un deuxième noyau thalamique : le NRT (Fig.I.11). Cette transmission synaptique est forte, fiable et précise [184]. Certains neurones du NRT recevant les informations des cellules de relais modulent à leur tour ces mêmes neurones du VPM : ce rétrocontrôle négatif est de plus faible amplitude, mais est crucial pour réguler l'activité des neurones de relais [314]. En plus de projeter sur les neurones de relais, les neurones réticulaires contactent également des neurones voisins au sein du NRT, contrôlant ainsi l'excitabilité des cellules adjacentes [392].

Une fois que l'information atteint la couche IV corticale, elle est alors relayée au niveau de la couche II/III, puis au niveau de la couche VI [429]. Les cellules pyramidales de la couches VI envoient à leur tour leurs axones vers le thalamus, où ils modulent à la fois les neurones du NRT et les neurones de relais (Fig.I.11). Ces rétrocontrôles cortico-thalamiques sont souvent

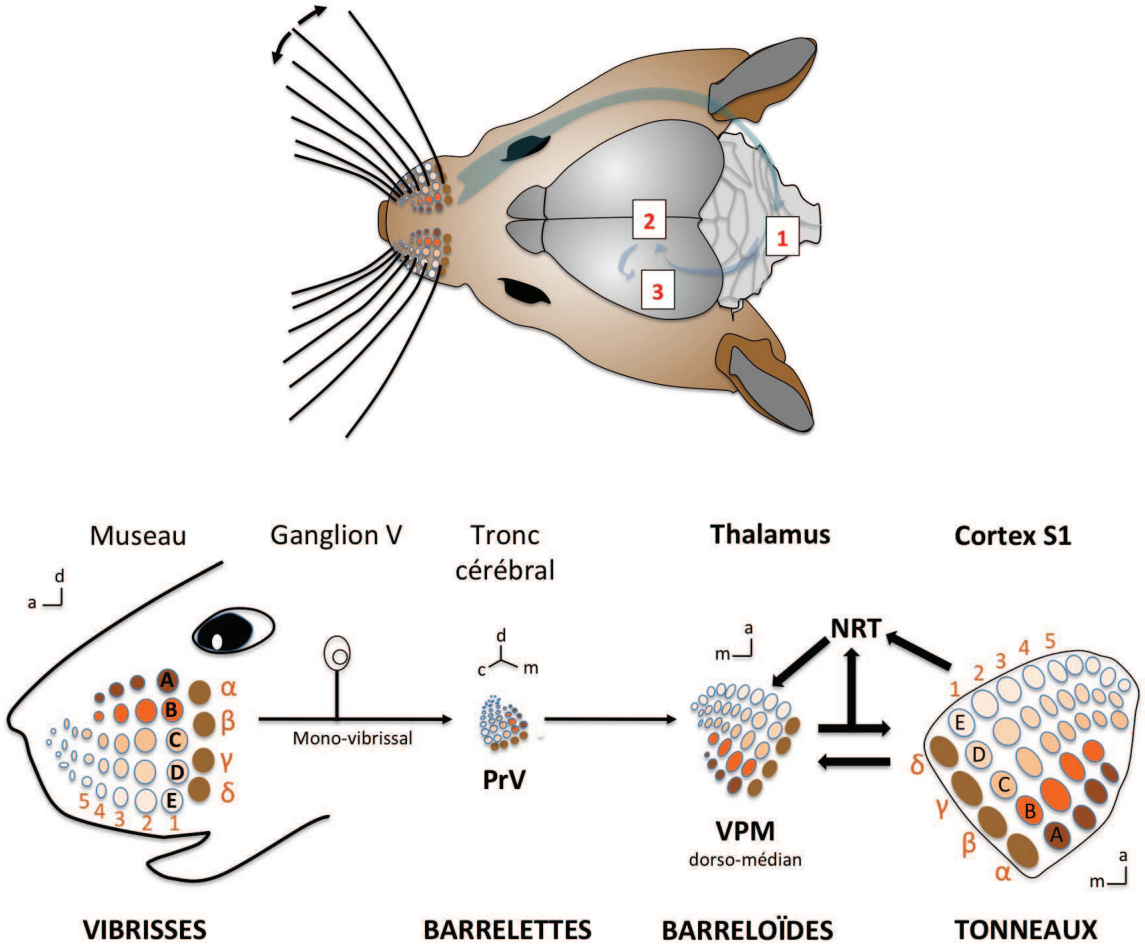


FIGURE I.10 – **Illustration schématique des voies somatosensorielles chez la souris.**

Cheminement de l'information sensorielle issue des vibrisses à travers le ganglion trigéminal, les noyaux trigéminaux du tronc cérébral (1), le thalamus (2) puis le cortex somatosensoriel primaire (3). Chaque vibrisse est associée à une barrelette du tronc cérébral, à un barréloïde du thalamus et à un tonneau cortical. PrV, noyau trigéminal principal ; VPM, noyau ventro-postéro-médian ; NRT, noyau réticulaire thalamique. D'après [18] (haut) et un schéma de Woolsey reproduit dans [521] (bas).

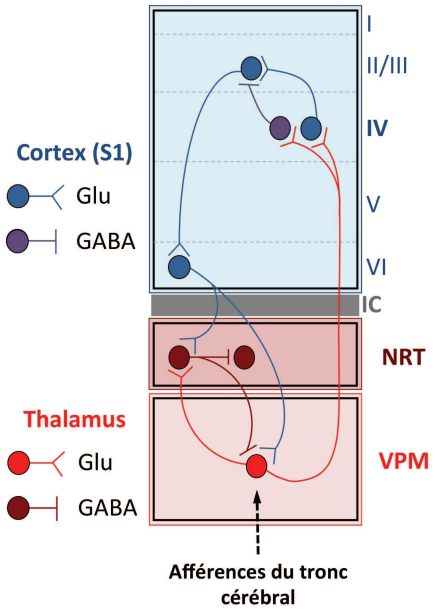


FIGURE I.11 – **Illustration schématique de la boucle thalamo-corticale.**

Les neurones glutamatergiques ("Glu") et GABAergiques ("GABA") sont indiqués au niveau du cortex somatosensoriel primaire (S1) et dans les deux noyaux thalamiques, le noyau ventro-postéro-médian (VPM) et le noyau réticulaire (NRT).

bien plus nombreux que les projections thalamo-corticales elles-mêmes, dans certains cas à 40 pour 1 [432]. Cela illustre l'importance du dialogue bi-directionnel entre le cortex et le thalamus, chacun étant capable de rétrocontrôler l'état d'excitabilité de l'autre.

I.5.3 Thalamus et noyaux thalamiques

Principal constituant du diencéphale, le thalamus est un important centre relais sensoriel. Les deux thalami sont situés de part et d'autre du 3ième ventricule et se rejoignent à travers la fine fente du 3ième ventricule par la commissure grise (Fig.I.12). Le thalamus comprend de nombreux noyaux étroitement interconnectés avec le cortex. Toutes les voies sensorielles font relais dans le thalamus avant de se projeter sur le cortex, en dehors des voies olfactives. Le thalamus véhicule également d'autres modalités vers le cortex : fonctions motrices, limbiques et vigilance. Ainsi, les rôle principaux du thalamus sont de participer au relais de l'information sensorielle périphérique vers les cortex somatosensoriel et moteur, aux processus attentionnels (y compris la régulation de la vigilance et du sommeil) [397] et aux activités cognitives comme la mémoire et le langage [231] (Table I.8).

Anatomiquement, le thalamus est divisé en trois groupes nucléaires : antérieur, médian et latéral, auxquels s'ajoute le NRT qui forme un noyau fin entourant la partie latéro-dorsale du thalamus [460] (Fig.I.12). Le groupe nucléaire antérieur comprend un noyau principal, le noyau antéro-ventral et deux noyaux accessoires, les noyaux antéro-dorsal et antéro-médian. Le groupe nucléaire médian est constitué d'un noyau unique : le noyau dorso-médian. Enfin, le groupe nucléaire latéral, qui regroupe en fait une multitude de noyaux [233] :

- les noyaux ventraux : le ventral antérieur, latéral, médian et postérieur. Le noyau ventral postérieur est lui-même subdivisé en 3 parties : ventro-postéro-latéral (VPL), médian

TABLE I.8 – **Principaux noyaux thalamiques et fonctions physiologiques associées.**

Noyau	Entrée(s)	Sortie(s)	Fonctions
Noyaux sensoriels			
Ventro-Postéro-Latéral (VPL)	Tractus spinothalamique ; Lemnisque médian	Cortex sensoriel primaire	Sensations somatiques (contralatérales)
Ventro-Postéro-Médian (VPM)	**Tractus trigéminothalamique, aires gustatives du tronc cérébral**	**Cortex sensoriel primaire**	**Sensations somatiques de la face et du goût (contralatérales)**
Géniculé Médian (GMN)	Brachium du colliculus inférieur	Cortex auditif primaire	Ouïe
Géniculé Latéral (GLN)	Tractus optique	Cortex visuel primaire	Vision
Pulvinar	Corps géniculé latéral, corps géniculé médian, colliculi supérieur et inférieur	Cortex associatif visuel	Intégration des informations visuelles (contralatérales)
Noyaux moteurs			
Ventro-Latéral (VL)	Cervelet et ganglions de la base	Cortex moteur primaire	Modulation et coordination des mouvements
Ventro-Antérieur (VA)	Ganglions de la base	Cortex prémoteur	Initiation et planification des mouvements
Ventro-Intermédial (VI)	Cervelet	Cortex moteur primaire	Coordination des mouvements
Noyaux limbiques et à projections non-spécifiques			
Antérieur	Tractus Mammillothalamique	Cortex cingulaire	Stockage de la mémoire et émotions
Médiodorsal (MD)	Lobe temporal, Amygdale, Hypothalamus	Cortex préfrontal	Motivation, apprentissage, émotions
Centromédian	Voies lentes nociceptives	Projections corticales non-spécifiques	Emotions liées à la douleur
Noyau multi-modal			
Réticulaire (NRT)	**Cortex cérébral, noyaux thalamiques d'ordre primaire et secondaire, tronc cérébral**	**Noyaux thalamiques de relais**	**Modulation de la vision, du toucher, de l'audition, la motricité et des fonctions limbiques**

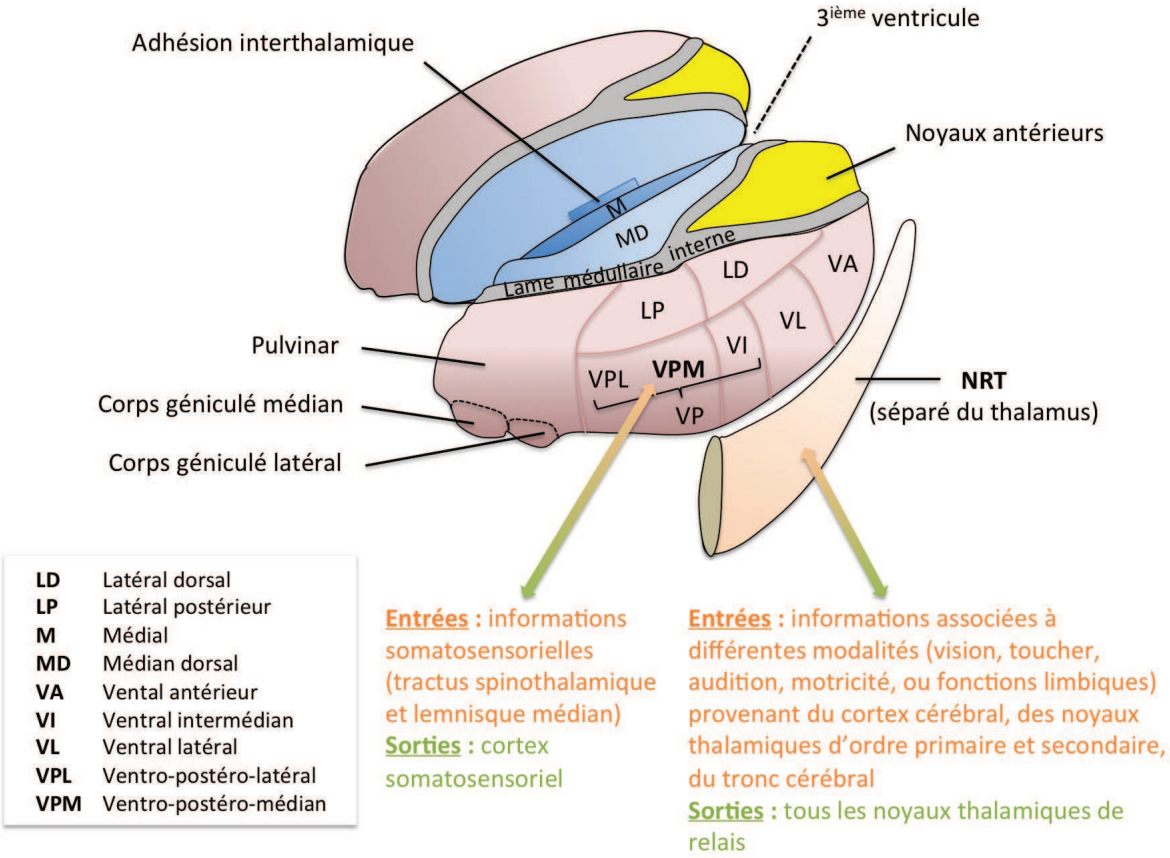


FIGURE I.12 – **Représentation schématique du thalamus et ses noyaux.**
Les afférences et les efférences du VPM et du NRT sont indiquées. Modifié de [232].

(VPM) et inférieur. Ce groupe nucléaire représente l'essentiel des noyaux de relais spécifiques dédiés au système moteur et sensoriel ;

- les noyaux dorsaux : le latéro-dorsal et le latéro-postérieur ;
- le pulvinar, bordé latéralement par la lame médullaire externe et le noyau réticulaire thalamique.

Au sein de la lame médullaire interne se trouve une multitude de petits noyaux, plus ou moins bien individualisés, regroupés sous le nom de noyaux intralaminaires. Dans la partie la plus médiane du thalamus, enfoui dans le plancher du 3ième ventricule, se trouve un autre groupe de noyaux de petites tailles, assez mal individualisés et dénommés noyaux de la ligne médiane. Ces deux groupes cellulaires constituent le "système thalamique diffus", par opposition aux "noyaux de relais spécifiques" dont les projections corticales ciblent une région délimitée du cortex, en général dédiée à un système anatomo-fonctionnel donné [82].

Sur la face la plus latérale de la masse thalamique, séparée de cette dernière par la lame médullaire externe, le NRT constitue macroscopiquement un fin feuillet ou coquille enveloppant la face externe du thalamus. Les fibres thalamo-corticales et cortico-thalamiques, en route pour le cortex ou le thalamus respectivement, traversent donc le NRT, en y projetant des collatérales.

De nombreuses projections diffuses et non-spécifiques exercent une influence modulatrice de l'état d'excitabilité du thalamus. Ces projections proviennent principalement de différents noyaux du tronc cérébral et aboutissent dans les différents noyaux thalamiques (dont le VPM et le TRN). Les neuromodulateurs impliqués sont l'acétylcholine, la sérotonine, l'histamine et la noradrénaline. Les entrées dopaminergiques sont faibles voire absentes [233].

Nous décrirons plus particulièrement le VPM et le NRT qui constituent avec le cortex S1 la circuiterie thalamo-corticale somatosensorielle.

I.5.3.1 Le noyau Ventro-Postéro-Médian (VPM)

Le VPM reçoit les informations en provenance du tractus trigéminothalamique, du tractus solitaire et du nerf trigéminal et il projette vers les aires somatosensorielles primaires. Ainsi, cette aire thalamique bien définie est dédiée à la représentation de la tête de l'animal, avec sa partie dorso-latérale contenant la représentation des vibrisses contra-latérales [266].

Le tronc cérébral recevant les fibres afférentes primaires inclut un ensemble de noyaux nommés les noyaux trigéminaux. Cela inclut le noyau trigéminal principal (PrV) et les différentes divisions du noyau trigéminal spinal : la division "oralis" (SpVo), la division "interpolaris" (SpVi) et la division "caudalis" (SpVc) [211]. Les deux noyaux intervenant dans la voie de transmission de l'information sensorielle jusqu'au cortex sont le PrV et SpVi (Fig.I.10).

Comme nous l'avons mentionné, il existe une somatotopie claire au niveau du VPM, où chaque vibrisse est représentée anatomiquement par un groupe d'environ 250 neurones groupés en une unité cyto-architectonique distincte, portant le nom de barréloïde [267]. Chez la souris, les barréloïdes ont une forme arquée, d'environ 70 μm de diamètre, avec leur axe principal orienté selon l'axe antéro-dorso-médial à postéro-ventro-latéral [491]. Un barréloïde est divisé en trois partie. La tête, située à la limite avec le POm reçoit les afférences des neurones multi-vibrissaux du PrV. Le corps, partie la plus importante localisée dans le VPM dorso-médian, véhicule les informations sensorielles mono-vibrissales du PrV, formant la voie lemniscale. Enfin, la queue s'étend dans le VPM ventro-latéral et reçoit des afférences du SpVi, formant la voie extra-lemniscale [90]. Chacune de ces régions est impliquée dans différentes voies parallèles de transmission de l'information [233].

De nombreuses études ont mis en évidence que les neurones du VPM impliqués dans la voie lemniscale projettent en grande densité sur les tonneaux de la couche IV corticale (voir section I.5.4) [288]. Ces afférences constituent la source majeure d'excitation des cellules excitatrices corticales et elles activent aussi directement et puissament les interneurones GABAergiques de la couche IV [238, 114]. Quelques neurones du VPM projettent aussi vers le cortex somatosensoriel associatif (S2).

Les neurones de relais du VPM présentent une remarquable uniformité morphologique et architecturale [90]. Typiquement, ces neurones ont un soma relativement large (environ 400 μm^2) et des dendrites orientés de façon radiale. Les dendrites primaires sont épais et leurs branches secondaires aboutissent généralement à quatre ou plus branches tertiaires touffues, qui confèrent à ces neurones une apparence touffue. Les axones que les neurones de relais envoient vers le cortex (avec des collatérales innervant le NRT au passage) sont épais, avec un diamètre d'environ 1,5 à 3 μm. Ces neurones de relais sont glutamatergiques. Chez certaines espèces (notamment chez le rat), on trouve également des interneurones GABAergiques au sein du VPM ; cependant ces interneurones sont absents chez la souris [137].

Les neurones de relais présentent une caractéristique très particulière : ils possèdent deux modes distincts d'activité (voir Fig.I.13). Lorsque la membrane est dépolarisée, ces neurones génèrent des décharges soutenues de potentiels d'action sodiques : ce mode est appelé *tonique*. Au contraire, lorsque la membrane est hyperpolarisée, ils génèrent des bouffées de potentiels d'actions calciques, appelés *bursts*. Ce mode burst dépend de l'expression de canaux calciques dépendants du voltage à bas seuil : les canaux Ca_v de type T (Table I.7, [120]). Ces bursts calciques sont responsables d'une libération plus élevée du neurotransmetteur et induisent une forte réponse postsynaptique.

Comme nous l'avons mentionné précédemment, les neurones du VPM projettent également vers le NRT, qui exerce une rétroinhibition sur ces mêmes neurones de relais.

I.5.3.2 Le Noyau Réticulaire Thalamique (NRT)

Le NRT est le seul noyau thalamique composé exclusivement de neurones inhibiteurs GABAergiques. Il reçoit de nombreuses afférences en provenance du cortex, des noyaux thalamiques et du tronc cérébral. Les collatérales d'axones CT et TC constituent les principales entrées excitatrices des neurones réticulaires (I.11), les afférences CT étant majoritaires [392]. Les amplitudes des PPSE engendrés par la stimulation d'une fibre CT sont approximativement 2 à 4 fois plus élevées dans le NRT que dans le VPM. Ces différences sont associées à une expression plus importante de récepteurs AMPA au niveau des contacts synaptiques sur les neurones réticulaires [194]. Ainsi, l'activation d'une fibre CT aboutira à une excitation plus forte des neurones réticulaires par rapport aux neurones de relais, responsable d'une inhibition thalamique importante [268].

Le NRT envoie des fibres GABAergiques vers l'ensemble des noyaux thalamiques de relais et constitue la source exclusive d'inhibition du VPM chez la souris [394]. Ces neurones inhibiteurs représentent 20 à 25 % de la population neuronale thalamique totale. Le NRT possède donc un rôle majeur dans le contrôle de la boucle thalamo-corticale et dans l'ensemble des fonctions du thalamus [201]. Il est d'ailleurs souvent considéré comme un "noeud actif" (*hub* en anglais) au sein du thalamus [392].

Les neurones réticulaires sont très différents des neurones de relais du VPM et ne constituent pas une population neuronale homogène. Ils sont tous GABAergiques et présentent des somas relativement larges, fusiformes, ou triangulaires, avec de longs dendrites disposés de façon parallèle à la surface du thalamus dorsal, perpendiculaires aux fibres entrantes et sor-

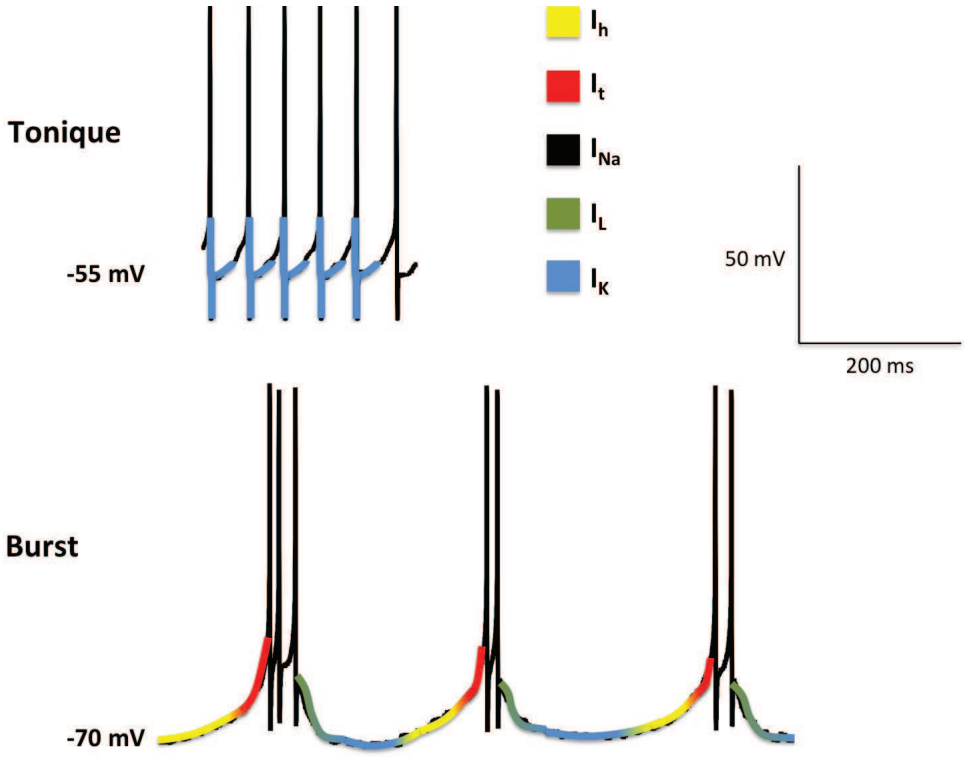


FIGURE I.13 – **Potentiels d'action thalamiques distincts lors du mode tonique et du mode burst.**

Les potentiels d'action toniques n'impliquent que les canaux sodiques et potassiques dépendants du voltage (courants I_{Na} et I_K respectivement), alors que les bursts impliquent successivement les canaux HCN (*Hyperpolarization-activated Cyclic Nucleotide-gated*, générant les courants I_h), les canaux Ca_v de type T (I_t), les canaux Na_v (I_{Na}), les canaux Ca_v de type L (I_L) et finalement les canaux K_v (I_K). D'après [501].

tantes du thalamus dorsal. L'arborisation dendritique diffère d'un secteur à l'autre [434]. Ces neurones ont un axone fin qui, après avoir émis deux ou plus collatérales intra-NRT, entre dans le thalamus dorsal où il se ramifie tout en conservant un certain degré de spécificité topographique [394, 264].

Le rôle physiologique des connexions intra-NRT est encore discuté à l'heure actuelle, mais il apparait clairement que ces connexions sont importantes pour distribuer l'inhibition et contrôler l'excitabilité des neurones avoisinant et ainsi moduler plus globalement l'état d'excitabilité du NRT. Cette inhibition intra-NRT freine l'apparition d'activités synchrones au sein du NRT [449] (voir section I.6). De plus, ces circuits locaux de neurones réticulaires synaptiquement connectés pourraient permettre de sélectionner les voies intra-thalamiques appropriées pour différentes tâches motrices, sensorielles et cognitives [392]. Ces connexions peuvent aussi médier des modulations plurimodales des neurones du NRT lors de processus attentionnels [520]. Cependant, bien que 65 % des neurones réticulaires envoient des collatérales intra-NRT chez le jeune rongeur, ces collatérales disparaissent lors de la maturation et seules 10 % persistent chez l'adulte [392]. Ce phénomène résulte de l'élagage synaptique au cours du développement.

Une autre caractéristique du NRT est de présenter des synapses électriques formées par la Connexine 36 (voir Fig.I.1, [269]). Les synapses électriques sont connues pour générer des

activités synchrones au sein d'un réseau de neurones. Nous verrons plus loin que ces activités synchrones sont à l'origine des rythmes oscillatoires physio-pathologiques dans la boucle thalamo-corticale. De par cette caractéristique, le NRT est donc particulièrement important dans la génèse de ces oscillations. Les synapses électriques s'organisent sur un plan vertical et coordonnent les activités rythmiques du sommeil ou des épilepsies, alors que les synapses chimiques se trouvent plutôt sur un plan horizontal et modulent les informations sensorielles [132].

Le NRT est divisé en plusieurs secteurs, chacun étant impliqué dans une fonction précise (vision, toucher, audition, motricité, ou fonctions limbiques, [434]). Chaque secteur est connecté topographiquement avec plusieurs noyaux thalamiques d'ordres primaire et secondaire ainsi qu'avec plusieurs aires corticales, impliqués dans une modalité donnée [394]. Ces connexions sont propres à chaque secteur. Ainsi, le NRT sert de lien par lequel différentes aires corticales et noyaux thalamiques peuvent interagir, en modifiant la transmission thalamo-corticale via les connexions inhibitrices formées par les neurones réticulaires sur les différents neurones de relais [201]. Le NRT est donc un intégrateur spatio-temporel crucial des différentes modalités sensorielles, aussi déterminant pour l'état de conscience [392]. La ségrégation spatiale des projections axonales des neurones TC et CT au sein des divisions anatomo-fonctionnelles du NRT illustre ici encore l'organisation principalement en parallèle du système TC, permettant le transit simultané d'une multitude d'informations nerveuses, d'origines sensorielle et/ou corticale.

L'étude électrophysiologique des neurones réticulaires est connue pour être particulièrement difficile. Ces neurones sont en effet difficiles à repérer, ils présentent des réponses faibles et des champs récepteurs assez variables. Cependant, plusieurs études *in vivo* ont pu démontrer que le NRT des rongeurs est organisé en trois tiers. En commençant du bord thalamoréticulaire, les neurones du tiers interne, médian et externe projettent respectivement dans le POm, le VPM et le VPL [394, 392, 264]. Les neurones du POm, du VPM et du VPL projettent à leur tour principalement vers le tiers interne, médian et externe du NRT respectivement [265]. Ainsi, les enregistrements électrophysiologiques effectués dans le NRT, dans le cadre de cette thèse, se situent au niveau du tiers médian, connecté réciproquement avec le VPM.

Tout comme les neurones de relais, les neurones réticulaires expriment des canaux calciques à bas seuil, les Ca_v de type T (Table I.7). Ils peuvent donc présenter des décharges toniques lorsque leur potentiel de membrane est suffisamment dépolarisé, ou au contraire des bursts calciques quand leur potentiel de membrane est hyperpolarisé [120] (Fig.I.13). Nous reviendrons sur cette caractéristique particulière dans la partie I.6 traitant des activités rythmiques au sein du thalamus.

I.5.4 Le cortex somatosensoriel S1, ou cortex à tonneaux

Le cortex regroupe le néocortex (ou cortex cérébral), l'archicortex (l'hippocampe) et le cortex cérébelleux (le cervelet). Le néocortex est la partie du cerveau la plus récente à l'échelle de l'évolution. Chez les mammifères, le cortex cérébral est extrêmement complexe de par la multitude de ses sous-populations neuronales et aires interconnectées. Chaque population présente des caractéristiques d'innervation et un comportement électrophysiologique propre. De même, chaque aire est généralement impliquée dans une fonction donnée [142]. Cependant, ces différentes aires ne présentent pas de différences structurelles et leur fonction relève probablement plutôt d'un pré-câblage.

Le cortex somatosensoriel se situe au niveau du lobe pariétal (Fig.I.9) [81]. Comme nous l'avons vu précédemment, le cortex S1 est spécialisé dans l'intégration des informations sen-

sorielles en provenance de la périphérie et permet une représentation corticale des différentes parties du corps, notamment des vibrisses chez les rongeurs [513]. En plus des afférences thalamiques formant les voies sensorielles, le cortex à tonneau reçoit également des afférences modulatrices en provenance d'autres aires corticales (notamment l'aire primaire motrice vM1 et le cortex somatosensoriel secondaire) et du tronc cérébral (sérotonine, noradrénaline, dopamine, acétylcholine).

Anatomiquement, le cortex cérébral constitue une fine couche à la surface des hémisphères cérébraux. Son épaisseur est d'environ 2-4.5 mm, pour une superficie de 2.5 m^2 chez l'homme (il est extrêmement plissé de façon à augmenter sa surface dans un volume restreint), alors qu'il est lisse et mesure 0.3-0.8 mm pour 25 cm^2 chez la souris. La superficie du cortex est globalement proportionnelle à la taille et aux capacités cognitives de l'espèce. Il se compose de six couches, chacune comportant différentes classes de neurones et cellules gliales. Parmi les neurones, environ 85 % sont excitateurs, le reste étant des interneurones inhibiteurs [131]. Chaque couche présente des afférences et des efférences spécifiques [482].

En plus des six couches, le cortex est organisé en colonnes : chaque colonne corticale (comprenant les couches I-VI) forme une aire cyto-architectonique distincte [400]. Dans le cortex S1, chaque colonne reçoit les informations provenant spécifiquement d'une seule vibrisse (Fig.I.10). Ces colonnes sont facilement repérables sur des tranches de cerveau observées au microscope : chaque tonneau au niveau de la couche IV délimite une colonne [7]. Chez la souris, chaque colonne mesure environ 0,1 mm par 0.3-0.8 mm. Elle est composée de 6000 à 10000 neurones interconnectés et d'environ 10 millions de synapses provenant de circuits locaux [142, 275].

Ainsi, la structure du cortex est une grille à deux dimensions, avec une disposition des neurones d'une part en six couches horizontales et d'autre part en colonnes verticales.

I.5.4.1 Six couches corticales

Chaque couche corticale traite de façon spécifique l'information nerveuse et présente un profil neuronal et fonctionnel propre. Par exemple, la couche I contient principalement des axones, les couches II, III et VI des neurones dits pyramidaux. La démarcation entre les couches II et III est difficile ; on parle donc classiquement de couche II/III. La couche IV est composée principalement de neurones étoilés et la couche V de gros neurones pyramidaux. A priori, les neurones de ces différentes couches jouent des rôles différents et, tous ensembles, constituent l'algorithme utilisé par le cerveau.

De façon générale, la couche IV est le point d'entrée principal des informations au niveau cortical (Fig.I.11). C'est donc dans cette couche que débute le traitement des informations [143]. Les neurones de la couche IV relayent ensuite l'information vers la couche II/III et dans une moindre mesure vers la couche V.

L'information est alors mise en relation avec d'autres entrées sensorielles. Dans le cas de la somesthésie, cela inclut la représentation du mouvement des vibrisses (provenant du POm), la planification motrice (provenant de l'aire vM1) et le contexte comportemental (des systèmes neuromodulateurs). La convergence des signaux tactiles et des signaux de position des vibrisses permet de décoder la localisation et l'identité de l'objet [123].

Les neurones de la couche II/III relayent à leur tour l'information vers les couches V et VI. Les couches II/III, V et VI constituent les points de sortie principaux du néocortex : leurs neurones envoient leurs axones dans différentes régions cérébrales et dans les colonnes corticales voisines, permettant ainsi de distribuer et d'intégrer les informations sensorielles de façon plus globale dans le SNC.

Comme mentionné précédemment, on trouve dans la couche IV du cortex S1 des structures cyto-architectoniques particulières appelées tonneaux, où projettent les afférences thalamo-corticales. Chez le rongeur, chaque tonneau contient environ 4000 neurones [325]. Une différence notable est que chez le rat, les tonneaux sont séparés par des septa, qui sont presque inexistants chez la souris [503].

I.5.4.2 Trois grandes classes de neurones interconnectés dans la couche IV

Nous allons décrire plus précisément les sous-types neuronaux que l'on trouve dans la couche IV, où aboutissent les terminaisons thalamiques étudiées dans le cadre de cette thèse. De façon générale, la structure du cortex est très complexe. On y trouve un grand nombre de sous-types de neurones excitateurs et inhibiteurs, et chaque cellule cérébrale est unique en certains aspects, signifiant que l'on pourrait créer autant de catégories qu'il n'y a de neurones [20]. De quoi faire tourner la tête quand on sait qu'il existe plus de 100 sous-types GABAergiques différents et d'autant plus de neurones excitateurs.

On peut cependant regrouper ces neurones en trois grandes classes : la première classe, les neurones excitateurs, regroupe tous les neurones glutamatergiques. Les seconde et troisième classes comportent deux grands types d'interneurones GABAergiques, désignés selon leurs propriétés électrophysiologiques. Lorsqu'on injecte intracellulairement du courant dans les premiers, ils répondent en émettant des potentiels d'action rapides, de fréquence régulière et élevée jusqu'à la fin du stimulus : ce sont les interneurones *"Fast-Spiking"* (ou FS). Les seconds répondent avec des PA plus lents et réguliers, dont la fréquence décroit au fur et à mesure de la stimulation (adaptation) : ce sont les interneurones *"Regular-Spiking"* (ou RS). Malgré quelques différences subtiles, le profil de décharge des interneurones Regular-Spiking est relativement similaire à celui des neurones excitateurs. Cet aspect sera développé dans la partie II.3.

Localement, ces neurones forment des microcircuits corticaux intra- ou inter-laminaires, où un neurone est connecté et rétrocontrôlé directement à la fois par des cellules excitatrices et inhibitrices. De par cette rétroaction, ces circuits sont appelés récurrents [143]. Généralement les neurones pyramidaux projettent sur de longues distances et les connexions locales interlaminaires fournissent une excitation robuste et précise dans des microcircuits récurrents. Les collatérales des axones excitateurs intracorticaux sont la source principale de l'excitation corticale [483, 431].

Le nombre de neurones excitateurs est cinq fois supérieur à celui des inhibiteurs, ce ratio pourrait donc générer une rétroaction positive instable. Cependant, grâce à ces connexions récurrentes entre les neurones excitateurs et inhibiteurs, l'inhibition augmente proportionnellement à l'excitation. Les deux forces opposées restent donc approximativement équilibrées. Lorsqu'un stimulus thalamo-cortical atteint un neurone de la couche IV, il domine l'activité du neurone en question, mais les circuits récurrents vont sélectivement amplifier ou inhiber cette entrée sensorielle [142]. Le plus ancien et remarquable exemple d'amplification "sélective" est la préférence d'orientation des neurones de la couche IV du cortex visuel chez le chat. Quand ces neurones reçoivent des entrées thalamo-corticales monosynaptiques, ils peuvent amplifier l'excitation générée par un stimulus présentant une orientation optimale, ou au contraire supprimer l'excitation générée par des stimuli non-optimaux [144].

Cette caractéristique d'excitation et d'inhibition, d'amplification ou d'atténuation et d'équilibre entre l'excitation et l'inhibition, sont les attributs fondamentaux des circuits corticaux [142]. Cet arrangement est une caractéristique ancestrale de l'évolution du système nerveux et pas seulement du néocortex, comme l'ont révélés les études de Sherrington sur les réflexes spi-

naux. L'excitation et l'inhibition sont toujours en tandem et constituent un équilibre variable qui contrôle le fonctionnement du SNC [435].

I.5.4.3 Neurones excitateurs

La couche IV du cortex à tonneau contient approximativement 85 % de neurones glutamatergiques [275]. Ces neurones sont regroupés en forme d'anneau (formant les bords du tonneau), chaque anneau entourant un cylindre pauvre en cellule (le creux du tonneau). Leurs dendrites sont orientés vers l'intérieur du tonneau, sans s'étendre au-delà des bords [270]. Approximativement un tiers des neurones excitateurs sont connectés au sein d'un même tonneau, alors que la connectivité entre deux tonneaux voisins est plus limitée. Cela souligne le fonctionnement indépendant de chaque tonneau de la couche IV [381].

Les neurones excitateurs du néocortex peuvent être subdivisés en trois groupes : les neurones pyramidaux, les non-pyramidaux épineux et les non-pyramidaux non-épineux. Ces derniers ne sont pas représentés dans la couche IV. Les neurones pyramidaux et les non-pyramidaux coexistent donc et présentent des réponses spécifiques aux mouvements d'une vibrisse [61].

Ils reçoivent 2000 à 20000 entrées synaptiques. Cependant, seul un nombre restreint de synapses est actif en même temps. Les afférences thalamocorticales constituent la majorité de ces synapses, le reste étant formé par des neurones intra-tonneau [262]. Les neurones excitateurs forment 3 à 12 synapses pour innerver leurs cibles (principalement dans la couche IV et II/III de la même colonne) [203, 483].

Les neurones non-pyramidaux épineux sont majoritaires dans la couche IV. Ils présentent des axones courts et ont souvent une morphologie étoilée, pouvant se rapprocher de celle triangulaire des neurones pyramidaux : ce sont les neurones épineux étoilés [293]. Ils reçoivent principalement des synapses excitatrices ou inhibitrices provenant de neurones voisins du même tonneau [421]. Les neurones pyramidaux quant à eux présentent des entrées excitatrices additionnelles en provenance des tonneaux voisins. Comme pour les neurones épineux étoilés, leur inhibition est contrôlée par des interneurones appartenant au même tonneau. Ainsi, les neurones épineux étoilés agissent préférentiellement comme des processeurs des signaux locaux, au sein d'un tonneau, alors que les cellules pyramidales intègrent plus globalement les informations horizontales et verticales au sein d'une colonne et entre les tonneaux voisins.

I.5.4.4 Interneurones inhibiteurs : Fast-Spiking et Regular-Spiking

Approximativement 15 % des neurones du cortex à tonneau sont GABAergiques, non-épineux ou faiblement épineux [275]. Ces interneurones ont diverses caractéristiques morphologiques et fonctionnelles [304, 483]. Ils sont généralement impliqués dans les circuits locaux, car ils innervent principalement des neurones au sein d'une colonne [398].

Deux classes d'interneurones coexistent dans la couche IV : ceux qui expriment la parvalbumine (PV^+), les Fast-Spiking (FS) et ceux qui expriment la somatostatine (SOM^+), les Regular-Spiking (RS) [80, 382, 454]. Tout comme les cellules excitatrices, ces interneurones reçoivent des entrées monosynaptiques en provenance des neurones de relais thalamiques [5].

Parmi ces interneurones GABAergiques, la sous-classe majoritaire et la mieux définie est celle des interneurones FS [454]. Dans le cortex murin, ces interneurones sont majoritaires dans la couche IV. Un exemple cellulaire d'interneurones FS très représenté dans la couche IV est la cellule en panier multipolaire (*multipolar basket cell*) ainsi que les cellules Chandeliers. De même, citons les cellules de Martinotti et les cellules bitouffues (*bitufted cells*) comme exemple d'interneurones RS [243].

Les interneurones reçoivent seulement 200 à 1000 synapses (à cause de leur arborisation dendritique simple). Ces synapses sont formées par des neurones intra-colonne, de colonnes voisines et de régions cérébrales distantes. Dans la couche IV leurs entrées sont principalement restreintes aux afférences thalamo-corticales et aux neurones intra-tonneau [203, 304, 483], tout comme les neurones excitateurs. Ils répondent aux stimuli thalamo-corticaux avec une efficacité nettement supérieure à celle des neurones excitateurs [398, 115]. Les interneurones forment de nombreuses et de larges synapses sur leurs cellules cibles (plus de 30 synapses par connexion) [203]. Ils présentent parfois des synapses électriques avec d'autres interneurones [189].

Il a été proposé que les interneurones FS sont les principaux médiateurs de l'inhibition périsomatique dans le cortex, qui contrôle puissamment l'incidence, le profil et le décours temporel des décharges des cellules excitatrices [398, 469]. Les synapses formées par les interneurones RS sont plus distales au niveau dendritique et impacteraient de façon moindre l'excitabilité neuronale. Ainsi, les caractéristiques de décharge, de réactivité aux entrées thalamo-corticales et d'innervation font des interneurones FS les médiateurs primaires de la réponse inhibitrice en aval (*feedforward inhibition*) des entrées TC au sein de la circuiterie [398, 33]. Les interneurones FS sont innervés par les collatérales des neurones excitateurs de la couche IV ainsi que par les autres interneurones FS locaux, mais moins fréquemment par les interneurones RS [454]. Les neurones FS sont capables d'induire des inhibitions disynaptiques en aval, mais également de rétroinhiber les neurones glutamatergiques qui les innervent [33, 469]. Ils ont donc un rôle prépondérant dans le contrôle de l'excitabilité corticale et un impact important sur l'activité de la boucle thalamo-corticale.

D'un point de vue fonctionnel, la couche IV agit comme une porte inhibitrice pour les informations sensorielles afférentes. Son mode de traitement de l'information est inhibiteur [396]. L'idée prévalente actuelle est que la convergence des afférences thalamiques activent efficacement et rapidement les interneurones et dans une moindre mesure les neurones excitateurs de la couche IV [398, 472]. *In vivo*, cette circuiterie nécessite donc une entrée thalamique forte et synchrone pour échapper à l'inhibition [65]. Cela permet de ségréger l'information tactile et d'ajuster finement le champ récepteur à l'espace correspondant dans la carte somatotopique [328].

I.5.5 Adaptation de la boucle Thalamo-Corticale

Contrairement à celles du chat, les vibrisses de la souris sont mobiles et contrôlées activement. Ainsi, lors d'une démarche exploratoire, le rongeur impose à ses vibrisses une oscillation antéropostérieure de grande amplitude, à une fréquence comprise entre 5 et 10 Hz [77, 253]. Ce comportement oscillatoire appelé "*whisking*" bien que fréquent n'est cependant pas systématique : il intervient lors de la reconnaissance spatiale d'objets, en particulier suivant la direction horizontale, direction du *whisking* [256]. Ces oscillations engendrent des phénomènes de plasticité à court terme au niveau des réseaux thalamiques et corticaux, comme ceux décrits dans la partie introductive I.1.7 : la dépression ou la facilitation synaptique.

Ainsi, lorsqu'on stimule une vibrisse de façon répétitive, la réponse corticale évoquée à partir de la seconde stimulation sera plus faible que la réponse initiale [443]. Ce phénomène est communément appelé "adaptation". Il correspond à une non-linéarité de l'intégration temporelle de stimuli appliqués consécutivement. L'adaptation a été étudiée en détail dans le cortex à tonneaux [181, 115, 494] et le thalamus [78, 94, 184, 488]. L'adaptation se met en place pour des stimulations de 2 Hz et est considérée comme maximale aux alentours de 10-15 Hz.

Après des stimulations répétitives du système thalamo-cortical, on observe une dépression

à court terme dans les synapses des neurones drivers, comme celles des neurones de relais thalamiques qui projettent dans les tonneaux de la couche IV. Au contraire, on observe une facilitation à court terme dans les synapses des neurones modulateurs, comme celles des neurones pyramidaux de la couche VI projetant vers le VPM et le NRT [401, 332]. Il en résulte donc une diminution de la transmission de l'information sensorielle au niveau cortical (la perception du stimulus est amoindrie), mais une augmentation de la modulation de ces informations. Cette adaptation permet à la circuiterie de discriminer finement les nouveaux stimuli des stimuli préalables, répétitifs et ainsi de réagir de façon appropriée à l'environnement. Imaginons par exemple que l'on se trouve dans un environnement bruyant. Au début le bruit est insupportable, mais rapidement on n'y prêtera plus attention. Nos voies auditives s'adaptent à ce bruit soutenu. Par contre, si un nouveau stimulus sonore apparait dans l'environnement, nous l'entendrons de façon distincte, car d'autres neurones seront sollicités et leur réponse ne sera pas atténuée. La perception du nouveau bruit sera amplifiée par rapport au bruit de fond. Il en est de même pour toutes les modalités sensorielles.

Des défauts de plasticité peuvent engendrer des activités anormales au sein du réseau TC. Le rôle du récepteur mGlu7a dans l'induction de la plasticité à court terme a été étudié dans le cadre de cette thèse (voir section I.7).

I.6 Rythmes physio-pathologiques du réseau Thalamo-Cortical

I.6.1 Oscillations du circuit Thalamo-Cortical pendant l'éveil

On peut examiner l'activité globale du réseau thalamo-cortical grâce à un électroencéphalogramme (EEG), qui capte les activités électriques extracellulaires dans les différentes régions cérébrales concernées. Le signal électrique recueilli correspond à l'activité d'un ensemble de neurones situés à proximité des électrodes. Ainsi, plus le nombre de neurones actifs de façon synchrone est grand, plus le signal extracellulaire recueilli est fort. Si cette forte activité est rythmique et synchrone, on obtient des oscillations d'une ou de plusieurs régions cérébrales interconnectées, comme c'est le cas pour le thalamus et le cortex. Les profils EEG de l'activité de la boucle thalamo-corticale sont très différents selon l'état de vigilance, éveillé, ou endormi.

Lors de l'éveil, d'un état attentif ou d'une performance cognitive, les neurones de relais du VPM sont sous l'influence excitatrice des afférences en provenance des centres de l'éveil du tronc cérébral (notamment des noyaux mésopontins cholinergiques et de la formation réticulée mésencéphalique, [461, 314]). Les neurones de relais sont donc dépolarisés et déchargent de façon tonique (leurs canaux Ca_v de type T sont inactivés, voir Fig.I.13) en réponse aux activités afférentes périphériques ou centrales. Dans cet état, les entrées inhibitrices des neurones du NRT sont moins efficaces, servant seulement à accentuer le contraste entre les signaux relayés au niveau cortical et le bruit de fond [455].

Ce mode tonique permet aux neurones du VPM de relayer de façon fidèle et efficace les informations sensorielles au niveau du cortex à tonneaux, où elles seront traitées [431]. Les neurones thalamiques présentent donc normalement une activité peu synchrone, durant laquelle seul un nombre limité de neurones s'active simultanément. Cette activité thalamique étant relayée au niveau du cortex à tonneau, on observe des rythmes similaires au niveau cortical. Cela se manifeste sur l'EEG par des oscillations de fréquence élevée mais de faible amplitude dans le réseau correspondant à des ondes α (8-12 Hz), ou à des ondes β (13-30 Hz) lors d'une activité cérébrale plus soutenue [461]. On distingue aussi le rythme γ (30-80 Hz), dont la haute fréquence reflète un dialogue entre différentes régions cérébrales, permettant à l'individu de former un concept cohérent et conscient de son environnement [286].

I.6.2 Oscillations du circuit Thalamo-Cortical pendant le sommeil

Lorsque l'influence des systèmes neuromodulateurs diffus du tronc cérébral diminue, la membrane des neurones de relais s'hyperpolarise et induit le changement du mode de décharge des neurones du VPM [461] : c'est l'endormissement. Les neurones de relais sont alors hyperpolarisés. Cette hyperpolarisation induit la désinactivation des canaux Ca_v de type T et la génèse de bursts calciques qui vont activer fortement les neurones du NRT [221].

Les neurones réticulaires expriment eux aussi des canaux de type T (voir Table I.7) et vont à leur tour émettre des bursts calciques et libérer du GABA au niveau des neurones réticulaires adjacents et des neurones de relais. Les synapses électriques des neurones réticulaires (voir section I.5.3.2) favorisent l'activité synchrone de larges groupes de neurones au sein du NRT [314, 132]. Remarquez que cette transition vers le mode burst peut aussi avoir lieu lors d'une diminution du tonus excitateur, ou en présence de substances neuromodulatrices endogènes ou exogènes [314, 78]. Cette forte influence inhibitrice va entraîner l'oscillation à basse fréquence des neurones de relais [113, 145]. Dans cet état, les neurones de relais sont incapables de relayer l'information sensorielle au cortex, d'où la perte totale de sensorialité lors du sommeil. Ainsi, l'ouverture des canaux Ca^{2+} à bas seuil confère aux neurones thalamiques la capacité très particulière de produire des PA alors qu'ils sont hyperpolarisés [315].

Ces oscillations sont distribuées et relayées au niveau cortical, jusqu'à ce que le réseau tout entier oscille de façon synchrone [109, 108]. Elles sont renforcées par l'excitation répétitive des neurones réticulaires, non-seulement via les collatérales des axones thalamo-corticaux, mais aussi par les afférences corticales rétroactives provenant de la couches VI [221]. Cela instaure des oscillations à basse fréquence de forte amplitude dans toute la boucle thalamo-corticale caractéristiques de l'état d'endormissement. Ce sont les rythmes θ (3-8 Hz) ou δ (0,5-3 Hz) selon les phases de sommeil [461]. Ces différentes phases sont appelées NREM pour *Non-Rapid Eye Movement*, en opposition aux courtes phases de sommeil paradoxal à la fin des cycles de sommeil qui se caractérisent par des mouvements oculaires rapides (REM pour *Rapid Eye Movement*). Durant le sommeil REM, l'activité cérébrale est presque identique à celle observée pendant l'éveil. C'est la phase de sommeil au cours de laquelle se produisent les rêves dont on se souvient. Durant le sommeil NREM, les oscillations à ondes lentes ($<$ 1 Hz) caractéristiques impliquent une communication entre le VPM, le NRT et le cortex [457, 117]. Lors de ces ondes lentes, les neurones thalamiques et corticaux présentent des bursts réguliers à $\approx$ 1 Hz, pendant lesquels on distingue les périodes de dépolarisation (pendant lesquelles on a généralement des PA) et les périodes d'hyperpolarisation (sans décharges) [458, 462]. Ces deux périodes sont actuellement référées sous l'appellation d'état UP (*UP state*) et DOWN (*DOWN state*) respectivement. Les états UP et DOWN des neurones thalamiques et des neurones corticaux présentent une forte corrélation temporelle [462]. Les oscillations lentes présentent des périodes de fuseaux de sommeil et d'ondes δ lors des états UP et DOWN respectivement, dans une préparation de cerveau isolé. Cependant, si on dissocie expérimentalement le thalamus du cortex et que l'on enregistre l'activité des neurones corticaux isolés (*in vitro*, ou *in vivo* en lésant électrolytiquement le thalamus), on s'aperçoit que ces oscillations lentes persistent au niveau cortical, suggérant que ces états UP et DOWN sont générés dans le néocortex [458, 462]. En effet, la nature hautement interconnectée du cortex cérébral lui permet aussi de générer des activités rythmiques spontanées [316, 456, 221]. Lors des états UP, ressemblants aux états observés lors de l'éveil [459], les neurones corticaux génèrent une activité rythmique autonome de fréquence γ. Ces rythmes sont supportés par les circuits récurrents entre les neurones excitateurs et les interneurones inhibiteurs (voir la partie I.5.4.2), notamment les cellules pyramidales et les interneurones FS respectivement [486, 209].

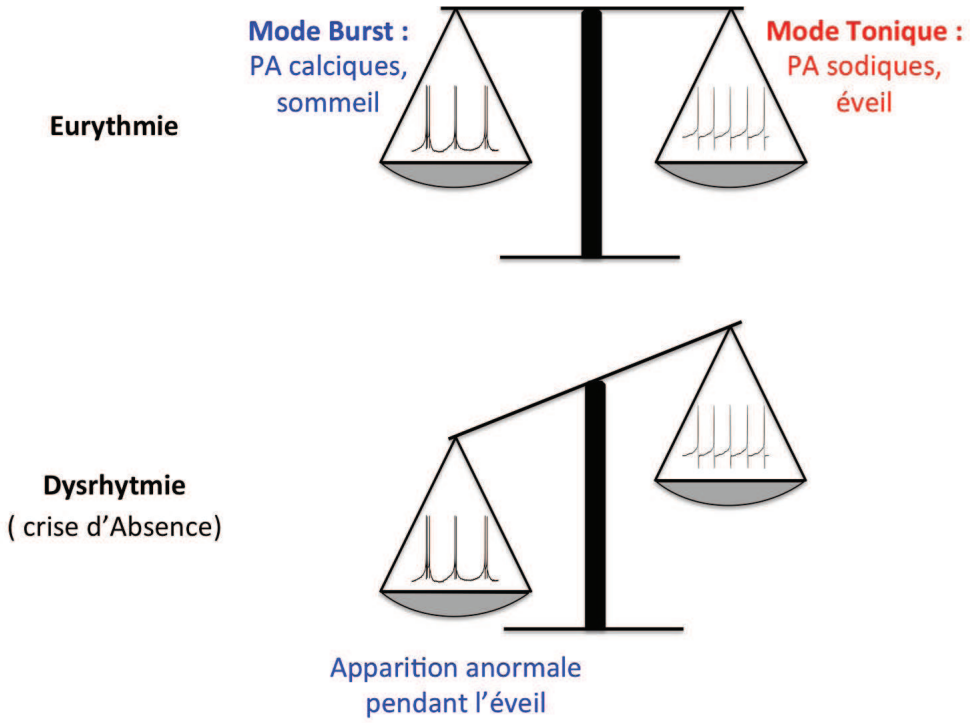


FIGURE I.14 – **Représentation schématique des activités électrophysiologiques thalamiques en conditions physio-pathologiques.**

En condition physiologique (eurythmie), il existe un équilibre entre les deux modes de décharge des neurones thalamiques : tonique pendant l'éveil et burst pendant le sommeil. Si le mode burst s'active de façon anormale lors de l'éveil (dysrythmie), cela peut induire des crises d'absence. Modifié de [501].

Ainsi, le thalamus et le cortex sont tout deux capables de générer des rythmes oscillatoires autonomes. Les nombreuses connexions réciproques assurent une forte synchronisation de leurs activités [456, 221].

I.6.3 Oscillations pathologiques : épilepsie de type Absence

I.6.3.1 Généralités

Des pathologies peuvent apparaître lorsque les activités des régions thalamiques et corticales sont anormales. C'est le cas des épilepsies de type absence, caractérisées par des oscillations lentes et synchrones de la boucle thalamo-corticale [456, 221]. Ces oscillations, similaires à celles observées lors du sommeil [32], apparaissent de façon anormale pendant la journée. Lors du sommeil elles coïncident temporellement avec les fuseaux de sommeil (Fig.I.14, [277]).

L'épilepsie de type absence est une épilepsie idiopathique, généralisée et non-convulsive, dont l'étiologie génétique est multifactorielle [119]. Les oscillations, ou Dépolarisations en Pointe-Onde (DPO ; *spike-and-wave discharges* ou SWD en anglais), sont accompagnées d'un arrêt comportemental et d'une suspension de la conscience de plusieurs secondes [154, 119]. Contrairement aux crises convulsives, les crises absences ne s'accompagnet pas de signes moteurs et sont difficiles à détecter. Sur l'EEG, elles sont reflétées par des DPO synchrones et bilatérales du cortex à environ 3 Hz chez l'homme. Les épilepsies absences infantiles commencent à 5-6 ans et disparaissent généralement à l'adolescence. Cette pathologie représente

environ 5 à 10 % des épilepsies de l'enfance. Les crises absence peuvent subvenir plus d'une centaine de fois par jour [154, 119, 168], ce qui perturbe la vie sociale, scolaire et l'apprentissage chez l'enfant atteint de cette pathologie, pouvant engendrer des problèmes socio-culturels importants.

De façon générale, les crises épileptiques sont induites par des réseaux hyperexcitables [316, 463, 221]. Les traitements des épilepsies convulsives visent généralement à rétablir la balance excitation/inhibition, notamment en augmentant la transmission GABAergique [316]. Par contre, l'épilepsie absence résulte directement ou indirectement d'une sur-inhibition thalamique aboutissant au mode burst caractéristique et à une perte de contrôle tonique des neurones thalamiques. L'inhibition doit donc être finement régulée pour conserver un fonctionnement tonique de ces neurones [221]. Les crises d'absence sont inhibées par le valproate (inhibe la GABA transaminase), l'éthosuximide (inhibe notamment les Ca_v de type T ; traitement actuel principal), les antagonistes du récepteur $GABA_B$ et sont aggravées par la carbamazépine (inhibe les Na_v) [118].

I.6.3.2 Mécanismes cellulaires des crises d'absence

Le petit nombre de médicaments sur le marché reflète le manque de connaissance des acteurs moléculaires et cellulaires précis sur lesquels il serait possible d'agir. La compréhension des mécanismes cellulaires qui sous-tendent aux crises d'absence s'avère difficile de par la complexité de la circuiterie et des comportements individuels de ses composants. Chez l'homme, les nombreuses études génétiques ont tenté d'identifier des candidats moléculaires pouvant induire ces crises, mais ont été peu concluantes [119, 517]. Plusieurs polymorphismes associés à l'épilepsie absence ont été trouvés notamment au niveau des récepteurs $GABA_A$ et des canaux Ca_v (voir Table I.9). Des loci induisant une susceptibilité aux épilepsies absence ont également été trouvés parmi les récepteurs acéthylcholinergiques et opioïdes, ainsi que parmi certaines protéines autres que des canaux ioniques. Certaines mutations induisent des phénotytpes additionnels aux épilepsies absence, comme par exemple des ataxies ou encore des crises d'épilepsie myocloniques.

La localisation exacte des sites d'initiation des crises reste encore débattue. Quatre théories principales sur la patho-physiologie des crises d'absence ont été proposées [320]. La première est la théorie "centrencéphalique" proposée en 1954 [377], suggérant que les crises prenaient leur origine dans la ligne médiane thalamique, au niveau d'un un pacemaker profond projetant de façon diffuse dans les deux hémisphères. Ce concept fût redéfini en 1991 avec la théorie d'"horloge thalamique" [69], établie sur le fait que le NRT contient des cellules pacemakers qui imposent leur rythme au cortex. La théorie "cortico-réticulaire" quant à elle, proposée en 1968 [191], associe les DPO aux mécanismes impliqués dans la génèse des fuseaux de sommeil. Les oscillations rythmiques du thalamus sont transformées en DPO quand le cortex est hyperexcitable. En 2002, une étude à confirmé dans un modèle épileptique de rat que l'intégralité du réseau thalamo-cortical est requis pour générer les DPO [321]. Le foyer se situe dans la région périorale du cortex S1. La crise se propage alors à travers le cortex. Durant le premier cycle de la crise le cortex dirige le thalamus, alors que par la suite le cortex et le thalamus entretiennent mutuellement les DPO, amplifiant et maintenant la rythmicité des décharges. Ainsi, cette théorie du "foyer cortical" (*Cortical focus theory*) fait le lien entre les théories corticales et thalamiques [320]. Cependant, il est impossible de vérifier si le foyer cortical résulte d'une activité anormale de quelques neurones thalamiques, non détectable avec les techniques actuelles.

Depuis, de nombreuses études ont mis en évidence la similarité des oscillations liées aux

TABLE I.9 – **Polymorphismes associés à l'épilepsie absence chez l'homme.**

Gène	Protéine	Autres affectations neurologiques associées	Effet fonctionnel de la mutation
GABRG2	Sous-unité $\gamma 2$ du récepteur $GABA_A$	Crises fébriles	$\downarrow$ courant $GABA_A$; probable protéine tronquée
GABRA1	Sous-unité $\alpha 1$ du récepteur $GABA_A$		Pas de courant $GABA_A$
GABRB3	Sous-unité $\beta 3$ du récepteur $GABA_A$		$\downarrow$ niveau transcriptionnel du gène GABRB3 ; altérations de la maturation protéique, la topologie, l'assemblage et la localisation subcellulaire du récepteur $GABA_A$
CACNA1A	Sous-unité $\alpha 1$A du Ca_v P/Q	Ataxie	$\downarrow$ courant Ca^{2+} ; $\downarrow$ fonction des canaux Ca^{2+}
CACNA1G	Sous-unité $\alpha 1$G des canaux LVA	Cas sporadiques d'épilepsie myoclonique juvénile	$\uparrow$ courant Ca^{2+} et cinétiques d'inactivation rapides, ou pas d'altérations selon les cas
CACNA1H	Sous-unité $\alpha 1$H des canaux LVA		$\uparrow$ activité des canaux de type T ; probables modifications de la transcription et de la phosphorylation des canaux
CACNG3	Sous-unité $\gamma 3$ des canaux Ca_v		
CHRNA4	Sous-unité $\alpha 4$ du nAchR		
OPRM1	Sous-unité μ du récepteur opioïde1		
ME2	Enzyme malique 2	Crises généralisées tonico-cloniques	
Glud1	Glutamate déshydrogénase	Epilepsie absence myoclonique ; syndrôme d'hyperinsulinisme et d'hyperammoniémie	$\downarrow$ niveau de GABA
JRK/JH8	Homologue de Jerky	Epilepsie myoclonique juvénile	
LGI4	Gliome inactivé riche en leucine 4		
SLC2A1	Transporteur du glucose Glut1		$\uparrow$ transport du glucose
INHA	Sous-unité α inhibine		

Canaux LVA, canaux à bas seuil d'activation (*Low Voltage Activated*) ; nAchR, récepteur nicotinique de l'acéthylcholine. D'après [119] et [517].

fuseaux de sommeil et celles liées aux crises d'absence. Il fût donc proposé que les DPO correspondent à une "perversion" des processus à l'origine des fuseaux de sommeil au niveau du thalamus et du cortex [314]. Depuis ces vingt dernières années, de nombreux travaux ont largement étayé cette hypothèse, en particulier les études *in vitro* ou *in vivo* des oscillations thalamiques après des manipulations pharmacologiques ou génétiques des récepteurs du GABA [449, 478, 277], du glutamate [85, 447, 346] et des canaux Ca^{2+} [438, 501].

Ces trois acteurs clés (le glutamate, le GABA et le Ca^{2+}) contrôlent collectivement l'excitabilité neuronale. Comme on a pu le voir dans les premières parties de ce manuscrit, leurs voies de signalisation sont en tout point et en tout temps liées. Si l'un de ces protagonistes fonctionne anormalement, cela se répercute sur les deux autres, perturbant globalement le réseau thalamo-cortical [32, 277]. Ainsi, tout les éléments capables de favoriser la transition vers le mode burst avec la génèse d'activités TC synchrones sont susceptibles d'induire des crises d'absences.

I.6.3.3 Modèles murins d'épilepsie absence et souris KI mGlu7^{AAA}

Plusieurs animaux mutés génétiquement décrits dans la Table I.10 ont permis de révéler des mécanismes moléculaires et cellulaires sous-tendant aux crises d'absence [119]. Ces modèles animaux présentent quelques différences par rapport à l'homme, que ce soit au niveau des sites d'initiation, de l'âge d'apparition des crises, ou encore des rythmes générés durant les oscillations. De plus la pathologie disparait généralement à la puberté chez l'homme, alors qu'elle persiste chez la souris.

Les profils des DPO des rats GAERS (*Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg*, [126]) et WAG/Rij (*Wistar albino Glaxo from Rijswijk*, [97]) ont été très étudiés. Ces modèles résultent de mutations multigéniques spontanées : le rôle individuel des acteurs moléculaires est donc plus difficiles à décrypter. Leurs manifestations EEG et comportementales sont relativement similaires à celles des absences typiques [320]. Ces caractéristiques, combinées au fait que ces crises sont spontanées, associées avec un arrêt comportemental et répondent aux traitements anti-absence [126, 97] en font de bons modèles pour l'étude des épilepsies absences. Les principales différences avec l'homme sont une fréquence supérieure des oscillations (≈6 Hz vs. 3 Hz), l'apparition tardive et persistante des crises et certaines composantes comportementales.

Certaines mutations génétiques trouvées chez des patients atteints d'épilepsie absence et ont été reproduites chez la souris. Ces mutations affectent notamment différentes sous-unités des canaux Ca_v, des récepteurs $GABA_A$, des canaux HCN2 ou encore des canaux Na_v. Seul un petit nombre de mutations (récapitulées dans la Table I.10) induisait des DPO typiques et spontanées des épilepsies absence chez ces modèles. Les souris mutantes sont de bons indicateurs des processus pathologiques de l'épilepsie absence, bien que leurs DPO aient pour la plupart une fréquence plus élevée que celles de l'homme (Table I.10). Mis à part les souris mutantes pour la sous-unité $\gamma 2$ du récepteur $GABA_A$, tous les autres mutants présentent des manifestations neurologiques et neuropathologiques supplémentaires, notamment des déficits ataxiques et des anomalies cérébelleuses [119]. Ils constituent donc de bons modèles d'ataxie, présentant de surcroît les DPO caractéristiques des absences. L'apparition tardive des crises chez la souris adulte fait opposition à l'apparition durant l'enfance chez l'homme. Cela peut s'expliquer par la maturation des réseaux neuronaux qui est propre aux deux espèces. Le phénotype absence de ces souris est aboli par l'éthosuximide, un médicament utilisé classiquement contre les crises absences chez les patients [118].

Table I.10 – **Altérations génétiques et phénotypiques des modèles animaux d'épilepsie absence.**

Modèle	Fréquence et durée des DPO	Ontogénèse des signes ictaux	Anomalies neuropathologiques et comportementales	Chromosome et gène/protéine	Effet de la protéine mutante
Rat GAERS	7-11 Hz ; 0.5-75s	>30 jours	Altérations astrocytaires ; gain de fonction des canaux Ca_v 3.2		
Rat WAG/Rj	7-11 Hz ; 1-45 s ; rares DPO à 6 Hz	>75 jours	Gain de fonction des canaux Ca_v 3.1 ; ↓ expression et fonction des récepteurs $GABA_B$		
Rat HVS : Fisher 344, Brown Norway	7 Hz, 8 Hz (mâles)		Mouvements myocloniques		
Souris Tottering	6-7 Hz ; 0.3-10 s	>30 jours	Innervation noradrénergique ; dégénérescence cérébelleuse ; ataxie modérée/sévère ; dystonie ; rares mouvements tonico-cloniques	Ch 8 ; sous-unité $\alpha 1$ du canal Ca^{2+} P/Q	Baisse des courants Ca^{2+} P/Q dans les cellules de Purkinje
Souris Léthargique	5-6 Hz ; 0.6-5 s	>3 semaines	Ataxie et perte de coordination motrice ; myoclonus focaux	Ch 2 ; sous-unité $\beta 4$ du canal Ca^{2+}	
Souris Stargazer	6 Hz	>2 semaines	Ataxie ; trouble des fonctions vestibulaires ; augmentation du *sprouting* des fibres moussues hippocampiques	Ch 15 ; sous-unité $\gamma 2$ du canal Ca^{2+}	Modification de la dépendance au voltage des canaux Ca^{2+} P/Q
Souris Mocha2j	6 Hz		Hyperactivité	Ch 10 ; complexe adaptator-like protein (AP-3)	
Souris Slow-wave-epilepsy	3-4.5 Hz	Dépend du fond génétique	Ataxie ; crises tonico-cloniques ; neurodégénérescence des noyaux cérébelleux, vestibulaires et cochléaires	Ch 4 ; échangeur Na^+/H^+ (Nhe1)	
Souris Ducky	6 Hz		Ataxie ; dyskinésie paroxymale ; dysgénèse du cervelet et de la corde épinière ; altération de la morphologie des cellules de Purkinje	Ch 9 ; sous-unité $\alpha 2\delta 2$ du canal Ca^{2+} HVA	Perte de fonction de la sous-unité $\alpha 2\delta 2$
Souris $GABA_A$ $\gamma 2$ (R34Q)	5-8 Hz	< 2 semaines		Ch 11 ; sous-unité $\gamma 2$ du récepteur $GABA_A$	Baisse de l'expression surfacique du récepteur $GABA_A$
Souris $GABRB3^{-/-}$	DPO atypiques	< 2 mois	Crises myocloniques ; troubles de la cognition et de la coordination motrice	Ch 15 ; sous-unité $\beta 3$ du récepteur $GABA_A$	Baisse des courants $GABA_A$
Souris $GRIA4^{-/-}$	6-7 Hz		Hyperactivité ; baisse de la nociception thermique	Ch 9 ; sous-unité $\alpha 4$ du récepteur AMPA	Perte de fonction de la sous-unité $\alpha 4$
Souris $HCN2^{-/-}$	5 Hz		Baisse de l'activité locomotrice ; augmentation de l'activité des canaux Ca_v de type T	Ch 10 ; canal K^+/Na^+ activé par l'hyperpolarisation et bloqué par les nucléotides cycliques	Perte de fonction du canal Hcn2
Souris $SCN8A^{-/-}$	7-9 Hz		Ataxie ; troubles locomoteurs	Ch 15 ; canal Na_v 1.6	Perte de fonction du canal sodique
Souris KI $mGlu7^{AAA}$	**6-7 Hz**	**>5 semaines**	**Déficits de mémoire de travail spatiale ; voir résultats de la thèse**	**Ch 3 ; motif de liaison du domaine PDZ de mGlu7a**	**Voir résultats de la thèse**

De façon générale, ces mutations aboutissent *in fine* directement ou indirectement à l'augmentation des courants calciques de type T des neurones du NRT et du VPM et à la susceptibilité d'induire le mode burst dans ces neurones [120]. De plus, l'inhibition intra-NRT formée par les collatérales des neurones du NRT eux-mêmes est cruciale pour contrôler l'excitabilité thalamique. Le blocage de cette inhibition intra-NRT induit des décharges hypersynchrones au sein du NRT d'environ 3 Hz [132, 32], similaires aux DPO observées chez l'homme [314]. Dans les modèles génétiques, l'inhibition phasique $GABA_A$ est soit identique soit augmentée, alors que l'augmentation de l'inhibition tonique via les récepteurs $GABA_A$ extrasynaptiques est toujours observée, à la fois dans les modèles génétiques et pharmacologiques [110, 116]. De plus, la diminution des courants CT dans les neurones réticulaires chez les souris déficientes en la sous-unité GluR4 AMPAergique induisent une perte spécifique des inhibitions en aval CT $\rightarrow$ NRT $\rightarrow$ VPM, qui augmente l'excitabilité des synapses CT $\rightarrow$ VPM et l'initiation de réseaux oscillatoires dans le thalamus via la voie CT $\rightarrow$ VPM $\rightarrow$ NRT [373].

Il est intéressant de remarquer que certaines mutations confèrent, au contraire, une résistance aux absences. C'est le cas de certaines mutations qui inactivent les canaux Ca_v de type T chez la souris CACNA1G$^{-/-}$ [248], ou encore chez la souris knock-out pour le récepteur mGlu4 [447].

Contrairement aux différents modèles de souris que nous avons évoqués précédemment (créés à partir de mutations humaines), les souris KI mGlu7^{AAA} ont été générées pour étudier le rôle physiologique de l'interaction entre le récepteur mGlu7 et sa protéine d'échafaudage, PICK1, *in vivo* chez la souris [41]. Les auteurs ont démontré que le découplage physique du récepteur mGlu7a et PICK1 provoque un arrêt locomoteur, des clonies des paupières et un tremblement des vibrisses. L'EEG de ces animaux montre des décharges corticales bilatérales de 6 à 7 Hz, synchrones et de courte durée, semblables à celles observées chez les rats GAERS et WAG/Rij. Ces crises sont inhibées par le valproate, l'éthosuximide, les antagonistes $GABA_B$ et aggravées par la carbamazépine. Ces caractéristiques cliniques et pharmacologiquees sont typiques des épilepsies de type absence. Chez la souris mutée ces crises spontanées d'absence apparaissent dès la cinquième semaine post-natale [41, 524] et s'accompagnent de déficits de la mémoire de travail spatiale [524], sans autre signe d'altération neurologique notoire.

De façon similaire, les souris KO pour PICK1 présentent des crises aggravées par la carbamazépine, mais leur phénotype est plus complexe probablement à cause de l'implication de PICK1 dans la régulation d'autres récepteurs (le récepteur AMPA par exemple) [50, 8]. Les souris KO mGlu7$^{-/-}$ présentent une susceptibilité aux convulsivants et peuvent développer des convulsions de type épileptique, mais aucune crise d'absence spontanée n'a encore été décrite chez ce modèle (voir section I.3.4, [415]).

Ainsi, la séparation du complexe mGlu7a-PICK1 est suffisante pour induire les crises de type absence. Les souris mutantes ont l'avantage de présenter un phénotype simple d'absence, qui n'est pas associé à d'autres altérations neurobiologiques comme chez les autres modèles murins. Cela suggère que la mutation affecte principalement le fonctionnement de la boucle thalamo-corticale. Ce modèle est donc adéquate pour l'étude du rôle du complexe mGlu7a-PICK1 dans le réseau thalamo-cortical, qui fait l'objet de cette thèse.

I.7 Objectifs de la thèse

Comme nous l'avons vu dans la partie I.3, la fonction et l'expression du récepteur mGlu7 restent encore à l'heure actuelle peu connues. Le consensus actuel est d'attribuer un rôle de "filtre passe-bas" au récepteur mGlu7 lors d'activités synaptiques à haute fréquence, notamment de par sa faible affinité pour le glutamate (voir I.3.3). Cependant, les phénotypes forts observés

chez les souris mutantes pour ce récepteur nous ont amenés à émettre l'hypothèse d'un rôle plus vaste du récepteur mGlu7 dans la modulation du fonctionnement neuronal.

Les objectifs de ma thèse sont :

- De comprendre l'impact du complexe mGlu7a-PICK1 sur les oscillations thalamo-corticales par des approches électrophysiologiques *in vitro* et *in vivo*.
- De déterminer les fonctions synaptiques du complexe mGlu7a-PICK1 notamment sur la neurotransmission, la plasticité à court terme et l'activité spontanée des neurones thalamiques glutamatergiques et GABAergiques grâce à la technique du Patch-Clamp parfois combinée à l'optogénétique.
- De déterminer une éventuelle activité constitutive du récepteur en effectuant des mesures de signalisation intracellulaire et des enregistrements électrophysiologiques *in vitro* et *in vivo*.
- De corréler la modulation des activités thalamo-corticales par le complexe mGlu7a-PICK1 à des effets comportementaux.

Les résultats que nous avons obtenus contribuent d'une part à mieux comprendre les fonctions physiologiques du complexe mGlu7a-PICK1 et d'autre part à caractériser les défauts thalamo-corticaux liés aux épilepsies absence chez la souris KI mGlu7^{AAA}.

Ce travail fait l'objet d'un article en préparation.

Chapitre II

Résultats

Contents

II.1 Localisation du récepteur mGlu7 dans la boucle thalamo-corticale . . 82

II.1.1 Objectifs de l'étude 82

II.1.2 Matériel et méthodes 82

II.1.2.1 Génotypage des souris mGlu7^{AAA} 82

II.1.2.2 Anticorps et co-marquages 83

II.1.2.3 Immunofluorescence sur cellules HEK293 87

II.1.2.4 Perfusion des souris, préparation des tranches thalamo-corticales et immunohistochimie 87

II.1.2.5 Identification visuelle des structures thalamo-corticales 87

II.1.3 Résultats 88

II.1.3.1 Sélection des anticorps anti-mGlu7a présentant une bonne spécificité 88

II.1.3.2 Optimisation des conditions de marquage du récepteur mGlu7 . 89

II.1.3.3 Expression du récepteur mGlu7 dans les synapses glutamatergiques et GABAergiques de la boucle thalamo-corticale 89

II.1.4 Discussion 92

II.2 Modulation des oscillations thalamo-corticales 95

II.2.1 Objectifs de l'étude 95

II.2.2 Matériel et méthodes 95

II.2.2.1 Préparation des tranches thalamo-corticales aiguës 95

II.2.2.2 Induction et enregistrement des oscillations thalamiques avec une Multi-Electrode 95

II.2.3 Résultats : le récepteur mGlu7 freine les activités oscillatoires au sein du thalamus 96

II.2.4 Discussion 97

II.3 Contrôle de la boucle thalamo-corticale par le récepteur mGlu7a . . 99

II.3.1 Objectifs de l'étude 99

II.3.2 Article (en préparation) 100

II.3.3 Discussion de l'article 125

II.1 Localisation du récepteur mGlu7 dans la boucle thalamo-corticale

II.1.1 Objectifs de l'étude

Cette étude s'attache à établir les fonctions synaptiques du récepteur mGlu7, permettant de déterminer indirectement sa localisation dans le circuit thalamo-cortical. Cependant nous avons tout d'abord voulu étudier l'expression du récepteur dans ce circuit par immunohistochimie.

Peu d'équipes ont réussi à obtenir un marquage fiable du récepteur mGlu7 dans le SNC. Les anticorps utilisés ont été produits par ces mêmes équipes et jusqu'à récemment peu étaient disponibles sur le marché. Au niveau de la boucle thalamo-corticale, Kinoshita et al. et Bradley et al. ont montré que, chez le rongeur, les niveaux protéiques de mGlu7a sont élevés dans le noyau réticulaire thalamique (NRT), mais sont rarement détectés dans le noyau ventro-postéro-médian (VPM). Dans les régions néocorticales, l'immunomarquage du récepteur mGlu7a est intense dans la couche I corticale, modéré dans les couches II, III et V et faible dans les couches IV et VI (Table I.6, [249, 58]). L'expression précise du récepteur mGlu7 dans les différents sous-types cellulaires reste cependant largement inconnue.

L'objectif de cette partie est d'établir une cartographie précise de l'expression du récepteur mGlu7 dans les différentes populations neuronales constituant la boucle thalamo-corticale. Ce travail est réalisé en collaboration avec Benoît Girard (étudiant en Master 2). Pour cela, nous avons tout d'abord testé différents anticorps commercialisés ainsi que 3 anticorps produits par le laboratoire de Salah El Mestikawy (Universités de McGill, Canada et de Pierre et Marie Curie, Paris). Nous avons vérifié la spécificité de ces anticorps pour le récepteur mGlu7a en analysant les marquages obtenus dans des cellules HEK293 transfectées avec les mGluRs du groupe III (récepteurs mGlu4, 7 et 8). Nous obtiendrons prochainement une souris KO$^{-/-}$ qui nous permettra de vérifier la spécifité des anticorps et ainsi de valider la colocalisation du récepteur mGlu7 avec différents marqueurs neuronaux et synaptiques sur des tranches thalamo-corticales. Bien que préliminaires, ces résultats semblent cohérents avec les données électrophysiologiques présentées dans la section II.3.

II.1.2 Matériel et méthodes

II.1.2.1 Génotypage des souris mGlu7^{AAA}

La génération et la caractérisation des souris mutantes est décrite ailleurs (souris KI mGluR7a-AAA, Laboratoire de H. Betz, Max Planck Institut, Frankfort, [524]). La progéniture hétérozygote a été élevée pour générer des souris homozygotes sauvage (WT) mGlu7$^{+/+}$, hétérozygotes mGlu7$^{+/-}$ et KI mGlu7$^{AAA/AAA}$. La présence de la mutation a été confirmée par séquençage d'ADN. L'extraction de l'ADN des bouts de queue des souris a été réalisée en chauffant 100 μl de tampon de lyse ADN 1x (NaOH 2.5 mM + EDTA 0.02 mM) à 90°C pendant 20 min. Puis 100 μl de tampon neutralisant ADN 1x (Tris-HCl 0.8 mM) était ajouté au mix précédent.

L'amplification de l'ADN a été réalisée par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) en utilisant le mix suivant (pour 1 tube) : 2 μl d'ADN extrait, 2 μl KIS 2.5 mM, 2 μl KIAS 2.5 mM, 4 μl dNTP 2 mM, 2 μl Tp 10x, 1 μl Pfu Polymerase, 7 μl H_2O. Le programme PCR est : 94°C pendant 2 min, 94°C pendant 30 s, 60°C pendant 30 s, 72°C pendant 1 min, 72°C pendant 10 min (les étapes 2-4 sont répétées 30 fois consécutives).

Les produits PCR ont ensuite été séparés par électrophorèse et révélés (gel d'agarose 2 % avec TAE 1x et 5 μl BET ; mix pour 1 puit : 20 μl de produit PCR + 2 μl loader 10x ; mix pour le puit contrôle : 6 μl 100 bp ladder + 14 μl H_2O). Le fragment contenant le gène

du récepteur mGlu7 sauvage fait 296 bp, au lieu de 360 bp pour le gène KI mGlu7^{AAA}. Les animaux mâles et femelles homozygotes +/+ ou AAA/AAA ont été conservés et utilisés pour amplifier la lignée. Après quelques générations, les progénitures homozygotes WT et KI ont été utilisées pour l'expérimentation.

II.1.2.2 Anticorps et co-marquages

Les différents anticorps testés ainsi que les conditions sont présentées dans trois tables récapitulant :

- les différents anticorps anti-mGlu7 testés (Table II.1) ;
- les marqueurs synaptiques et neuronaux utilisés pour déterminer la localisation du récepteur mGlu7 dans les différentes populations neuronales de la boucle thalamo-corticale (Table II.2) ;
- les co-marquages (**en cours**, Table II.3) qui seront utilisés pour compléter les résultats électrophysiologiques obtenus (voir partie II.3) et valider l'expression du récepteur mGlu7 dans les synapses thalamo-corticales.

Table II.1 – **Anticorps anti-mGlu7a : conditions expérimentales.**

Anticorps anti-mGlu7a	Références	Concentrations testées	Conditions testées
Anticorps produits chez le lapin			
L1B3	(S. El Mestikawy)	1 :100, 1 :250, 1 :600, 1 :1000	HEK, tranches
L2B3	(S. El Mestikawy)	1 :100, 1 :250, 1 :600, 1 :1000	HEK, tranches
L2B3 purifié	(S. El Mestikawy)	1 :100, 1 :250, 1 :600, 1 :1000	HEK, tranches ; démasquage Ag, 1 :500 et 1 :10000 amplification
L3B3	(S. El Mestikawy)	1 :100, 1 :250, 1 :500, 1 :600, 1 :1000, **1 :10000**	HEK, tranches ; démasquage Ag, 1 :500 et **1 :10000 amplification**
Anticorps commerciaux			
Rabbit Ct	Sigma-Aldrich [SAB4501325]	1 :100, 1 :250, 1 :500, 1 :600, 1 :1000, **1 :10000**	HEK, tranches ; démasquage Ag, 1 :500 et **1 :10000 amplification**
Rabbit ND	Millipore (Chemicon [AB9213] ; Upstate [07-239])	1 :100, 1 :250, 1 :600, 1 :1000	HEK, tranches
Goat int.	Sigma-Aldrich [SAB2501227]	1 :100, 1 :250, 1 :600, 1 :1000	HEK, tranches
MAB 1/28	[490]	1 :100, 1 :250, 1 :600, 1 :1000	HEK, tranches

Abréviations : L1-2-3B3, Ac obtenus à la troisième saignée des lapins 1, 2 et 3 respectivement ; Rabbit Ct, Rabbit ND et MAB 1/28, Ac produits chez le lapin visant les parties C-terminales du récepteur mGlu7a ; Goat int., Ac produit chez la chèvre visant la partie N-terminale du récepteur mGlu7a.

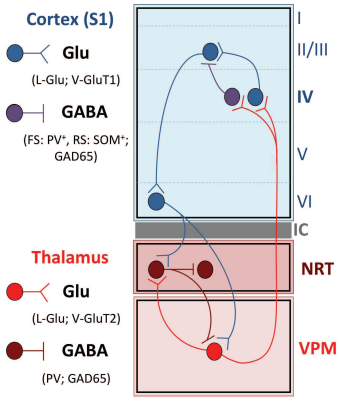
TABLE II.2 – **Marqueurs synaptiques et neuronaux de la boucle thalamo-corticale.**

Anticorps primaires	Références AcI	Concentration AcI	Anticorps secondaires (âne)	Références AcII	Fluorophore
Marquage de mGlu7a					
L3B3	(S. El Mestikawy)	1 :10000	anti-lapin couplé à la biotine 1 :500 (+ Avidine 1 :200)	Jackson ImmunoResearch [711-066-152]	Texas Red (orange)
Rabbit Ct	Sigma-Aldrich [SAB4501325]	1 :10000			
Marqueurs présynaptiques					
V-GluT1 (présynapses corticales)	Sy Sy [135-511]	1 :1000	anti-souris 1 :1000	Jackson ImmunoResearch [715-155-150]	AlexaFluor 488 (vert)
V-GluT2 (présynapses thalamiques)	Abcam [ab79157]	1 :1000			
GAD65 (présynapses GABAergiques)	Chemicon [MAB351R]	1 :1000			
Marqueurs somatiques					
Parvalbumine (PV ; IN FS)	Swant [PVG214]	1 :1000	anti-chèvre 1 :1000	Jackson ImmunoResearch [705-175-147]	AlexaFluor 405 (bleu)
Somatostatine (SOM ; IN RS)	Chemicon [MAB354]	1 :500	anti-rat 1 :1000	Jackson ImmunoResearch [712-175-153] ou [705-175-147]	Cy5 (rouge) ou AlexaFluor 405 (bleu)
L-Glutamate (Neurones excitateurs)	Abcam [ab62668]	1 :1000	anti-poulet 1 :1500	Jackson ImmunoResearch [703-175-155]	Cy5 (rouge)

Les marqueurs présynaptiques permettent de distinguer les présynapses glutamatergiques en provenance du cortex (en ciblant le transporteur vésiculaire du glutamate V-GluT1) ou en provenance du VPM (en ciblant V-GluT2) et les synapses GABAergiques des neurones réticulaires et des interneurones Fast-Spiking (IN FS) et Regular-Spiking (IN RS) corticaux (avec la glutamate décarboxylase 65 kDa, GAD65). Les marqueurs somatiques marquent sélectivement les interneurones FS (exprimant la parvalbumine), les interneurones RS (exprimant la somatostatine) et les neurones excitateurs thalamiques et corticaux (exprimant le L-Glutamate).

TABLE II.3 – **Co-marquages utilisés pour localiser le récepteur mGlu7 dans la boucle thalamo-corticale.**

Co-marquages	Synapses étudiées
mGlu7a, V-GluT1, PV, *L-Glu*	Exc → FS (LIV, II/III, VI) VI → NRT, VPM
mGlu7a, GAD65, PV, *L-Glu*	NRT → NRT, VPM FS/RS → FS, Exc (LIV, II/III, VI)
mGlu7a, *V-GluT2*, PV, *SOM*	VPM → NRT ; FS, RS (LIV)
mGlu7a, *V-GluT2*, PV, *L-Glu*	VPM → NRT ; FS, Exc (LIV)



Abréviations : PV, parvalbumine ; V-GluT1 ou V-GluT2, transporteurs du glutamate vésiculaires 1 ou 2 ; GAD65, glutamate décarboxylase 65 kDa ; Exc, neurones excitateurs du cortex ; FS et RS, interneurones Fast- et Regular-Spiking corticaux respectivement ; VPM, noyau ventro-postéro-médian du thalamus ; NRT, noyau réticulaire thalamique. Les marquages indiqués en italiques n'ont pas encore été réalisés.

II.1.2.3 Immunofluorescence sur cellules HEK293

Les cellules HEK293 ont été transfectées par électroporation (250 V-500 μF pour 5.10^6 cellules) avec des plasmides (pcDNA) exprimant différents mGluRs (mGlu4, 5, 7 ou 8). Ces récepteurs sont fusionnés avec une étiquette HA. Les cellules ont été fixées avec du tampon phosphate salin (PBS) contenant 4 % de paraformaldéhyde (PFA) pendant 15 min, lavées 2 fois au PBS puis perméabilisées avec du PBS contenant 2 % de BSA et 0.1 % de Triton X100 pendant 20 min. Les cellules ont ensuite été incubées 40 min avec les anticorps primaires (anti-mGlu7 et anti-HA) dilués au 1 :1000 dans du PBS avec 2 % BSA, puis lavées 3 fois au PBS. Les anticorps secondaires (anti-lapin Cy5 et anti-souris GFP respectivement) dilués au 1 :1000 dans du PBS ont alors été ajouté pendant 30 min, puis les cellules ont été montées entre lame et lamelle (ThermoScientific) avec du Mowiol.

Les images ont été réalisées sur un apotome AxioImager Z1 (Zeiss) grâce au logiciel AxioVision.

II.1.2.4 Perfusion des souris, préparation des tranches thalamo-corticales et immunohistochimie

Les souris âgées de P15 à P21 ont été euthanasiées avec une injection péritonéale léthale de pentobarbitol et perfusées transcardialement avec 15 ml de PBS puis 15 ml de PBS avec 4 % de PFA. Les cerveaux ont été extraits et incubés toute la nuit (*over night*, O/N) dans du PBS contenant 4 % de PFA à 4°C. Des tranches thalamo-corticale (35° du plan coronal, [114], Fig.II.1a,b) de 30-50 μm ont ensuite été préparé dans du PBS à 4°C avec un microtome (MicroM HM650V) puis utilisées pour l'immunohistochimie.

Nous avons également testé l'effet de deux démasquages antigéniques différents en incubant des tranches avec de la Protéinase K (10 μM, 15 min à TA), ou dans un tampon sodium-citrate (pH 8.5, 30 min à 80°C) avant de procéder à l'immunohistochimie.

Les tranches ont été lavées 3 x 5 min au PBS puis préincubées pendant 1h avec du PBS contenant 2 % de BSA et 0.1 % de Triton X100. Les anticorps primaires dilués dans du PBS contenant 2 % de BSA et 0.1 % de Triton X100 ont ensuite été ajoutés et les tranches incubées O/N à 4°C. En condition normale, les anticorps secondaires dissous dans du PBS + 2 % BSA ont été ajoutés pendant 1h à TA après 3 lavages de 5 min au PBS. Lorsque nous procédions à l'amplification du signal anti-mGlu7, un anticorps secondaire couplé à biotine dissous dans du PBS contenant 2 % de BSA a été ajouté pendant 2h à Température Ambiante (TA). Les tranches ont été lavées 3 x 5 min au PBS, puis l'avidine (VectaStain Elite ABC kit PK-6100) ainsi que les autres anticorps secondaires classiques dissous dans du PBS + 2 % BSA ont été ajoutés pendant 1h à TA. Après 3 derniers lavages de 5 min au PBS, les tranches ont été montées entre lame et lamelle (ThermoScientific) avec du Mowiol et laissées au repos O/N à l'obscurité.

Les images ont été réalisées sur un apotome AxioImager Z1 (Zeiss) grâce au logiciel AxioVision et sur un microscope confocal Leica SP8 de la Plateforme MRI grâce au logiciel LAS AF (Leica Application Suite Advanced Fluorescence).

II.1.2.5 Identification visuelle des structures thalamo-corticales

Le noyau ventro-postéro-médian (VPM) est facilement identifiable en coupe comme la région thalamique ayant un contraste plus sombre que le noyau postérieur avoisinant et une texture moins fibreuse que le noyau ventro-postéro-latéral (VPL) adjacent (Fig.II.1c). Le noyau réticulaire (NRT) correspond à une coquille fine de contraste plus clair entourant le thalamus dorsal

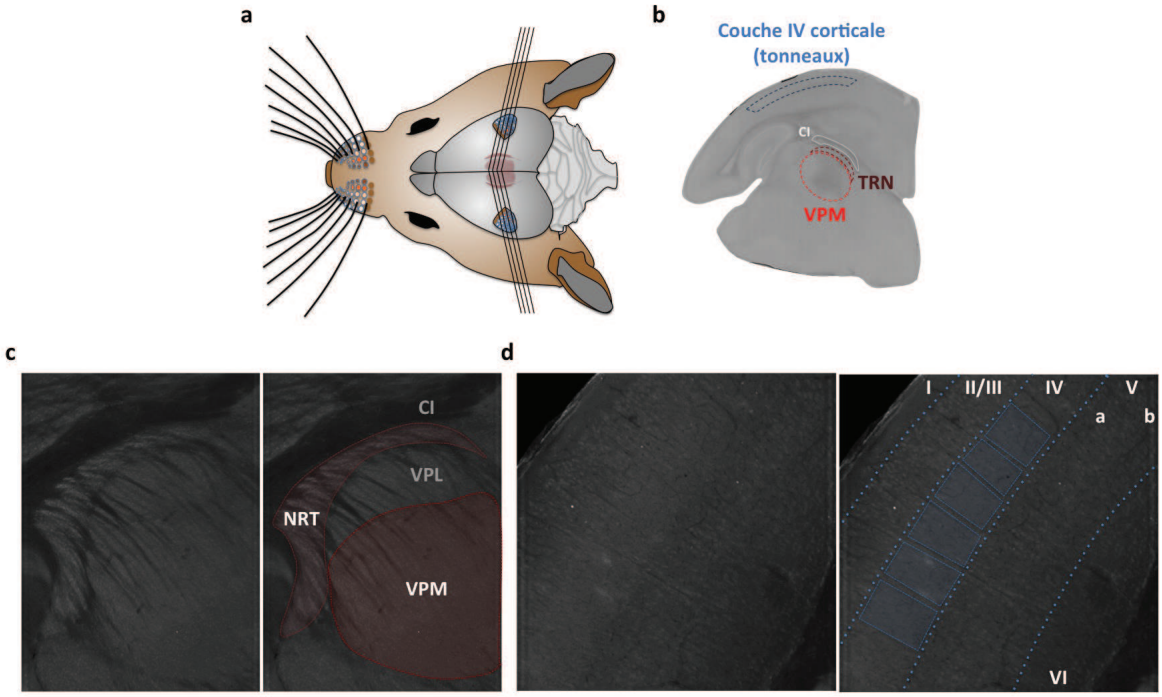


FIGURE II.1 – **Angle de coupe et structures thalamo-corticales.**

(a) Représentation schématique de l'angle utilisé pour la découpe au vibratome des deux hémisphères cérébraux. (b) Annotation des différentes structures impliquées dans la circuiterie thalamo-corticale : le VPM (noyau ventro-postéro-médian du thalamus), le NRT (noyau réticulaire thalamique) et le cortex somatosensoriel primaire (S1) avec ses tonneaux typiques au niveau de la couche IV. (c) Illustration schématique de la connectivité de la boucle thalamo-corticale ; les différents marqueurs synaptiques et somatiques sont indiqués. (d) et (e) Sections optiques au grossissement x20 du thalamus et du cortex S1 respectivement, permettant de distinguer précisément les différentes structures de la circuiterie thalamo-corticale. Le noyau ventro-postéro-latéral (VPL) et la capsule interne (CI) sont également indiqués.

et est composé de larges neurones fusiformes. Au niveau cortical, la couche IV se distingue par ses structures en tonneau caractéristiques et son contraste relativement marqué comparé aux couches V et II/III (Fig.II.1d).

II.1.3 Résultats

II.1.3.1 Sélection des anticorps anti-mGlu7a présentant une bonne spécificité

La première étape de cette partie a été de vérifier la spécificité des différents anticorps anti-mGlu7 disponibles sur le marché, ainsi que des trois anticorps produits récemment chez le lapin par Salah El Mestikawy. Pour cela, nous avons transfecté des cellules HEK avec différents mGluRs portant une étiquette HA. Si l'anticorps est spécifique du récepteur mGlu7, alors les marquages obtenus en présence d'anticorps anti-mGlu7 et anti-HA ne devraient colocaliser qu'avec mGlu7 et pas avec les autres récepteurs, dans des cellules HEK co-transfectées avec ces récepteurs.

Sur les trois anticorps produit par S. El Mestikawy, un seul semble spécifiquement marquer

le récepteur mGlu7 (Fig.II.2a). Les deux autres semblent également lier le récepteur mGlu4 en plus de mGlu7. Parmi ces deux anticorps, l'un a été purifié et re-testé, mais la purification ne semble pas améliorer sa spécificité pour le récepteur mGlu7 (Fig.II.2b).

Sur les quatre anticorps commerciaux testés, deux montrent une spécificité satisfaisante pour le récepteur mGlu7 (Fig.II.2b), alors que les deux autres marquent également les récepteurs mGlu4 et/ou mGlu8.

Les deux anticorps présentant la meilleure spécificité pour le récepteur mGlu7 ont été sélectionnés pour la suite de l'étude. Ils seront appelés "*Rabbit C-t*" (pour un anticorps commercial liant la partie C-terminale du récepteur mGlu7, voir TableII.2) et "*L3B3*" (pour un anticorps obtenu chez le lapin au 3ième saignement).

II.1.3.2 Optimisation des conditions de marquage du récepteur mGlu7

L'immunofluorescence peut être améliorée grâce à différents traitements préalables des tissus. Étant donné le repliement tridimensionnel complexe du récepteur mGlu7 et sa localisation confinée au niveau des zones actives présynaptiques, nous avons testé l'effet de deux traitements sur le signal immunofluorescent :

- Le démasquage antigénique, permettant le dépliement des protéines suite à la fixation des tissus à la PFA. L'accès des anticorps sur leur site de liaison au récepteur pourrait être augmenté avec ce traitement. Nous avons testé deux démasquages différents : en incubant les tranches avec de la Protéinase K (données non montrées), ou dans un tampon sodium-citrate (pH 8.5, 30 min à 80°C, Fig.II.3). Ces conditions ne semblent pas améliorer la détection du récepteur mGlu7.

- L'amplification du signal obtenu avec le marquage anti-mGlu7, grâce à l'utilisation d'anticorps secondaires couplés à la biotine, formant des complexes avec l'avidine. Ces complexes moléculaires permettent d'amplifier le signal fluorescent et ainsi de détecter le récepteur mGlu7 malgré sa faible expression. L'amplification induit une nette amélioration du marquage obtenu, notamment en diluant l'anticorps secondaire au 1 :10000 (Fig.II.4).

Ces résultats montrent une condition de marquage optimale pour la détection du récepteur mGlu7 par la méthode d'amplification du signal. Cette méthode sera utilisée par la suite pour procéder aux co-marquages du récepteur mGlu7 avec différents marqueurs neuronaux et synaptiques.

II.1.3.3 Expression du récepteur mGlu7 dans les synapses glutamatergiques et GABAergiques de la boucle thalamo-corticale

Afin de déterminer la localisation précise du récepteur mGlu7 dans les différentes synapses du circuit, nous avons effectué plusieurs séries de co-marquages sur des tranches TC. La colocalisation du récepteur mGlu7 avec différents marqueurs synaptiques et somatiques permet de préciser la localisation du récepteur dans la circuiterie. Différentes combinaisons d'anticorps permettant d'étudier spécifiquement les synapses d'intérêt ont été choisies et sont décrites dans la section II.1.2.2. Les marqueurs présynaptiques utilisés sont : les transporteurs vésiculaires du glutamate V-GluT1 (exprimé sélectivement dans les présynapses corticales) ou V-GluT2 (exprimé sélectivement dans les présynapses thalamiques, [173]), qui révèlent les présynapses excitatrices et la GAD65 exprimée dans les présynapses GABAergiques, inhibitrices [448].

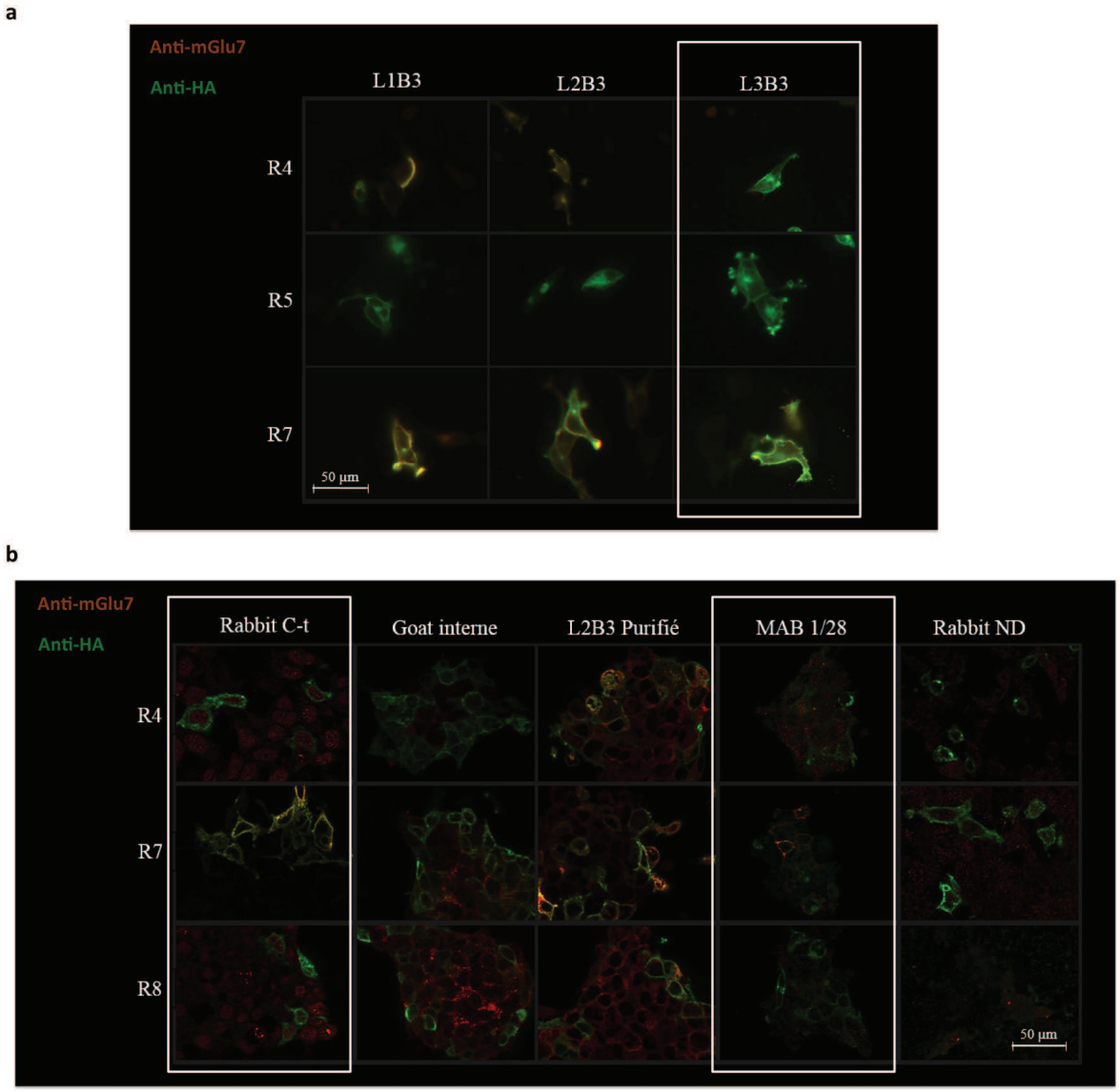


FIGURE II.2 – **Vérification de la spécificité des anticorps anti-mGlu7 en cellules HEK.**

(a) L'immunohistochimie avec un anticorps anti-mGlu7 (rouge) et un anticorps anti-HA (vert) révèle une co-localisation des anticorps *L1B3* et *L2B3* (produits chez le lapin par S. El Mestikawy) avec l'étiquette HA dans les cellules HEK transfectées avec mGlu4-HA et avec mGlu7-HA. Ces deux anticorps ciblent donc à la fois les récepteurs mGlu4 et mGlu7 et ont été écartés de cette étude. L'anticorps L3B3 quant à lui colocalise avec l'étiquette HA uniquement dans les cellules transfectées avec mGlu7-HA.
(b) L'immunohistochimie avec quatre anticorps commerciaux et l'anticorps L2B3 purifié anti-mGlu7 (rouge) et un anticorps anti-HA (vert) révèle une bonne spécificité des anticorps *Rabbit C-t* et *MAB1/28*, alors que les autres ciblent également les récepteurs mGlu4 et/ou mGlu8 en plus de mGlu7. Le marquage obtenu avec l'Ac *Rabbit C-t* est nettement plus robuste que celui obtenu avec l'Ac *MAB1/28*.

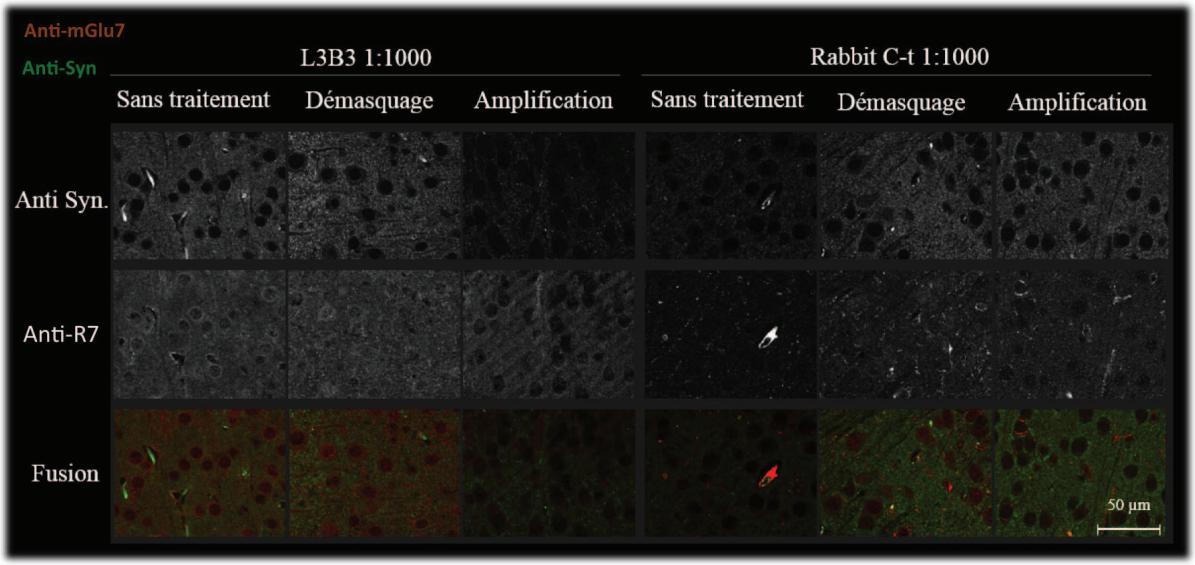


FIGURE II.3 – **Sélection des conditions de marquage optimales sur tranches.**

L'immunohistochimie avec un anticorps anti-synapsine (Syn en vert, haut) et deux anticorps anti-mGlu7 (*L3B3* et *Rabbit C-t* en rouge, milieu) révèle la localisation présynaptique du récepteur mGlu7 de façon plus ou moins nette selon le traitement effectué au préalable (bas). A gauche, en absence de traitement on observe un fort bruit de fond (pour l'Ac L3B3) ou un marquage faible du récepteur (pour le Rabbit C-t). Au milieu, le démasquage antigénique (traitement avec un tampon citrate) augmente le bruit de fond, reflétant une perte de spécificité du marquage. A droite, l'amplification du marquage anti-mGlu7 au 1 :10000 induit une nette amélioration du signal obtenu avec les deux Ac anti-mGlu7. Ces acquisitions ont été obtenues dans la couche IV corticale au grossissement x40.

Au niveau du thalamus, le NRT et le VPM présentent respectivement une population de neurones GABAergiques et glutamatergiques homogène (voir partie introductive I.5). Autrement dit, les projections aboutissant dans ces noyaux contactent systématiquement des neurones inhibiteurs dans le NRT, ou des neurones excitateurs dans le VPM. La colocalisation du récepteur mGlu7 avec les différents marqueurs présynaptiques est donc suffisante pour déterminer son expression dans les synapses intra-thalamiques et cortico-thalamiques. Par contre, la diversité des populations neuronales corticales rend la situation plus complexe au niveau du cortex. On peut regrouper ces populations neuronales corticales en trois grandes classes : les neurones excitateurs et les interneurones Fast-Spiking (FS) et Regular-Spiking (RS). Afin de distinguer ces trois classes de neurones, nous avons utilisé comme marqueurs : le L-Glutamate pour cibler les neurones excitateurs, la parvalbumine (PV) pour cibler les interneurones FS et la somatostatine (SOM) pour cibler les interneurones RS. Rappelons que le cortex contient une multitude de microcircuits intra-corticaux formés entre les différents neurones excitateurs et inhibiteurs. L'utilisation de V-GluT1 et V-GluT2 permet de distinguer les afférences excitatrices thalamo-corticales et intra-corticales respectivement, alors que la GAD65 marque les présynapses inhibitrices des interneurones FS et RS.

Nous avons analysé l'expression du récepteur mGlu7 au niveau des synapses GABAergiques réticulaires et des fibres cortico-thalamiques dans le NRT et le VPM (Fig.II.5). Le marquage du récepteur mGlu7 colocalise avec celui de la GAD65 (et de la PV) dans le NRT, suggérant

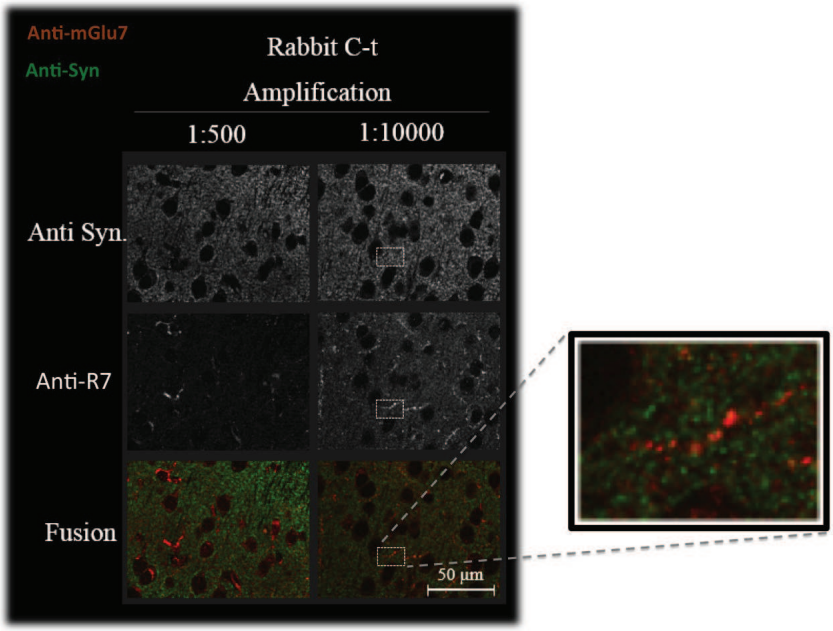


FIGURE II.4 – **Sélection des conditions d'amplification optimales.**

Le marquage anti-mGlu7 à été amplifié au 1 :500 ou au 1 :1000. Les images obtenues révèlent une colocalisation du récepteur mGlu7 (rouge) avec la synapsine (vert) dans certaines présynapses (bas). Le signal fluorescent était plus net et robuste avec une amplification au 1 :10000 (partie droite). Ces conditions permettent de déterminer la localisation précise du récepteur mGlu7 dans les tranches thalamo-corticales grâce à l'obtention d'images nettes à haute-résolution (x63, à droite). Ces acquisitions ont été obtenues dans la couche IV corticale au grossissement x40.

que le récepteur est exprimé dans les synapses intra-NRT. Par contre, le marquage anti-mGlu7 colocalise peu avec la GAD65 dans le VPM, suggérant que le récepteur est peu exprimé à ce niveau. Ce marquage colocalise avec V-GluT1 dans le NRT et dans le VPM, indiquant que le récepteur est exprimé sur les fibres corticales afférentes aux deux noyaux thalamiques.

II.1.4 Discussion

Cette étude a permis de déterminer des conditions de marquages du récepteur mGlu7 satisfaisantes dans des tranches de cerveau de souris. Un anticorps primaire anti-mGlu7 commercialisé semble particulièrement spécifique et avantageux de part sa disponibilité sur le marché. L'amplification du signal par le système avidine-biotine permet l'obtention d'un marquage robuste et aisément détectable du récepteur mGlu7. Ces résultats pourront être utilisés pour étudier l'expression de mGlu7a dans diverses zones cérébrales.

Grâce à cette étude, nous avons pu déterminer la localisation précise du récepteur mGlu7 dans différentes présynapses du circuit thalamo-cortical. Nos résultats indiquent une expression sélective du récepteur dans les synapses intra-NRT et cortico-thalamiques. Il nous reste à déterminer l'expression du récepteur mGlu7 dans les synapses des neurones du VPM et des réseaux intra-corticaux. Pour cela, la mise au point du marquage avec les anticorps anti-V-GluT2 et anti-L-Glutamate sera effectuée.

Rappelons que nous n'avons pas encore pu tester les anticorps anti-mGlu7 sur des tranches

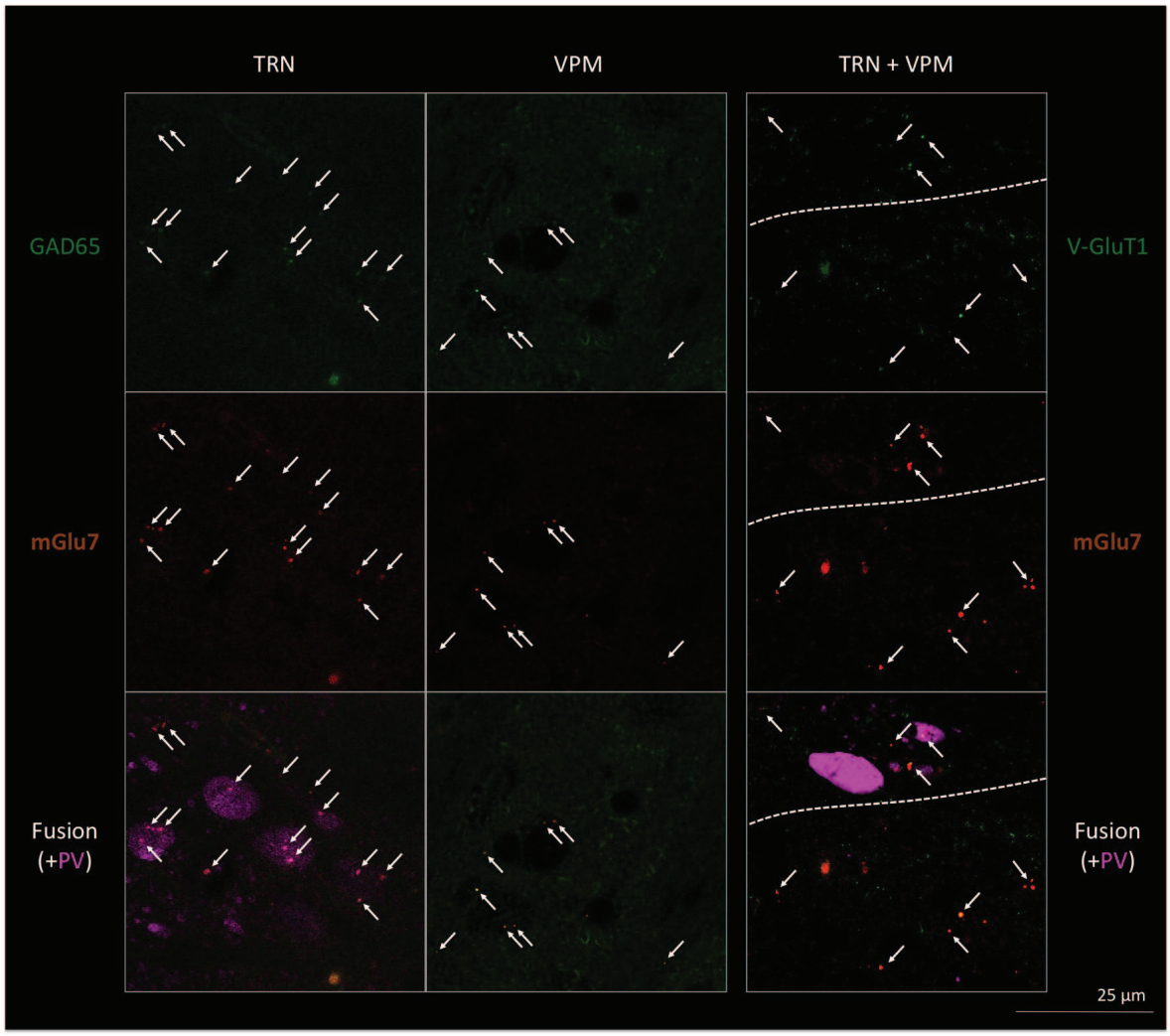


FIGURE II.5 – **Expression du récepteur mGlu7 dans les synapses du NRT et des fibres cortico-thalamiques.**

Les synapses présentant une colocalisation du récepteur mGlu7 avec les marqueurs synaptiques (GAD65 ou V-GluT1) sont indiquées avec des flèches. Les neurones GABAergiques du NRT sont marqués avec les anticorps anti-PV dans ces expériences. Dans la partie gauche, les images montrent l'expression du récepteur mGlu7 (rouge) et de la GAD65 (vert). Dans le NRT, les images obtenues révèlent une colocalisation du récepteur mGlu7 avec la GAD65 dans toutes les synapses intra-NRT (bas gauche). Par contre, dans le VPM la colocalisation du récepteur mGlu7 avec la GAD65 semble restreinte à un petit nombre de synapse (bas droit). Dans la partie droite, les images montrent l'expression du récepteur mGlu7 (rouge) et de V-GluT1 (vert). En bas, on voit que le récepteur colocalise avec V-GluT1 dans la majorité des synapses cortico-thalamiques formées sur le NRT (haut de l'image) et le VPM (bas de l'image). Ces acquisitions ont été obtenues au grossissement x63 avec un zoom de 2.51.

de souris KO mGlu7$^{-/-}$. Nous ne pouvons donc pas encore exclure l'éventualité d'un marquage non-spécifique sur tissus, non repérable sur cellules HEK. Plusieurs protéines endogènes pourraient potentiellement interférer avec le ciblage du récepteur mGlu7 par les anticorps, notamment les différents variants des mGluRs du groupe III.

Les résultats obtenus seront corrélés aux données électrophysiologiques et comportementales présentées dans les parties suivantes.

II.2 Modulation des oscillations thalamo-corticales par le complexe mGlu7a-PICK1

II.2.1 Objectifs de l'étude

Les souris KI mGlu7^{AAA} présentent des décharges en pointe-onde (DPO) spontanées associées à un arrêt comportemental [41]. Cependant, ces crises d'absence n'apparaissent qu'à partir de la cinquième semaine post-natale. Le but de cette partie était de vérifier que des rythmes thalamo-corticaux anormaux sont déjà établis chez les souris mutantes à l'âge expérimental utilisé pour l'étude électrophysiologique (P15-P21 ; voir partie II.3).

En conditions physiologiques, le thalamus peut générer des oscillations en fuseaux de 6 à 14 Hz, les fuseaux de sommeil ou *spindles*, principalement exprimés lors des phases précoces du sommeil [67]. Lorsque la circuiterie thalamo-corticale présente une activité anormale cela peut induire des crises d'absence, qui se traduisent par des oscillations en DPO dont les caractéristiques sont relativement similaires aux fuseaux de sommeil (voir partie I.6). Il est possible de générer artificiellement des oscillations ressemblant à la fois aux fuseaux de sommeil et aux DPO in vitro [496, 222, 67, 261]. Nous avons donc induit de telles oscillations et effectué des enregistrements extracellulaires sur des tranches TC à l'aide d'un système d'enregistrement par multi-électrode. La durée de ces oscillations nous a permis de comparer l'état d'excitabilité du circuit chez les souris WT et KI mGlu7^{AAA}.

II.2.2 Matériel et méthodes

II.2.2.1 Préparation des tranches thalamo-corticales aiguës

Tous les produits chimiques utilisés pour préparer les solutions électrophysiologiques provenaient de Sigma-Aldrich. Les souris sauvages ou KI mGlu7^{AAA} mâles et femelles âgées de 15 à 21 jours post-nataux ont été profondément anesthésiés par inhalation d'isoflurane et les tranches ont été préparées comme décrit ailleurs (400 μm d'épaisseur, 35° du plan coronal, [114]) à l'aide d'un vibratome (Campden Instruments). Les tranches ont ensuite été incubées à 32°C pendant 1h puis à 24-26°C, dans une solution artificielle de liquide céphalo-rachidien (ACSF) contenant (en mM) 120 NaCl, 2.5 KCl, 1.6 NaH2PO4, 1.3 MgCl2, 2.5 CaCl2, 27 NaHCO3 et 22 glucose, équilibrée avec 95% O2 et 5% CO2, pH 7.4.

II.2.2.2 Induction et enregistrement des oscillations thalamiques avec une Multi-Electrode

Les enregistrements extracellulaires ont été obtenus à l'aide d'une plaque multi-électrode à 64 canaux de *MED64 system* (Panasonic Co., Tokyo, Japon) traitée O/N avec une solution de revêtement de poly-D-lysine à TA, puis positionnée sur le système de 8x8 électrodes (Fig.II.6a). Les tranches TC ont été placées au centre de la plaque MED64 avec de l'ACSF oxygéné et supplémenté avec 0.3 mM de glutamine afin de maintenir un recyclage en neurotransmetteur correct via le cycle glutamate-glutamine [67]. Les oscillations thalamiques ont été induites en appliquant des impulsions de courant monopolaire constant (100-150 μA, 0.1 ms, chaque 30 s) dans la capsule interne (CI) via l'une des 64 électrodes. Les potentiels de champ ont été enregistrés simultanément par les 64 électrodes au niveau du VPM et du NRT. Les enregistrements ont été filtrés à 20 kHz et acquis à l'aide du logiciel MED64 Constructor (Panasonic Co.).

La durée des oscillations thalamiques enregistrées chez les souris WT ont été mesurées et comparées à celles obtenues chez les KI mGlu7^{AAA}.

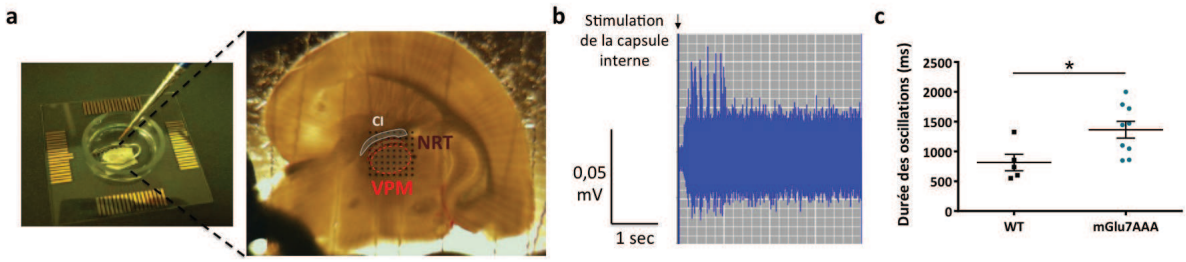


FIGURE II.6 – **Le récepteur mGlu7 diminue la durée des oscillations thalamiques.**

(a) Positionnement d'une tranche thalamo-corticale dans le système multi-électrodes. Une électrode de stimulation était sélectionnée dans la capsule interne (CI) et les oscillations thalamiques enregistrées dans le NRT et le VPM. (b) Trace représentative des oscillations thalamiques obtenues au niveau d'une électrode d'enregistrement. (c) Chaque point correspond à la durée moyenne des oscillations obtenues dans un tissu sauvage (WT) ou mutant (mGlu7^{AAA}). $*$ P<0.05, test de Mann-Withney. Les barres d'erreur indiquent la SEM.

II.2.3 Résultats : le récepteur mGlu7 freine les activités oscillatoires au sein du thalamus

Le système multi-électrode nous a permis d'enregistrer les potentiels de champ simultanément au niveau du VPM et du NRT. La stimulation électrique de la capsule interne, où les fibres thalamo-corticales et cortico-thalamiques forment un même faisceau, induit des oscillations thalamiques observables dans les deux noyaux thalamiques (Fig.II.6b). Chaque oscillation correspond à la décharge de bursts synchrones par un petit groupe de neurones situés sous l'électrode d'enregistrement. Ces activités rythmiques sont générées par les projections réciproques entre les neurones du VPM et ceux du NRT [221] et confirment l'intégrité de la circuiterie thalamo-corticale dans nos tranches.

Nous avons quantifié la durée des oscillations thalamiques (Fig.II.6c), qui reflète l'excitabilité du réseau thalamo-cortical. La durée des activités rythmiques induites chez les souris KI mGlu7^{AAA} est significativement plus élevée que celle des WT (WT : 815.3 $\pm$138.5 ms, n = 5 ; mGlu7^{AAA} : 1364 $\pm$140.2 ms, n = 9 ; p=0.0190 ; Fig.II.6c). Le réseau intra-thalamique semble donc plus excitable chez la souris mGlu7^{AAA}, d'où sa susceptibilité plus élevée à osciller de façon synchrone. Dans quelques tranches WT et KI, les oscillations évoquées évoluaient rapidement en oscillations spontanées, illustrant une excitabilité anormale du réseau TC certainement liée aux contraintes techniques du système du multi-électrodes (oxygénation limitée des tranches) : ces tranches n'ont pas été analysées.

La qualité des enregistrements n'a pas été idéale à cause de la faible amplitude des signaux extracellulaires et du mauvais rapport signal/bruit du système malgré les mises au point entamées. Nous n'avons pas pu déterminer formellement la fréquence de ces oscillations. Elles semblent cependant généralement situées entre 3 et 15 Hz (observation visuelle). Ces fréquences correspondent aux activités thalamiques observées lors des fuseaux de sommeil ou des DPO.

Ainsi, la voie mGlu7a-PICK1 semble impliquée dans le contrôle de l'état d'excitabilité global du thalamus. Le récepteur mGlu7 semble en effet diminuer la capacité des neurones du VPM et/ou du NRT à émettre des bursts rythmiques à l'origine des oscillations physiopathologiques du thalamus.

II.2.4 Discussion

Nous avons étudié l'impact du récepteur mGlu7 sur les oscillations thalamiques en comparant la durée des activités évoquées chez les souris WT et le KI mGlu7^{AAA}. Nos données montrent que la perte de fonction de la voie mGlu7a-PICK1 induit une hyperexcitation du réseau thalamo-cortical, plus apte à générer des activités rythmiques chez la souris mutante. Cela confirme que des activités thalamo-corticales anormales sont déjà détectables chez ces jeunes souris bien qu'elles ne présentent pas encore de crises d'absences spontanées à cet âge. Ces activités résultent directement ou indirectement d'une sur-inhibition thalamique, aboutissant à la transition du mode de décharge tonique des neurones thalamiques vers le mode burst [221]. Cette sur-inhibition peut provenir d'un déséquilibre de la neurotransmission glutamatergique, mais aussi de la neurotransmission GABAergique au sein du circuit. Étant donné la localisation du récepteur mGlu7 à la fois dans des synapses glutamatergiques et GABAergiques du réseau (voir la partie II.1), ce récepteur est susceptible de moduler les deux forces pesant sur la balance excitation/inhibition. Son action précise au niveau des différentes synapses thalamiques sera étudiée dans la section II.3.

La perte de modulation du circuit thalamo-cortical par la voie mGlu7a-PICK1 abouti à l'induction de crises d'absences spontanées chez la souris mGlu7^{AAA} adulte [41]. Cependant, ce même circuit génère en conditions physiologiques les oscillations typiquement observées lors des premières phases du sommeil, les fuseaux de sommeil (voir [32] et [277] pour revues). Les activités évoquées dans nos expériences ont été obtenues en absence de drogues épileptogènes et s'apparenteraient donc plutôt à des fuseaux de sommeil. Malheureusement, l'utilisation du système de multi-électrodes a limité nos investigations, car les activités devenaient rapidement spontanées et continues après l'ajout de bicuculline, un antagoniste GABA$_A$ utilisé classiquement pour induire des oscillations épileptiques *in vitro*. De même, les expériences menées chez les souris adultes n'ont pas pu aboutir. Ce système est actuellement réadapté pour optimiser notamment la perfusion des tranches, ce qui devrait limiter la surexcitabilité neuronale liée à ce biais expérimental.

Chez le rat juvénile, Kyuyoung et Huguenard ont très récemment montré que l'activation des mGluR du groupe III diminue la durée des oscillations thalamiques évoquées *in vitro* [261]. Leurs données suggèrent que le récepteur mGlu7 influence fortement les fuseaux de sommeil, mais peu les oscillations épileptiques. Le phénotype des souris KI mGlu7^{AAA} adultes laisse supposer une action différentielle du récepteur mGlu7 chez le rat et la souris, peut-être due à une localisation distincte. Remarquez que ces auteurs utilisent la bicuculline pour induire les oscillations épileptiques. Le fait de masquer la modulation des courants GABAergiques par le récepteur mGlu7 pourrait induire un biais sur la diminution de la durée des oscillations observées expérimentalement.

Par ailleurs, on ne peut pas exclure une action différentielle du récepteur mGlu7a au cours du développement, liée à la maturation des circuits chez les rongeurs juvéniles passant à l'âge adulte. Tous les modèles murins d'épilepsie absence ne présentent des crises spontanées qu'à l'âge adulte (voir I.6.3.3). Cela suggère une certaine résistance du circuit thalamo-cortical à générer des oscillations épileptiques chez les animaux juvéniles. L'inactivation du récepteur mGlu7a chez la souris pourrait affecter initialement le façonnage des fuseaux de sommeil, ce qui rendrait peu à peu le circuit thalamo-cortical apte à générer spontanément ce type d'activités rythmiques pendant l'état éveillé. Cette idée est en accord avec l'hypothèse actuellement admise stipulant que les oscillations épileptiques sont provoquées suite à un détournement des processus à l'origine des fuseaux de sommeil [314, 32]. De façon plus générale, ces travaux soulignent clairement un rôle modulateur clé du récepteur mGlu7 dans l'établissement des

activités rythmiques au sein des circuits thalamo-corticaux.

II.3 De la synapse au comportement : étude du contrôle de la boucle thalamo-corticale par le complexe mGlu7a-PICK1

Cette partie fait l'objet d'un article en préparation.

II.3.1 Objectifs de l'étude

L'activation du récepteur mGlu7 suscite de nombreuses interrogations et semble dépendre de la synapse étudiée. Les phénotypes des souris KO mGlu7$^{-/-}$ et KI mGlu7^{AAA} indiquent d'une part, que les fonctions supportées par les différentes voies de signalisation de mGlu7a sont bien distinctes et d'autre part, que différents réseaux neuronaux sont modulés par mGlu7a (voir partie I.3). L'apparition spontanée des crises d'absence chez les souris KI mGlu7^{AAA} suggère que la voie mGlu7a-PICK1 est cruciale pour le contrôle de l'activité de la boucle thalamo-corticale. De plus, comme ce récepteur présente une affinité très faible pour le glutamate et qu'il est localisé non seulement sur les présynapses glutamatergiques mais aussi GABAergiques, cela soulève les questions suivantes : où et quand ce récepteur est-il activé au sein de ce réseau et quelles sont les fonctions physiologiques supportées par cette voie ? L'utilisation des souris KI mGlu7^{AAA} et de la pharmacologie nous ont permis de répondre à ces questions.

Cette partie de ma thèse s'est articulée autour de trois objectifs principaux. Tout d'abord, nous avons étudié les fonctions du récepteur mGlu7a sur la neurotransmission et la plasticité à court terme dans les synapses glutamatergiques et GABAergiques des neurones thalamiques. Nous avons également examiné son impact sur l'activité spontanée des neurones réticulaires et sur les courants inhibiteurs phasiques et toniques au niveau du NRT et du VPM. D'autre part, nos expériences électrophysiologiques ont suggéré une activité constitutive, agoniste-indépendante du récepteur mGlu7a. Nous avons testé cette hypothèse en utilisant un nouveau modulateur allostérique négatif (NAM, voir I.3.4) spécifique du récepteur mGlu7 non encore commercialisé : l'ADX71743 (la synthèse du composé par Françine Acher, Université Paris Descartes, est décrite dans l'article). Enfin, ces résultats obtenus dans des préparations *in vitro* ont été corrélés à des enregistrements EEG révélant l'activité globale de la boucle thalamo-corticale, ainsi qu'à l'observation comportementale de ces animaux. Ils montrent que le récepteur mGlu7 est déterminant pour moduler la capacité du réseau à générer des oscillations sycnhrones potentiellement pathologiques, contrôlant ainsi l'état de vigilance de l'animal.

II.3.2 Article (en préparation)

Phasic and tonic mGlu7 receptor activity controls the thalamo-cortical network.

Valériane Tassin[1,2,3], Apolline Chotte1[1,2,3], Benoît Girard[1,2,3], Pierre Fontanaud[1,2,3], Delphine Rigault[4], Julie Perroy[1,2,3], Francine Acher[4], Laurent Fagni[1,2,3], Federica Bertaso[1,2,3]

Affiliations

[1] CNRS, UMR-5203, Institut de Génomique Fonctionnelle, Montpellier, F-34094, France, [2] INSERM, U661, Montpellier, F-34094, France, [3] Universités de Montpellier 1 & 2, UMR-5203, Montpellier, F-34094, France, [4] Université Paris Descartes, CNRS UMR-8601, Paris, F-75006, France.

Contributions

V.T., L.F. and F.B. designed the study ; V.T. and F.B. performed the experiments and wrote the manuscript ; A.C. and B.G. performed the *in vivo* EEG recordings ; P.F. designed the EEG analysis routine ; D.R. and F.A. synthesized the ADX71743.

Corresponding author

Federica Bertaso (federica.bertaso@igf.cnrs.fr) Institut de Génomique Fonctionnelle ; 141 rue de la Cardonille Cedex 5 F-34094 France. Phone : +33-4-34 35 92 10.

Abstract

The metabotropic glutamate receptor type 7 (mGlu7) is expressed on both glutamatergic and GABAergic synapses, but its role in neuronal network function is an open question. By combining electrophysiological recordings, optogenetics and pharmacology we show that the mGlu7 receptor inhibits both glutamatergic and GABAergic synaptic transmission and regulates short-term plasticity via its C-terminus at specific thalamic synapses. In mGlu7^{AAA} mice, in which coupling of the mGlu7 receptor to neurotransmitter release is selectively inactivated, the thalamic reticular nucleus (TRN) excitability and the GABAergic tonus of the ventroposteromedial nucleus (VPM) are increased. The very low affinity of the mGlu7 receptor for glutamate raises the question of how the receptor can be activated, namely at GABAergic synapses and in basal conditions. Synaptic transmission can be enhanced by the mGlu7 negative allosteric modulator (NAM), ADX71743, suggesting that the receptor can display an agonist-independent/constitutive activity. Furthermore, *in vivo* administration of the NAM induces a lethargic state with spindle and/or spike-and-wave discharges on the EEG, accompanied by a behavioural arrest. Chemical or genetical inactivation of the mGlu7 receptor affects the ability of the thalamo-cortical network to control synchronous and potentially pathological oscillations. Our results underline a critical role for the mGlu7 receptor in the control of the dynamics between the thalamus and the cortex.

Introduction

In mammals, eight genes code for metabotropic glutamate receptors mGlu1 to mGlu8 in the central nervous system (CNS). Between all, the mGlu7 receptor shows the highest degree of evolutionary conservation across species and is the most widely distributed in a broad range of synapses critical for both normal CNS function and a range of psychiatric and neurological disorders. The mGlu7 receptor is expressed at glutamatergic presynaptic terminals [58, 249], but also in GABAergic presynaptic sites of the hippocampus [451], hypothalamus [420], and somatosensory cortex [124] of rodents.

Activation of the mGlu7 receptor leads to a decrease of synaptic transmission [351]. Of the different C-terminal splicing variants (mGlu7a-e) identified, mGlu7a is the most widespread in the central nervous system [170, 422]. The canonical signalling pathway activates Gi/o proteins and decreases cAMP production, but its role in synaptic transmission remains unclear [326]. Another pathway involving its association to the PDZ-interacting protein PICK1 (protein interacting with C kinase 1 ; **Fig.1a**) [378] and activation of protein kinase C by proximal $\beta\gamma$ Go subunits mediates the inhibition of voltage-gated calcium channels [379] and, as a result, a decrease of neurotransmitter release.

The lack of specific pharmacological tools considerably limited our knowledge on mGlu7. Mutant mice models have been created for this purpose. The mGlu7 receptor knockout mouse has impairments in fear responses, as well as alcohol or seizures susceptibility [193, 415]. The knock-in (KI) AAA mutation of the mGlu7a C-terminal (mGlu7^{AAA} mice) suppress its interaction with PDZ domain containing proteins, PICK1, and is sufficient to induce spatial working memory deficits [524] and spontaneous absence-like epileptic seizures [41]. Absence seizures are characterized by a hypersynchronous oscillatory activity of thalamic and cortical

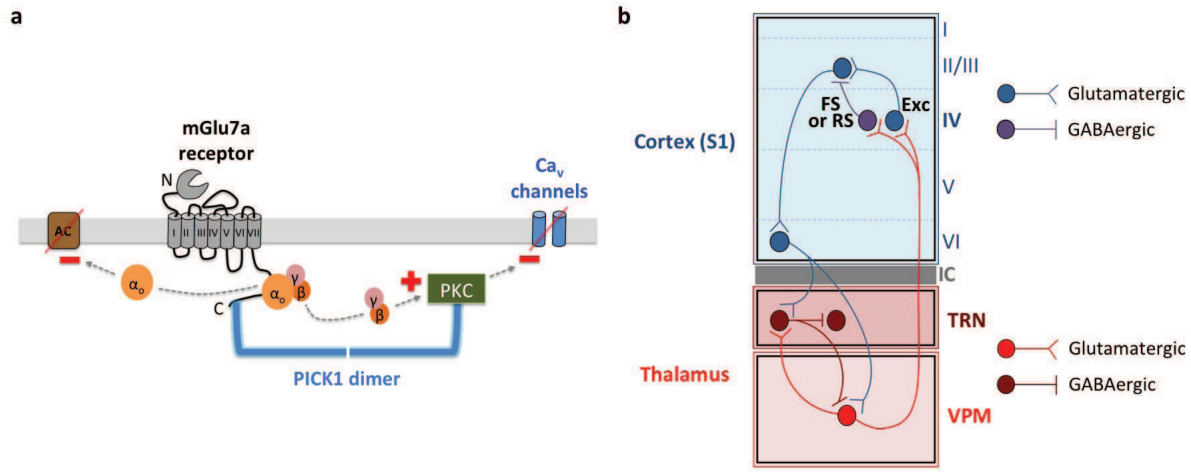


Figure 1. Schematic representation of mGlu7 receptor signalling at the presynaptic terminal and of the thalamo-cortical network.

(a) The mGlu7 receptor is found at glutamate or GABA presynaptic active zones close to neurotransmitter release sites. It activates Gi/o proteins that can reduce Ca^{2+} entry via either the inhibition of adenylate cyclase (AC) by the Gα subunit or by activating protein kinase C (PKC) via G$\beta\gamma$ subunits acting on a phospholipase (not shown). The latter mechanism is dependent on PDZ ligand binding of the C-terminus of mGlu7 to protein interacting with C kinase (PICK1). Other group III mGluRs are present at the perisynaptic site (mGlu4/8). (b) Schematic representation of the main connections between glutamatergic and GABAergic neurons in the somatosensory cortex (S1), the thalamic reticular nucleus (TRN) composed exclusively of GABAergic neurons, and the ventro-postero-medial nucleus (VPM), devoid of interneurons.

neurons, leading to typical spike-and-wave discharges (SWD) of the thalamo-cortical (TC) loop in human and animal models [118]. Seizures involve reciprocal projections between two thalamic nuclei, the GABAergic reticular nucleus (TRN) and the glutamatergic ventro-postero-medial nucleus (VPM), and the somatosensory (barrel) cortex (**Fig.1b**) [32, 221, 456].

The spontaneous occurrence of absence seizures in mGlu7^{AAA} mice suggests that the specific PDZ ligand-dependent mGlu7a receptor signalling pathway is crucial to control TC loop activity. The activation of the mGlu7 receptor remains a puzzling issue, due to its very low affinity for glutamate (in the millimolar range, amongst the lowest for neurotransmitters). This might be reached in the glutamatergic synaptic cleft [76], but less likely into GABAergic synapses.

We have investigated the functions of the mGlu7a receptor in both thalamic and thalamo-cortical synapses in wild-type (WT) and mGlu7^{AAA} mice, comparing electrically or optogenetically evoked postsynaptic responses, together with *in vitro* intracellular signalling quantification and *in vivo* EEG and behavioural analysis. We show here that the mGlu7 receptor can have *per se* a constitutive activity that does not require glutamate when express in an heterologous system. Interestingly, this constitutive activation may occur at both glutamatergic and GABAergic synapses and controls the animal vigilance degree.

Results

Modulation of glutamatergic transmission and short-term plasticity at thalamic VPM to TRN synapses

Intra-thalamic transmission properties were first tested by electrically stimulating VPM neurons and recording AMPA evoke excitatory post-synaptic currents (eEPSCs) in the TRN (**Fig.2a-f**). Neurons from mGlu7^{AAA} KI showed a lower stimulation threshold to evoke EPSCs and these were of smaller amplitude than in WT neurons (WT : 0.93 ± 0.11 AU and -124.3 ± 17.9 pA respectively, n = 48 ; mGlu7^{AAA} : 0.46 ± 0.7 AU, p=0.014 and -68.0 ± 15.2 pA, n = 28, p=0.050 respectively ; **Fig.2b,c,d**). The group III agonist, D,L-AP4-induced inhibition was also smaller in mGlu7^{AAA} (32.6 ± 5.3 %, n = 15) compared to WT neurons (53.0 ± 3.8 %, n = 32 ; p=0.0034 ; **Fig.2e,f**). The difference between the two values represents the mGlu7a-PICK1 pathway activation. The residual inhibition by D,L-AP4 was likely mediated by activation of the other group III receptors (mGlu4 and/or mGlu8), or PICK1-independent mGlu7 receptor signaling. These results suggest an mGlu7a-PDZ ligand specific inhibition of glutamate release in VPM projections within the TRN in WT, which is lost in mGlu7^{AAA} mice.

We then tested the mGlu7a receptor modulation of eEPSCs adaptation with a 10 Hz, 5-pulse stimulation protocol (see **Supplementary Methods**). As described in other studies [330], we found that some VPM synapses display synaptic depression, while others display a synaptic facilitation, in both WT and mGlu7^{AAA} mice (**Fig.2g**). Depression ratios were non-significantly modified in mutant mice (**Fig.2h**), while facilitation ratios were significantly higher compared to WT mice (**Fig.2i**). These data indicate that the mGlu7a receptor decreases the responsiveness of TRN neurons to repetitive VPM activity by favouring synaptic depression or lessening facilitation in basal conditions. Moreover, the proportion of neurons showing a facilitating adaptation was strongly increased in mGlu7^{AAA} mice (**Fig.2j**).

Inhibition and plasticity of VPM to cortical layer IV fast-spiking interneuron synapses

Thalamic VPM neurons relay sensorial information to the barrel cortex, which contains multiple microcircuits between various neuronal subtypes. VPM axon terminals project predominantly into layer IV, where three main different neuronal classes are found : excitatory glutamatergic neurons (i.e. pyramidal and spiny stellate neurons), and the Regular-spiking (RS) and Fast-spiking (FS) GABAergic interneurons, so called on the basis of their firing pattern in response to a current injection (see characterization in **Supplementary Fig.1**). As thalamo-cortical and cortico-thalamic fibres follow the same path, we used an optogenetic approach to selectively stimulate thalamo-cortical afferents. Virally-induced channelrhodopsin 2 (hChR2) was expressed in VPM neurons and eEPSCs were induced by shining blue light (488 nm) directly onto somatosensory cortical layer IV neurons [115] (**Fig.3a**).

A lower electrical stimulation threshold was sufficient to activate mGlu7^{AAA} VPM to TRN synapses as compare to WT (**Fig.2c**), suggesting a hyperexcitability of these synapses. This effect was not observed into optogenetically activated VPM to layer IV synapses (**Fig.3b-g**).

The amplitude of EPSCs recorded in Fast-Spiking interneurons was smaller in mutant than in WT mice (WT : -125.0 ± 22.7 pA, n = 17 ; mGlu7^{AAA} : -69.0 ± 15.1 pA, n = 20 ; p=0.009), and their D,L-AP4-induced inhibition was reduced in mGlu7^{AAA} (26.4 ± 3.4 %) compared to WT mice (39.0 ± 3.5 % ; p=0.023) (**Fig.3h,i**). Thalamic VPM to layer IV synapses showed depression upon repetitive stimulation (**Fig.3h,j**) as described in previous

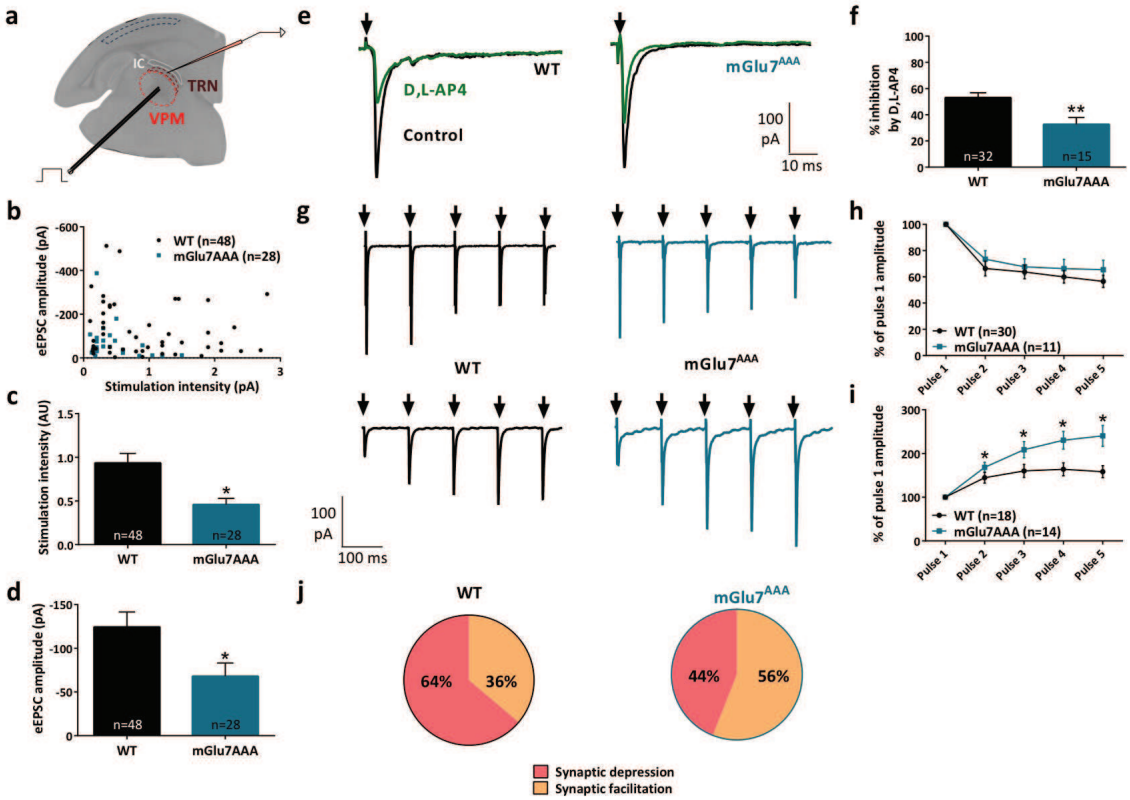


Figure 2. mGlu7 controls glutamatergic transmission and short-term plasticity in VPM to TRN synapses.

(a) Experimental configuration, including the positions of the electrical stimulation into the VPM and the recording electrode into the TRN. (b) Threshold AMPA EPSCs plotted vs. stimulation intensity for each neuron in both WT and mGlu7^{AAA} mice. Average stimulation intensities (c) and AMPA EPSCs amplitudes (d) indicating an hyper-responsiveness of VPM neurons and a post-synaptic fatigue of TRN neurons in mGlu7^{AAA} mice. (e) Representative D,L-AP4 effect on current traces from TRN neurons responding to VPM stimulation of WT (left) and mGlu7^{AAA} (right) mice. Electrical stimulations are indicated by black arrows. (f) Summary of D,L-AP4-induced IAMPA inhibition. (g) Representative current traces from TRN neurons responding to 5 stimuli at 10 Hz (black arrows) in WT (left) and mGlu7^{AAA} (right) mice. VPM afferents display either short-term depression (top) or facilitation (bottom) in both genotypes. (h,i) Depression ratios show no significant differences between the two genotypes, while facilitation ratios are strongly increased in mGlu7^{AAA} mice. (j) Proportion of neurons displaying either synaptic depression or facilitation in WT (left) or mGlu7^{AAA} (right) mice. * P<0.05, ** P<0.01, Mann-and-Withney test. Error bars indicate SEM.

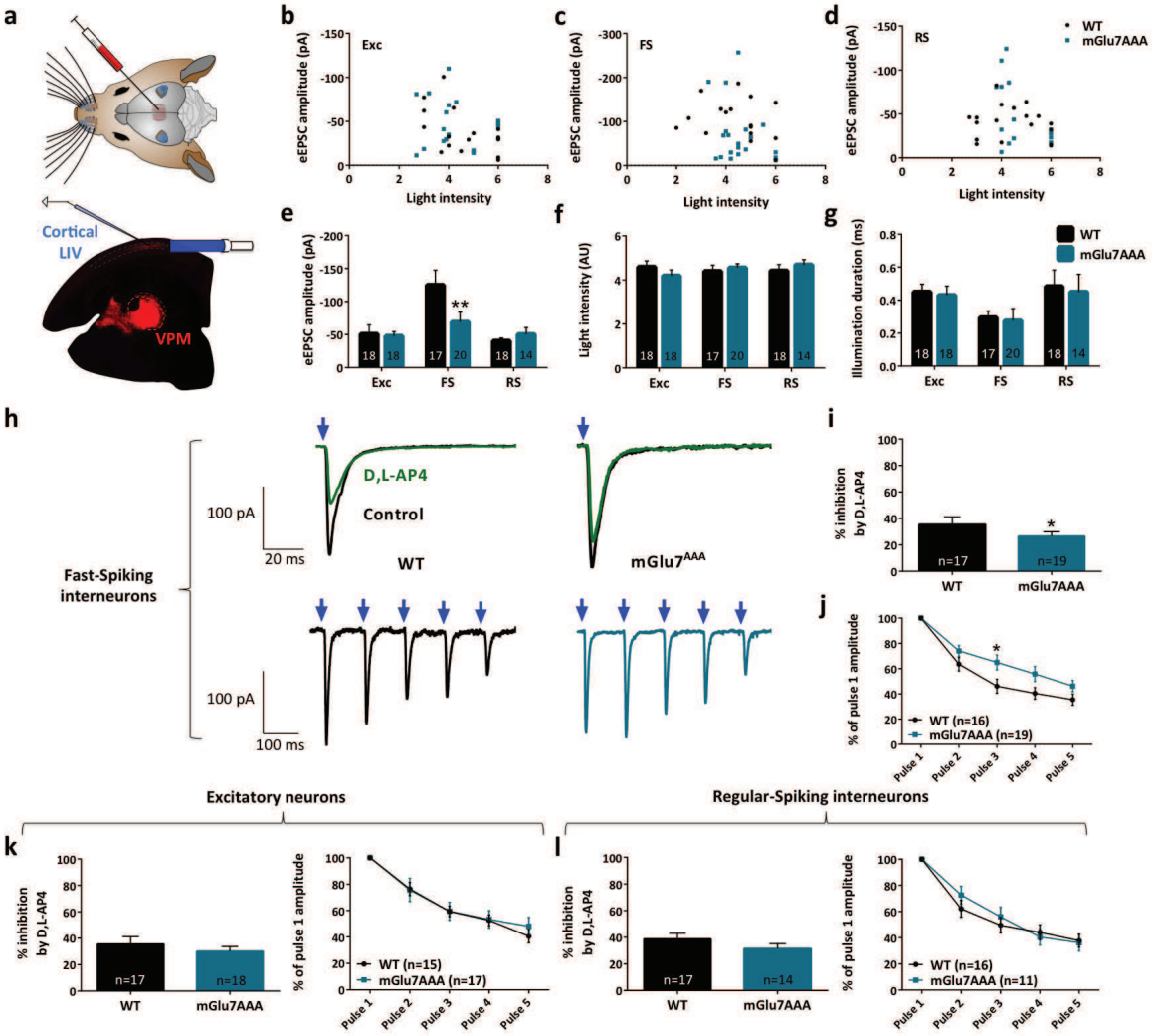


Figure 3. mGlu7 control of glutamatergic transmission and short-term plasticity in VPM to cortical layer 4 Fast-Spiking interneurons synapses.

(a) Experimental configuration and example of a thalamo-cortical slice expressing ChR2-mCherry in the thalamic ventro-postero-medial neurons and their axons targeting cortical layer IV. LED stimuli (blue light, 488 nm) were directed on layer 4 thalamo-cortical ChR2-expressing terminals where post-synaptic responses of cortical neurons were recorded. (b,c,d) Amplitude of AMPA EPSCs vs. stimulation intensity for each neuron type (respectively excitatory, Fast-Spiking and Regular-Spiking interneurons) in both genotypes (WT and mGlu7^{AAA} mice). AMPA current amplitudes are averaged in (e). (f,g) Threshold light intensities and illumination durations show no difference between WT and mGlu7^{AAA} mice. (h) Representative AMPA current traces from Fast-Spiking interneuron responding to VPM single (top) or 5x10 Hz (bottom) stimulation of WT (left) and mGlu7^{AAA} (right) mice. Light stimulations are indicated by blue arrows. (i) D,L-AP4-induced IAMPA inhibition. (j) Short-term depression ratios showing a decreased synaptic depression in mGlu7^{AAA} mice. (k,l) Mean AMPA current inhibition by D,L-AP4 and short-term depression ratios in excitatory neurons and Regular-Spiking interneurons respectively, showing no difference between WT and KI mGlu7^{AAA} mice. * P<0.05, ** P<0.01, Mann-and-Withney test. Error bars indicate SEM.

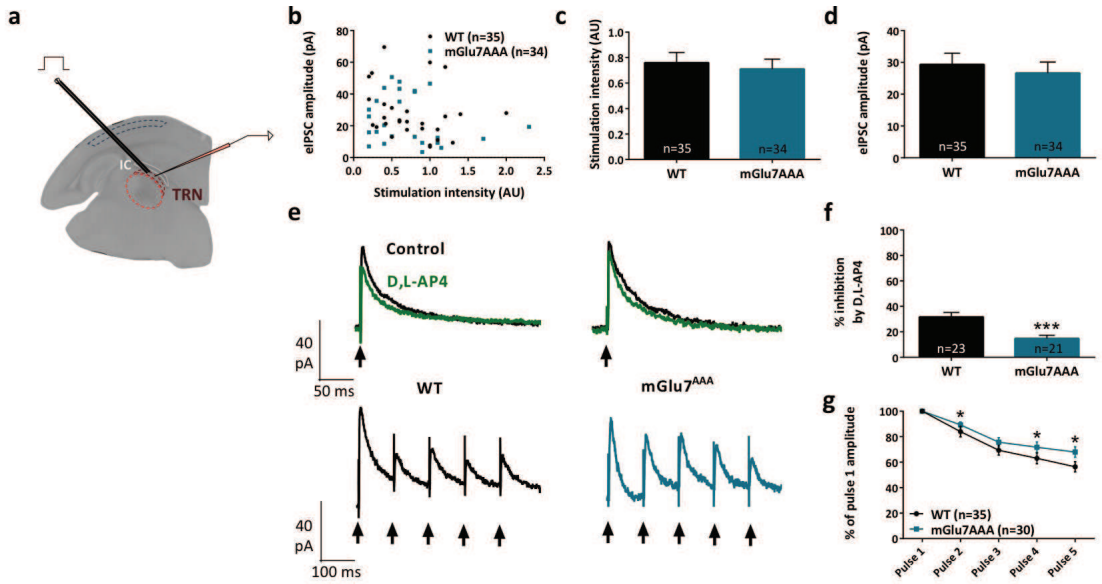


Figure 4. mGlu7 control of GABAergic transmission and short-term plasticity in intra-TRN synapses.

(a) Experimental configuration, including positions of electrical stimulation into the TRN and recording in adjacent reticular neurons. (b) Threshold GABA IPSCs amplitude vs. stimulation intensity for each neuron in both genotypes (WT and mGlu7^{AAA} mice). (c) Stimulation intensities and (d) GABA responses show no difference in responsiveness between both genotypes. (e) Representative GABA current traces from TRN neurons responding to TRN single (top) or 5x10 Hz (bottom) stimulation of WT (left) and mGlu7^{AAA} (right) mice. Electrical stimulations are indicated by black arrows. (f) D,L-AP4-induced IGABA inhibition. Short-term depression ratios (g) show a significant decrease of synaptic depression in mGlu7^{AAA} mice. * P<0.05, *** P<0.001, Mann-and-Withney test. Error bars indicate SEM.

studies [115]. Depression ratios were significantly reduced in FS mGlu7^{AAA} mice interneurons (**Fig.3h,j**), confirming a loss of basal inhibitory control in these synapses. On the contrary, the effect of D,L-AP4 on single or repetitive EPSCs recorded from glutamatergic neurons and RS interneurons were similar for both genotypes (**Fig.3k,l**). Taken together, these results indicate a presynaptic mGlu7a receptor-mediated inhibition of VPM glutamatergic contacts innervating L4 FS interneurons, but not other cell types.

Modulation of GABAergic transmission within thalamic reticular neurons

Thalamic TRN neurons innervate adjacent reticular neurons as well as VPM neurons, and constitute the only inhibitory input in these nuclei in mice [394]. We investigated the synaptic function of the mGlu7a receptor on transmission and short-term plasticity by electrically stimulating TRN neurons, and recording eIPSCs into either TRN or VPM cells (**Fig.4a-f** and **Supplementary Fig.2**).

Stimulation intensity required to evoke IPSCs in TRN neurons as well as intra-TRN IPSCs amplitudes were similar in WT and mGlu7^{AAA} slices (**Fig.4c,d**). Notice that intra-TRN responses are very low compared to eIPSCs or eEPSCs recorded in other TC loop relays. D,L-AP4-induced inhibition of intra-TRN synapses was reduced in mGlu7^{AAA} (14.7 ± 2.6 %, n = 21) compared to WT mice (31.6 ± 3.6 %, n = 23 ; p<0.0001 ; **Fig.4e,f**), but was similar

in TRN to VPM synapses (**Supplementary Fig.2**). In accordance with previous studies, we found that repetitive stimulation induced depression of the synaptic response in TRN. This effect was not significantly different in either mice genotypes (**Fig.4e,g**). However, intra-TRN synaptic depression ratios were higher in mGlu7^{AAA} mice projections, reflecting a reduced adaptation of GABA release during repetitive stimulations. These ratios were similar in TRN to VPM projections (**Supplementary Fig.2**). In synthesis, the mGlu7a receptor modulates basal synaptic plasticity only in intra-TRN, but not in TRN to VPM synapses, in agreement with previous immunohistochemical data showing that the mGlu7 receptor is absent in mouse VPM [249].

mGlu7a reduces both phasic and tonic spontaneous GABA currents in the thalamus

We have shown that the mGlu7a receptor modulates basal transmission and plasticity within TRN synapses. These effects could participate in establishing the basal excitability state of reticular neurons, and could thus have repercussions on spontaneous GABA release from TRN neurons presynaptic sites.

To determine whether the mGlu7a receptor could affect the spontaneous synaptic activity of reticular neurons, we first examined phasic GABA$_A$ inhibition in neurons from WT and mGlu7^{AAA} mice. mIPSCs properties were tested in both TRN and VPM, which receive GABAergic inputs exclusively from TRN neurons. The frequency of mIPSCs was increased in both VPM (WT : 10.92 ± 1.23, n = 18 ; mGlu7^{AAA} : 18.34 ± 1.05, n = 20 ; p<0.0001 ; **Fig.5a,c**) and TRN neurons (WT : 1.30 ± 0.10 Hz, n = 12 ; mGlu7^{AAA} : 3.09 ± 0.27 Hz, n = 14 ; p<0.0001 ; **Fig.5e,f**) of mGlu7^{AAA} mice, suggesting a higher spontaneous GABA release from TRN neurons. mIPSCs amplitudes were identical in both genotypes (**Fig.5d,g**).

When GABA is released into the synaptic cleft, not only it activates synaptic GABA$_A$ receptors leading to phasic IPSCs, but can also diffuse outside the synapse and activates extrasynaptic GABA$_A$ receptors, leading to a tonic GABA$_A$ current [333]. This current can be specifically isolated by application of gabazine [164]. We found that tonic GABA$_A$ current amplitude was increased in the VPM of mGlu7^{AAA} mice (WT : 35.23 ± 7.96, n = 14 ; mGlu7^{AAA} : 60.20 ± 6.83, n = 18 ; p=0.0099 ; **Fig.5a,b**) but was absent in TRN of both genotypes (data not shown). These results are in accordance with the absence of extrasynaptic GABA$_A$ receptors expression in this nucleus [229]. These data indicate that the ambient GABA level in the VPM is higher in mGlu7^{AAA} mice, reinforcing the idea of an essential basal control of TRN excitability by the mGlu7a receptor.

ADX71743 reveals a constitutive activity of the mGlu7a receptor

The mGlu7 receptor has a low affinity for glutamate and therefore is supposed to be active only upon high frequency activity in glutamatergic synapses. Moreover, its functional expression in GABAergic synapses raises the issue of its activation by endogenous glutamate. In mGlu7^{AAA} mice, basal transmission and short-term plasticity, as well as reticular neurons spontaneous activity were modified (cf. **Fig.2-5**). These effects are in accordance with a potential constitutive activity of the mGlu7a receptor, or with a sustained activity of the receptor induced by endogenous glutamate. To test these hypotheses, we analysed the intrinsic ability of the receptor to activate its intracellular signalling cascade. We compared the effect of the orthosteric group III mGluRs agonist, the L-AP4 (600 μM), the orthosteric group III mGluRs antagonist, CPPG (100 μM), and the mGlu7 receptor-selective negative allosteric modulator (NAM), ADX71743 (10 μM) [235] on the production of inositol phosphates (IP) in mGlu7a-transfected HEK cells

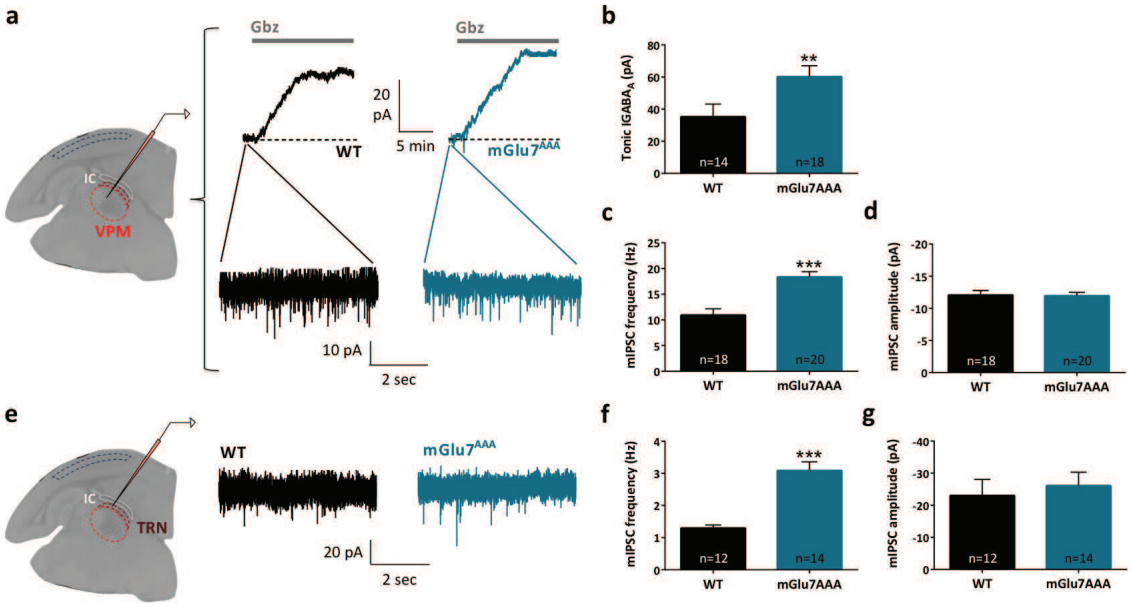


Figure 5. mGlu7 decreases TRN neurons-mediated tonic and phasic GABA$_A$ inhibition in the VPM and TRN.

(a) Representative current traces from WT (left) and mGlu7^{AAA} (right) VPM neurons in the presence of 1 μM TTX. Application of 50 μM gabazine (top, gray bar) induces a baseline shift, reflecting the inhibition of GABA$_A$ tonic current. The expanded traces show phasic mIPSCs recorded in both genotypes. (b) Mean tonic GABA$_A$ current amplitude. (c,d) Mean mIPSCs frequency and amplitude. (e) Representative current traces from WT (left) and mGlu7^{AAA} (right) TRN neurons in the presence of 1 μM TTX. Tonic GABA$_A$ inhibition was absent in this nucleus (data not shown), in accordance with the absence of extrasynaptic GABA$_A$ receptors in this structure. (f,g) Mean mIPSCs frequency and amplitude. ** P<0.01, *** P<0.001, Mann-and-Withney test. Error bars indicate SEM.

(**Fig.6a,b**). CPPG inhibited only the agonist-dependent mGlu7a receptor activation, while ADX71743 inhibited both agonist-dependent and agonist-independent activity of the receptor. The basal IP1 level was higher in mGlu7a-transfected than non-transfected (mock) cells, suggesting that the expression of the mGlu7a receptor is sufficient *per se* to induce IP1 production, in the absence of agonist. In mGlu7a-transfected cells, basal IP1 production was stimulated by L-AP4, reversed by ADX71743, but not modified by CPPG suggesting that the mGlu7a receptor has a constitutive activity (**Fig.6b**).

The mGlu7a mediates tonic inhibition of glutamate and GABA release in VPM and TRN synapses

If the mGlu7a receptor displays constitutive activity, the NAM should reverse the receptor-induced inhibition of neurotransmitter release and enhance the postsynaptic response amplitude. To test this hypothesis, we first electrically stimulated intra-TRN synapses and found that the amplitude of eIPSCs were increased by ADX71743 in WT mice (31.2 ± 9.7 % ; n = 12). In this context the contribution of glutamate release to activation of the receptor should be limited. Hence, we could conclude that the mGlu7a receptor constitutively inhibits GABA release by TRN neurons. The effect of the NAM was minimal in mGlu7^{AAA} mice (0.56 ± 10.8 % ; n = 13 ; p=0.0297 ; **Fig.6c,d**), implying that this constitutive activity is dependent on mGlu7a PDZ ligand-binding site.

In a similar way we looked at VPM to TRN glutamatergic synapses and found that eEPSCs were increased by ADX71743 in WT mice (31.2 ± 9.8 % ; n = 15). Although we cannot exclude a contribution of elicited glutamate release to the activity of the receptor, we may deduce that at least part of the effect was due to a constitutive activity as observed in GABA synapses. The effect of the NAM was much smaller in mGlu7^{AAA} mice (1.9 ± 9.2 % ; n = 13 ; p=0.0111 ; **Fig.6e,f**). This constitutive activity of mGlu7 receptors should lead to an inhibition of voltage-gated calcium channels, which would decrease Ca^{2+} entry into WT synapse terminals. This would be consistent with our previous results showing that the synaptic facilitation is favoured and depression is reduced in mutant mice, in the absence of exogenous agonists.

In vivo induction of a lethargic state and absences seizures by the mGlu7 receptor-specific NAM

What is the physiological role of the mGlu7 receptor allosteric activity ? We examined this issue *in vivo* by comparing the effects of ADX71743 (100 mg/kg i.p.) or vehicle alone (b-cyclodextrine, CD) in WT and mGlu7^{AAA} mice. Control CD-injected mice showed no modification of the EEG pattern and continued their exploratory activity or grooming. The majority of WT mice (31 out of 36 mice) injected with the NAM showed a net decrease of exploratory activity and reactivity. Such a lethargic status appeared 5 ± 0.5 min after injection and lasted 43.8 ± 3.7 min. mGlu7^{AAA} mice showed the typical repeated absence-like behaviour previously reported by our group [41], with episodes of exploratory activity arrest and facial myoclonus. Administration of the NAM did not worsen their reactivity (n = 32). The analysis of cortical EEG activity in WT mice treated with the ADX71743 revealed an increase of the power of the 0-4 Hz delta band and 4-8 theta band [349], with appearance of 1-3 s lasting waxing-and-waning spindles typical of non-REM sleep (**Fig.7c**, n = 21 mice). In a few cases (4 out of 21), on top of the described sleep-related activity, we observed spike-and-wave discharges with an intrinsic frequency of 8 to 10 Hz, similar to those spontaneously arising in non-treated mGlu7^{AAA} mice (**Fig.7b,d** and [41]). As both lethargy and absence seizures are supported by the thalamo-cortical network activity, these data suggest that constitutive activity of the

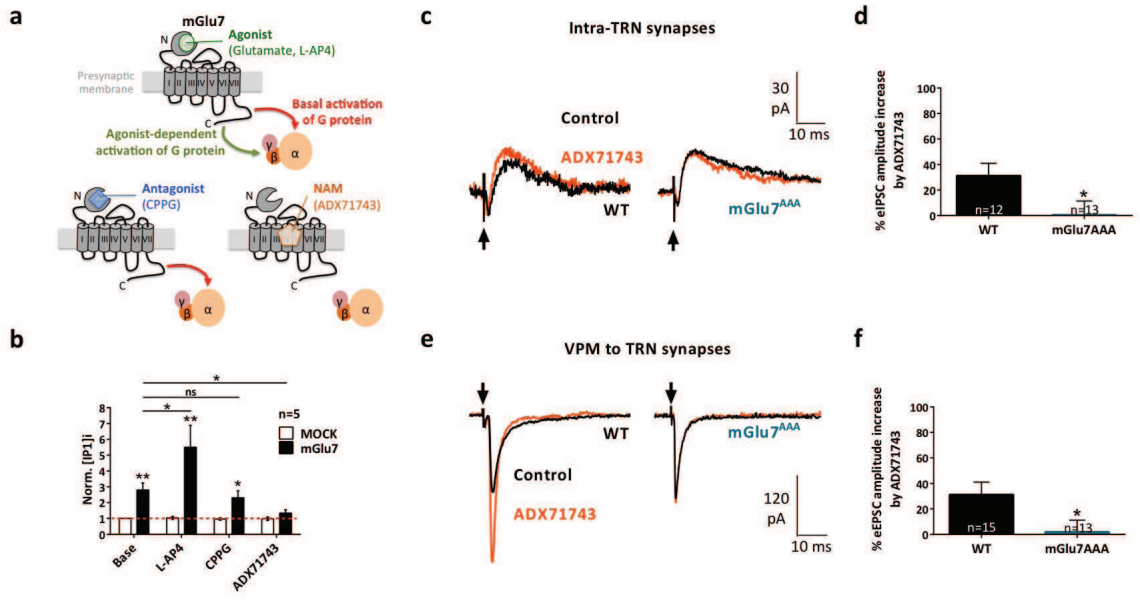


Figure 6. mGlu7 tonically inhibits thalamic synapses via its constitutive activity.

(a) Schematic representation of receptor-ligand interactions and their consequences on receptor activation. Top : glutamate and L-AP4 bind to the canonical, orthosteric site and induce G-protein activation on top of putative basal, constitutive G-protein activation. Bottom left : a classical antagonist (e.g. CPPG) blocks agonist-dependent G-protein activation, but not the constitutive activation. Bottom, right : a negative allosteric modulator (NAM, e.g. ADX71743) binds to a site distinct from the agonist binding site and blocks both agonist-dependent and constitutive G-protein activation. (b) Normalized IP1 production in HEK cells transfected or not (mock) with mGlu7a receptor cDNA. Note that transfection of the mGlu7a receptor in the absence of agonist induces *per se* an increase in intracellular signalling. The group III mGluR antagonist CPPG does not block basal IP1 production, while the NAM ADX71743 does. (c,d) Representative GABA current traces and mean eIPSCs activation within the TRN of WT (left) and mGlu7^{AAA} (right) mice following ADX71743 (10 μM) application. Electrical stimulations are indicated by black arrows. (e,f) Same as in panels c,d for eEPSCs measured in TRN neurons responding to VPM stimulation. * P<0.05, ** P<0.01, Mann-and-Withney or t-student test. Error bars indicate SEM.

mGlu7 receptor via the PDZ-ligand signalling pathway prevents unbalanced activity of the network accompanied by abnormal sleep-related behaviour or seizures.

Discussion

Genetics mouse models allowed a deeper understanding of the mGlu7 receptor synaptic functions. Interestingly, mGlu7 KO and mGlu7^{AAA} KI mice display different phenotypes [415, 41], suggesting specific synaptic functions of mGlu7a receptor-PDZ ligand interaction. We show here that this pathway is involved in the control of both evoked and spontaneous activity of thalamic neurons. We also demonstrate the involvement of the mGlu7a receptor in short-term plasticity enhancement, reinforcing depression and slowing down facilitation in WT mice. Finally, we demonstrate a constitutive activity of the mGlu7a receptor *in vitro* and *in vivo*, by using the new selective negative allosteric modulator, ADX71743. The receptor tonically modulates both GABAergic and glutamatergic transmission and short-term plasticity in phy-

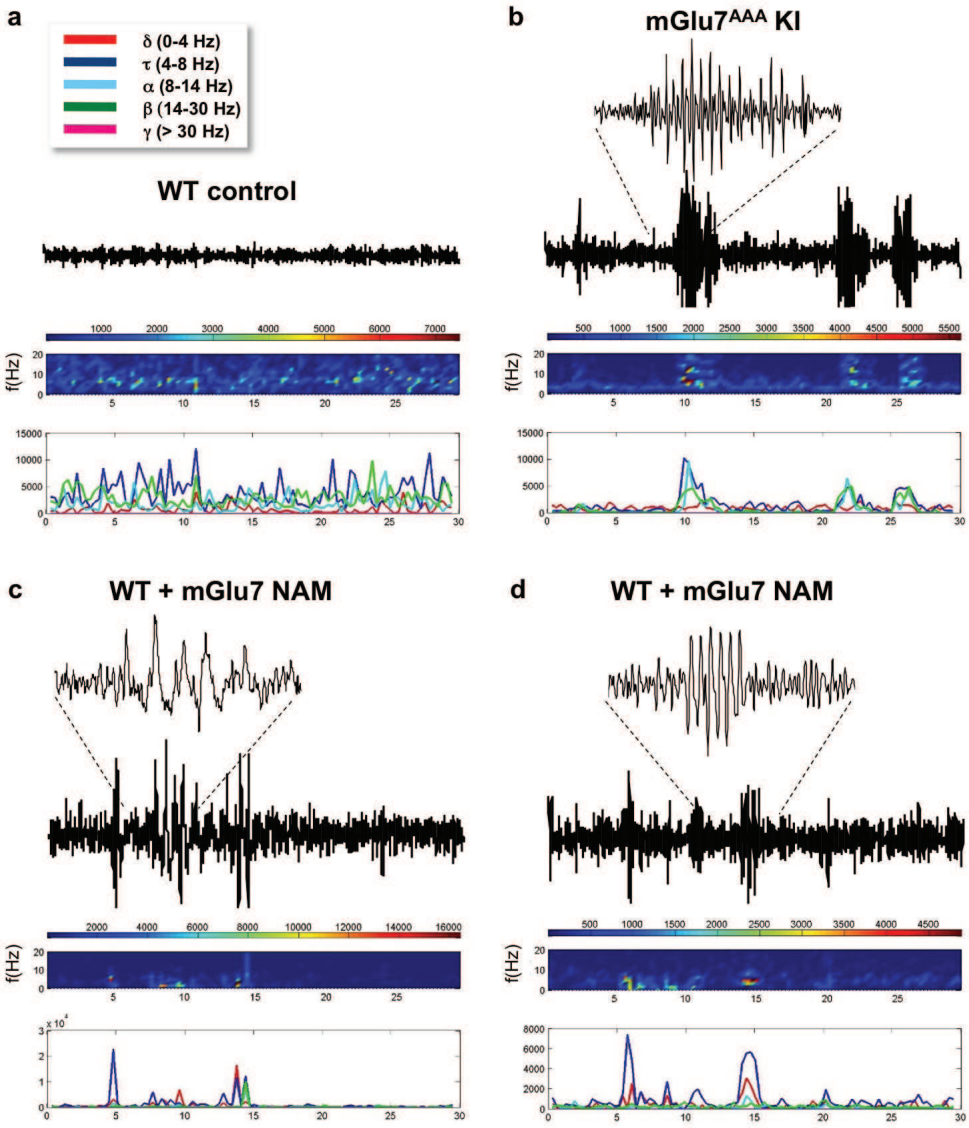


Figure 7. EEG activity induced by mGlu7 receptor mutation and treatment with the mGlu7 NAM.

Example EEG traces, corresponding short-time Fourier transform representation (frequency over time) and frequency band raw power are shown for WT mice injected with the either the vehicle alone (a) or the mGlu7 NAM (c,d) and for a mGlu7^{AAA} mouse showing spontaneous SWD (b). Traces in (c,d) show respectively spindle-like and SWD-like activity. In (a) the colour legend for the different frequency bands analysed is depicted.

siological conditions through partial agonist-independent/constitutive activity.

Auto- and hetero-synaptic control of the thalamo-cortical loop excitability by the mGlu7a receptor-PDZ ligand signalling

A few studies have highlighted the link of group III mGluRs with absence seizures [41, 447]. Absence seizures are due to thalamo-cortical network aberrant oscillations, supported by reciprocal connections between glutamatergic VPM and GABAergic TRN neurons, and somatosensory cortex [221, 456].

In this study we focussed our attention on thalamic synaptic terminals and show that the mGlu7a receptor inhibits both glutamate and GABA release, and controls EPSC and IPSC adaptation in VPM and TRN presynaptic sites. Our results demonstrate that the mGlu7a receptor is an essential modulator excitability both by down-regulating the strength of VPM inputs within TRN, and by affecting the intra-TRN transmission. We also found that both phasic and tonic inhibitions are increased in both VPM and TRN in mGlu7^{AAA} mice, illustrating a higher spontaneous activity of reticular neurons. The mGlu7a receptor seems thus to control spontaneous GABA release by TRN neurons. Similary, Errington and colleagues showed an inhibition of the tonic GABA$_A$ current by group III mGluRs in the thalamic neurons, although the concentrations of L-AP4 used were rather low to fully activate the mGlu7 receptor [160]. Group III mGluRs thus seem of particular importance to regulate neuronal excitability by modulating both phasic and sustained synaptic responses.

Taken together, our data suggest an excessive activation of VPM → TRN, VPM → L4 FS interneurons and intra-TRN synapses in mGlu7^{AAA} mice (**Fig.8a**). What does this tell us ?

- Over-activation of TRN neurons by VPM cells can induce a hyper-excitation of reticular neurons, and thus increase the inhibitory feedback of reticular neurons within VPM nucleus via a VPM → TRN → VPM pathway. This indirect effect is amplified by the reticular neurons-mediated spontaneous phasic and tonic hyper-inhibition of thalamic cells. Interestingly, increased TRN neurons-mediated tonic inhibition has been observed in all the other absence epilepsy models [110]. As VPM and TRN neurons express T-type voltage-dependent Ca^{2+} channels, their hyper-polarization is able to switch their firing from tonic to burst mode, typically observed during absence seizures [221]. Thus in mGlu7^{AAA} mice, VPM neurons would be more susceptible to generate bursts.

- Layer 4 FS interneurons are known to mediate fast and powerful perisomatic IPSCs, and are responsible for the main feedforward inhibition in the TC network [114, 398]. The inactivation of the mGlu7a receptor in VPM → FS interneurons pathway induces their over-activation in layer 4, and should thus increase the cortical inhibition and synchronisation mediated by these interneurons [473].

- Intra-TRN inhibition is able to desynchronize reticular neurons activity [32]. In the young mGlu7^{AAA} KI mice used for slice recording, our results suggest that intra-TRN inhibition is increased, and this effect should therefore be protective against absence seizure, by preventing synchronisation of the TRN neurons activities. Intra-TRN connections are known to slowly disappear during the cerebral maturation in mice [392]. This protective effect may be lost in adult mice displaying spontaneous absence seizures, and may support difference in the age at which the first seizures appear in the rodent models of absence epilepsy compared to human.

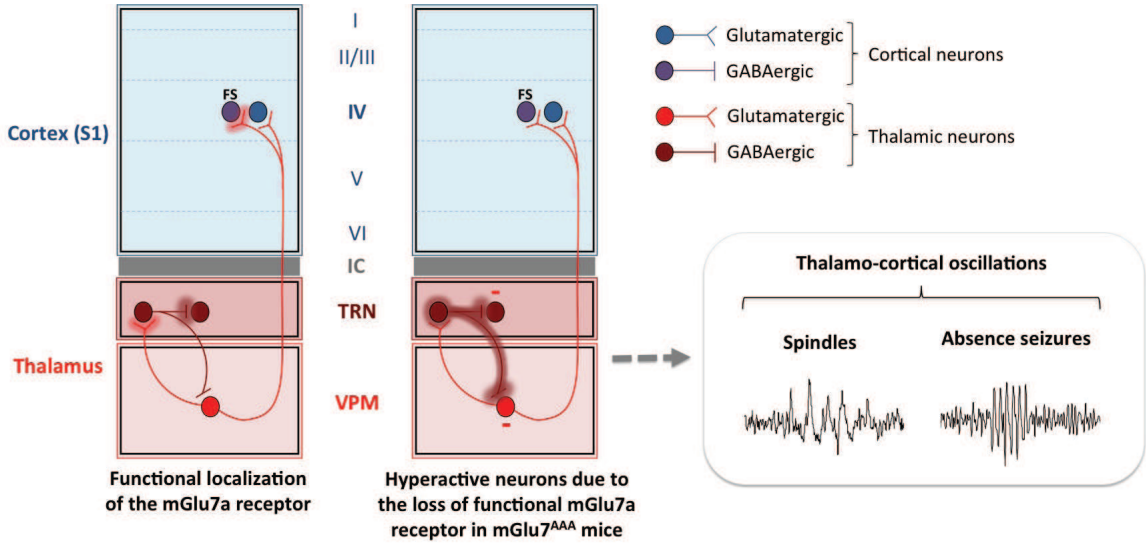


Figure 8. Schematic representation of the thalamic network alterations observed in this study.

Left, functional abnormalities observed in mGlu7^{AAA} mice or induced by the mGlu7 NAM. Synapses presenting modified neurotransmission, plasticity, and neuronal hyperexcitability are illustrated by enlarged lines (non-studied synapses are shaded). Center, WT mGlu7 signalling via agonist-dependent and constitutive activity controls Ca$_v$ channels responsible for neurotransmitter release. Right, mutation of the receptor or *in vivo* administration of the negative allosteric modulator induce paroxistic spindle waves and spike-and-wave discharges, accompanied by a lethargic behaviour.

All these data (recapitulated in **Fig.8**) highlight the fact that the physiological function of this glutamatergic receptor seems of particular importance to control inputs onto GABAergic neurons and their excitability state.

An interesting question is raised by the consistently smaller response in some mGlu7^{AAA} synapses compared to WT. These synapses displayed high EPSC or IPSC amplitudes ($>$ 50 pA) in WT, while no difference was observed in intra-TRN low amplitude postsynaptic currents. This could reflect a variety of mechanisms. First, the lack of mGlu7a-mediated Ca$_v$ channels inhibition in mutant mice might induce a sustained glutamate and GABA release by VPM and TRN axon terminals respectively. Indeed, we showed that spontaneous GABA release by TRN neurons is increased in mutant mice. As TRN and cortical L4 neurons receive other glutamatergic inputs in addition to VPM afferents, we could not examine the VPM neuron spontaneous activity. Ca^{2+} accumulation into mGlu7 receptor-expressing axon terminals may also induce higher facilitation and decreased depression, as observed in mutant mice synapses. These effects might deplete the releasable pool of neurotransmitter in presynaptic sites, leading to a synaptic fatigue. An alternative explanation could be internalization of postsynaptic receptors after sustained neurotransmitter release.

The mGlu7a receptor constitutively inhibits glutamate and GABA release

Several G-protein coupled receptors (GPCRs) display an agonist-independent/constitutive activity, in some cases due to pathological mutations [53, 424]. Amongst mGluRs, only rare examples regarding the mGlu1 and mGlu5 sybtypes have been reported in neurons [9, 399]. The existence of a tonic mGlu7a receptor-mediated inhibition of P/Q type Ca^{2+} channels was

shown by our group in cultured cerebellar granule cells, which is antagonized by binding of the protein kinase C substrate MacMARCKS to the receptor C-terminal receptor tail [40]. Our results with the mGlu7 receptor-selective NAM demonstrate a constitutive activity of the mGlu7a receptor which depends on its coupling via the PDZ ligand motif in glutamatergic as well as GABAergic synapses. Interestingly, work from Turner and Salt showed that two orthosteric mGluR antagonsits, MAP4 and LY341495, had no effect on evoked EPSPs amplitude in thalamo-cortical slices, suggesting the absence of endogenous, glutamate-depedent activity [489].

In vivo administration of ADX71743 showed that the mGlu7 receptor has a basal activity, which is instrumental for controlling the TC loop, as its blockade causes modification of cortical EEG rhythms and lethargy in WT mice (**Fig.8**). The border between the lethargic effect and absence seizures seem blurry, as in a few animals the EEG revealed SWDs typical of epileptic seizures. The lack of effect of ADX71743 in mGlu7^{AAA} mice suggests the PDZ ligand-dependent pathway as essential for receptor functions, which was consistent with previous findings [326, 379]. Alternatively, one could imagine an occlusion mechanism between the mutation of the receptor PDZ ligand motif and the action of ADX71743. Taken together, these data indicate that the mGlu7a receptor-PDZ ligand pathway tonically modulates glutamate and GABA release by thalamic axon terminals, in an agonist-independent manner.

In vitro activation of group III mGluRs by L-AP4 decreases the duration of epileptiform oscillations duration in the TC circuitry [261]. The authors showed that the mGlu7 activation reduces spindle oscillations, which typically occur during the early stage of sleep or during active phases of slow-wave-sleep oscillations. This is consistent with our *in vivo* observations, where blockade of the mGlu7 receptor by ADX71743 enhances thalamic oscillations in WT mice. In the presence of this mGlu7 receptor specific NAM, EEG events representative of both spindle and absence seizures were observed in association with drowsiness and behavioural arrest. Thus, it appears that the mGlu7 receptor controls the global thalamic state of excitability, slowing down its ability to switch from the tonic to the oscillatory mode.

Towards a re-evaluation of the role of the mGlu7a receptor in the thalamo-cortical loop

Despite its wide distribution and conservation among species [249, 170], the mGlu7 receptor remains the "ugly duckling" of mGluRs, due to the long-standing absence of specific pharmacology. The mGlu7 receptor is expressed in the active zone of presynapstic terminals [436], suggesting a subtle modulatory function. Here we took advantage of the combination of a genetic mouse model and new compound to challenge the classical view of the mGlu7 receptor as a low-pass filter. The tonic mGlu7a receptor-mediated inhibition of both glutamatergic and GABAergic VPM and TRN synapses suggests that the receptor can also control basal synaptic transmission by constantly and specifically shaping low frequency excitatory and inhibitory postsynaptic responses.

Several studies have highlighted the impact of the tonic GABA$_A$ current on the control of neuronal excitability, with implications in different pathologies such as epilepsies, stress or depression-related paradigms [192]. We demonstrate here a negative feedback control of the mGlu7 receptor on tonic GABA$_A$ current. Given its low affinity for glutamate it is plausible that, in physiological conditions, the mGlu7 receptor acts mainly via its constitutive rather than phasic agonist-dependent activity, at least in GABAergic synapses where the concentration of glutamate is expected to be well below the millimolar range required to activate the receptors.

Pelkey *et al.* showed that the combination of mGlu7 receptor activation and mossy fibers high frequency stimulation induces a PICK1-dependent long-term depression in hippocampus [376]. We found that in the thalamo-cortical network mGlu7a receptor-expressing WT synapses display higher synaptic depression than mGlu7^{AAA} mutant synapses. It thus appears that the mGlu7 receptor-PDZ ligand signalling participates in both short-term and long-term plasticity, the neural basis of many cognitive and emotional processes [352]. The tonic control of synaptic function by mGlu7a receptors could also impact network development : the phenotypic abnormalities found in mGlu7 receptor mutant models reflect the strength of these synaptic controls in WT CNS.

In human, *GRM7* gene polymorphisms have recently been associated with autism [518], schizophrenia [356], attention deficits and hyperactivity [372], age-dependent auditive deficits [176], although not yet to epilepsies [195]. By acting directly on on both excitation and inhibition, the mGlu7a receptor could provide a new therapeutic target against absence epilepsies, and more generally other motor or psychiatric neuropathologies resulting from unbalanced neuronal excitation/inhibition. Indeed, the emerging field of positive and negative allosteric modulation of the mGlu7a receptor offers a considerable potential for the development of novel therapeutics.

Online Methods

Mice.

All animal procedures were conducted in accordance with the European Communities Council Directive (2010/63/EU) and approved by the French Ministry for Agriculture. The generation and characterization of the mutant mice are described elsewhere (mGlu7$^{AAA/AAA}$ mouse, herein named mGlu7^{AAA} mice, [524]).

Acute thalamo-cortical slices preparation.

All chemicals used to prepare electrophysiological solutions were purchased from Sigma-Aldrich. mGlu7^{AAA} or wild-type littermates male and female mice aged P15-P21 were deeply anesthetized by inhalation of isoflurane, and slices were prepared with a vibratome (Campden Instruments) as previously described (350 μm-thick, 35° tilt from coronal [114]) to study synapses between TRN and VPM neurons, and VPM to cortex layer 4 neurons. As intra-TRN projections are more often in the horizontal plan, we prepared 230 μm-thick horizontal slices to study intra-TRN synapses. We then incubated slices at 32°C for 1 h and then at 24-26°C, in artificial cerebrospinal fluid (ACSF) containing (in mM) 120 NaCl, 2.5 KCl, 1.6 NaH2PO4, 1.3 MgCl2, 2.5 CaCl2, 27 NaHCO3 and 22 glucose, equilibrated with 95% O2 and 5% CO2, pH 7.4.

Whole-cell recordings.

Following incubation, brain slices were transferred to the recording chamber and superfused with ACSF (2 ml/min, 32°C). For EPSC recording ACSF was supplemented with D-AP5 (50 μM) and bicuculline (10 μM). For IPSC recording, ACSF was supplemented with CNQX (10 μM) and D-AP5 (50 μM). All these drugs were purchased from Tocris.Recordings were obtained from visually identified TRN, VPM and cortical layer 4 neurons using differential contrast optics with an upright microscope (Olympus) and an infrared CCD video camera (COHU). Recording electrodes made of borosilicate glass had a resistance of 4–7 MΩ when filled

with intracellular solution. For thalamic neurons, the internal solution contained (in mM) 115 CsMeSO3, 20 CsCl, 10 HEPES, 0.6 EGTA, 4 Na2-ATP, 0.4 Na-GTP, 10 Na-phosphocreatine, and 2.5 MgCl2. For cortical layer 4 neurons, the internal solution contained (in mM) 125 K-gluconate, 10 KCl, 10 HEPES, 0.2 EGTA, 4 Na2-ATP, 0.3 Na-GTP, 14 Na-phosphocreatine, and 1.8 MgCl2. For both solution, pH was adjusted to 7.3 with CsOH or KOH respectively, and the osmolarity was 300 mOsm. For all recording conditions, only cells with access resistance < 18 MΩ and a change of resistance <25 % over the course of the experiment were analysed. Data were filtered with a Hum Bug (Quest Scientific), digitized at 2 kHz (Digidata 1444A, Molecular Devices), and acquired using Clampex 10.2 software (Molecular Devices).

Electrical stimulation of VPM and TRN.

Electrical stimulations were delivered via a bipolar stimulation electrode (0.1-1 mA, 100 μs ; FHC Inc.). To study the effect of the mGlu7 receptor at thalamic presynaptic sites, the stimulation electrode was placed either in the VPM to evoke excitatory post-synaptic currents (eEPSCs) in TRN neurons, held at -60 mV (inward currents), or in the TRN to evoke inhibitory post-synaptic currents (eIPSCs) within adjacent TRN neurons or VPM neurons, held at 0 mV (outward currents). The group III mGluRs agonist D,L-AP4 (1.2 mM, Tocris Bioscience) and the mGlu7 receptor negative allosteric modulator (NAM) ADX71743 (10 μM) were applied and the effects compared between the two genotypes (see **Supplementary Methods** for details on pharmacology, synthesis of ADX71743 and minimal evoked monosynaptic responses details).

Optogenetical stimulation of thalamo-cortical fibers.

Adeno-associated virus carrying cDNA for channelrhodopsin and the fluorescent reporter mCherry (AAV2/1.CAG.hChR2(H134R)-mCherry ; Karl Deisseroth, Stanford University via the UPenn VectorCore) were injected into VPM of WT or mGlu7^{AAA} mice at post-natal days 13 (stereotaxic coordinates from olfactive bulb junction were lateral, 2.10 mm ; posterior, 4.50 mm ; and depth, 3.50 mm). The viral titres were 10^{11} IU/ml and injection volume was 0.7 μl. After allowing 4-8 days for ChR2 expression, acute somatosensory thalamo-cortical slices were used for *in vitro* patch-clamp recording (see above). VPM synaptic terminals expressing hChR2-mCherry were stimulated with blue light (LED, 488 nm, 0.1 ms/pulse, 40-200 μW) shined in the barrel cortex layer IV. Cortical neurons were identified as excitatory cells, Regular-spiking or Fast-Spiking interneurons, according to their electrophysiological properties (see **Supplementary Fig.1**). In some cases, at the end of the experiments TC slices were incubated overnight in phosphate buffer saline solution (PBS) containing 4 % PFA at 4°C and mounted between microscope slides and coverslips using Mowiol to image the correct localization of virus-induced expression of hChR2-mCherry with an AxioImager Z1 apotome and AxioVision software (Zeiss).

Spontaneous phasic and tonic GABA$_A$ currents recordings.

TRN and VPM cells receiving TRN neurons inputs were voltage-clamped at -60 mV, and GABA$_A$ receptor-mediated currents were pharmacologically isolated with 10 μM CNQX and 50 μM D-AP5. Miniature IPSCs (mIPSCs) were obtained by adding 1 μM tetrodotoxin (TTX, Tocris Bioscience) to block action potentials. mIPSCs frequency was analysed and compared between wild-type and mGlu7^{AAA} mice. Tonic GABA$_A$ currents were revealed as a shift in

baseline current following the addition of the $GABA_A$ antagonist gabazine (SR-95531, Sigma Aldrich) to the perfusing solution.

Time-Resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer (TR-FRET) assay.

The production of IP1 by HEK293 cells was tested using TR-FRET assays (see **Supplementary Methods** for details on cells transfection). TR-FRET assays were performed in presence of LiCl using anti-IP1 mouse Ab labelled with Erbium cryptate-conjugate (Eb, donor) and d2-conjugated IP1 (d2, acceptor) (Cisbio Bioassays). After 30 min incubation at 37°C with stimulation buffer alone (« Base ») or supplemented with a group III mGluRs agonist (L-AP4, 600 μM) or antagonist (CPPG, 100 μM, Tocris Bioscience) or the mGlu7-specific NAM ADX71743 (10 μM), acceptors and donors were added and cells incubated for 1 h at room temperature. The anti-IP1 antibody competes with native IP1 produced by cells and IP1 coupled to the dye d2. The fluorescence of Eb and d2 were measured respectively at 620 and 665 nm (after 50 μs delay) upon 337 nm excitation using a RUBYstar. The resulting signal is inversely proportional to the concentration of IP1 in samples, determined by using a standard curve construction [444].

Data analysis.

Whole-cell recordings were analysed using Clampfit 10.2 software (Molecular Device). Response amplitudes, short-term plasticity ratios, mIPSCs properties and tonic current amplitudes between WT and $mGlu7^{AAA}$ mice were compared using the Mann-Whitney test (significance set at $p<0.05$). Normalized IP1 concentrations obtained from TR-FRET experiments were compared using an unpaired *t*-student test (significance set at $p<0.05$). All averaged data are presented as mean ± S.E.M. EEG signals were analysed using Matlab 2013b software (Matworks inc.). Short time Fourier transform analysis was applied to the EEG data in order to obtain the energy of the signal as a function of frequency and time. We extracted a qualitative measure for each of the EEG frequency bands i ($i = \delta, \theta, \alpha, \beta, \gamma$). This measurement is defined as :

$$I^i(t) = \int_{f^i_{\min}}^{f^i_{\max}} I(f,t)df i = \delta, \theta, \alpha, \beta, \gamma$$

where $(f^i_{\max}, f^i_{\min})$ are the frequency limits for the band i, and $I(f,t)$ is the power spectrum as a function of frequency f and time t.

Acknowledgements

We thank the IGF/IGH RAM animal facility, N. Marchi and the IPAM platform for help with the EEG recording and analyses, the ARPEGE platform at IGF for advice on TR-FRET experiments, K. Deisseroth for the ChR2-mCherry construct, R. Lambert, H. Adesnik, M. Bagnall, L. Ceolin, S. Dadak for useful discussion, F. De Bock for technical support. V.T. was supported by grants from the French MRT and the Fondation pour la Recherche Médicale (FDT20130928376).

Supplementary Methods

Minimal evoked monosynaptic responses : single and 5x10 Hz stimulation.

For electrical and optogenetical stimulation experiments, single-stimulation and train-stimuli were applied on slices to activate small groups of neurons within TC loop regions, and we then recorded evoked responses in neurons receiving the input. Immediately after obtaining a whole cell recording, a few test stimuli were delivered to check the synaptic responsiveness of the neuron. Once monosynaptic response was clearly seen, evoked excitatory (eEPSCs) or inhibitory post-synaptic currents (eIPSCs) respectively were isolated by switching the perfusion solution from normal ACSF to one containing drugs (isolation of AMPA currents with ionotropic GABA and NMDA receptor blockers, 10 μM bicuculline and 50 μM D-AP5 ; isolation of GABA currents with ionotropic glutamate receptor blockers, 10 μM CNQX and 50 μM D-AP5 ; Tocris Bioscience). After 7 min drugs perfusion, test stimuli of increasing intensity were applied to determine the minimal excitability threshold evoking monosynaptic post-synaptic currents. Averages of 10-20 trials were used to measure the amplitudes of ePSCs, from baseline to peak.

We also tested the response adaptation by applying five pulses (0.1-1 mA, 100 μs duration) at 10 Hz, close to natural whisker-input frequency into the thalamus during exploratory whisking [253]. Averaged 10 trials of 10 s inter-trials were used to measure the five peak amplitudes. Short-term plasticity depends on a presynaptic modulation of neurotransmitter release, which is reflected post-synaptically by an increase (synaptic facilitation) or decrease (synaptic depression) of ePSCs along the stimulation train. Adaptation ratios were calculated as the percentage of the response amplitude to pulse 2 to 5 divided by the response amplitude to the pulse 1. In experiments in which we added supplementary drugs in the perfusing solution, we repeated single-stimulation and train-stimuli protocols after 7 min.

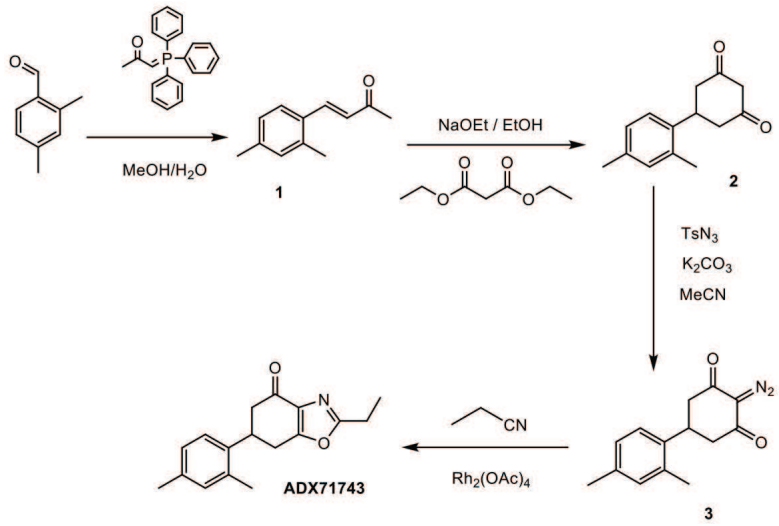
HEK293 transfection.

As HEK293 do not endogenously express the Gi/o protein mediating the mGlu7 receptor intracellular signalling, we used the chimeric Gq/io (GqTOP) protein which is able to link all RCPGs. Stimulation of mGlu7a/GqTOP pathway activates phospholipase C (PLC) [379], which hydrolyzes phosphatidylinositol bisphosphate (PIP2) to form two second messengers, inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) and diacylglycerol (DAG). IP3 is very rapidly hydrolyzed to IP2 then to IP1, and finally to inositol by a series of enzymatic reactions [39] blocked by lithium chloride (LiCl) [444]. HEK293 cells were transfected by electroporation (250 V-500 μF for 5.106 cells) with plasmids expressing the GqTOP protein and the glutamate transporter EAAC1, associated with vehicle plasmids (control, MOCK) or mGlu7 receptor-expressing plasmid [379]. Cells were plated at 150,000 per well (each condition in triplicate) in 96-well sterile, black microplates in DMEM supplemented with 10% FCS. After 24 h, DMEM medium was replaced by Glutamax^{TM} (GIBCO) 2 h before performing TR-FRET experiments. Notice that the expression of EAAC1 as well as GlutamaxTM allowed to obtain a minimal glutamate extracellular concentration, to avoid glutamate-mediated activation of the mGlu7 receptor.

ADX71743 synthesis

ADX71743 was synthesized according to the following scheme (WO03/055868 : Galcera Contour M-O, Lavergne O, Brezak Pannetier M-C, Prevost G. "Benzothiazole-4,7-dione and benzooxazole-4,7-dione derivatives, their preparation, and their use as inhibitors of cdc25 and CD45 phos-

phatases").



(E)-4-(2,4-dimethylphenyl) but-3-en-2-one (1) (El-Batta A, Jiang C, Zhao W, Anness R, Cooksy AL, Bergdahl M. "Wittig reactions in water media employing stabilized ylides with aldehydes. Synthesis of α,β-unsaturated esters from mixing aldehydes, α-bromoesters, and Ph3P in aqueous NaHCO3". Journal of Organic Chemistry (2007), 72(14), 5244-5259).
To a solution of 2.4 dimethylbenzaldehyde (500 mg, 3.73mmol, 1eq) in methanol/water 1 :1 (8 ml) was added 1-triphenyl-phosphoranylidene-2-propanone (1.2 g, 3.73 mmol, 1 eq) and the mixture was refluxed for 2h. After cooling, the solvent was removed under reduced pressure. The residue was extracted with dichloromethane (3*50 ml). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude was chromatographed on a silicagel column with cyclohexane/ ethyl acetate (85 :15) to afford **1** as a slightly yellow oil (613.6 mg, 3.53 mmol, 94.5 %).

TLC : Rf=0.47 (cyclohexane/ethyl acetate 8 :2, UV) ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) : δ 2.21 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 6.50 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.90 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 16.2 Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) : δ 19.2, 20.9, 27.2, 126.0, 126.6, 126.9, 130.1, 131.3, 137.4, 140.1, 140.2, 197.6.

MS (ESI) : m/z 175.2 $[M+H]^+$

5-(2,4-dimethylphenyl)cyclohexane-1,3-dione (2) (Courtney SM, Whittaker M, Mather OC, Yarnold CJ, Barker OR, Montalbetti CAGN, Hesterkamp T, Gardiner MD. "Preparation of 2-amino-7,8-dihydro-6H-quinazolin-5-one oximes having HSP90 inhibitory activity". PCT Int. Appl. (2008), WO 2008142720 A2 20081127).
To a solution of **1** (4.36 g, 25 mmol, 1 eq) in dry ethanol (20 ml) was added NaOEt (21% in ethanol) (19.4 ml, 0.127 mol, 5 eq) and diethylmalonate (3.9 ml, 25 mmol, 1 eq) under stirring. The mixture was stirred at refluxed for 1h30. The reaction mixture was cooled to ambient temperature. An aqueous solution of sodium hydroxide (2 M, 20 ml) was added to the reaction mixture, which was heated at 80°C for 3h. Ethanol in excess was removed by evaporation. The mixture was acidified with conc.HCl (20 ml) and the reaction mixture was

refluxed for 3h30 and left to cool to ambient temperature. The compound was extracted with ether (3*200 ml). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude was chromatographed on a silicagel column with dichloromethane/ethyl acetate (6 :4) to afford a pale yellow oil (**2**) (4.1 g, 19 mmol, 75.6 %).

TLC : Rf = 0,46 (dichloromethane/ethyl acetate 85 :15, UV) ^{1}H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) : δ 2.29 (s, 6H), 2.56-2.63 (m, 1H), 2.75-2.83 (m, 3H), 3.34-3.45 (m, 1H), 3.50-3.57 (m, 1H), 4.09-4.30 (m, 1H), 7.00-7.03 (m, 3H).
^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) : δ 19.5, 21.2, 37.2, 43.0, 103.4, 126.4, 127.9, 132.2, 136.3, 136.7, 140.6, 198.0.

MS (ESI) : m/z 215.2 $[M\text{-}H]^-$

2-diazo-5-(2,4-dimethylphenyl)cyclohexane-1,3-dione (3) (Presset M, Mailhol D, Coquerel Y, Rodriguez J. "Diazo-Transfer Reactions to 1,3-Dicarbonyl Compounds with Tosyl Azide". Synthesis 2011(16) : 2549-2552).
To a solution of **2** (100 mg, 0.46 mmol, 1 eq) in acetonitrile (10 ml) was added a solution of p-toluenesulfonylazide (13 % in toluene) (785 μl, 0.46 mmol, 1 eq) and K_2CO_3 (76 mg, 0.55 mmol, 1.2 eq). The mixture was protected from light and stirred overnight at room temperature. The mixture was then concentrated and the compound was extracted with dichloromethane (3*50 ml). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under vacuum. The crude was chromatographed on a silicagel column with dichloromethane/ ethyl acetate (9 :1) to afford a white solid (**3**) (78.2 mg, 0.32 mmol, 70.3 %).

TLC : Rf = 0,76 (dichloromethane/ethyl acetate 8 :2, UV and ninhydrin).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) : δ 2.27 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.63-2.74 (m, 4H), 3.53-3.58 (m, 1H), 7.00-7.04 (m, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) : δ 19.1, 20.8, 32.0, 43.7, 84.3, 124.7, 127.3, 131.8, 135.1, 136.4, 136.7, 189.5.

MS (ESI) : m/z 243.11235 $[M+H]^+$

6-(2,4-dimethylphenyl)-2-ethyl-6,7-dihydrobenzo[d]oxazol-4(5H)-one (ADX71743) (Kallstrom K, Hedberg C, Brandt P, Bayer A, Andersson Pher G "Rationally designed ligands for asymmetric iridium-catalyzed hydrogenation of olefins". Journal of the American Chemical Society (2004), 126(44), 14308-9).
To compound **3** (2.02 g, 8.35 mmol, 1 eq) was added propionitrile (2.3 g, 41.7 mmol, 5 eq) and rhodium (II)-acetate dimer (6.88 mg, 16.7 μmol, 0.002 eq). The mixture was heated at 60°C for 1 h, cooled to room temperature and the crude was chromatographed on a silicagel column with dichloromethane/ ethyl acetate (98 :2) to afford a pale yellow solid (**ADX71743**) (994 mg, 3.70 mmol, 44.2 %). TLC : Rf = 0,23 (dichloromethane/ethyl acetate : 9 :1, UV).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) : δ 1.41 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.72 (dd, J = 16.4 and 3.9 Hz, 1H), 2.84 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 2.85 (qu, J = 7.6 Hz, 2H), 3.10-3.13 (m, 2H), 3.83 (m, 1H), 7.06 (s, 1H), 7.07 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 7.8 Hz, 1H).

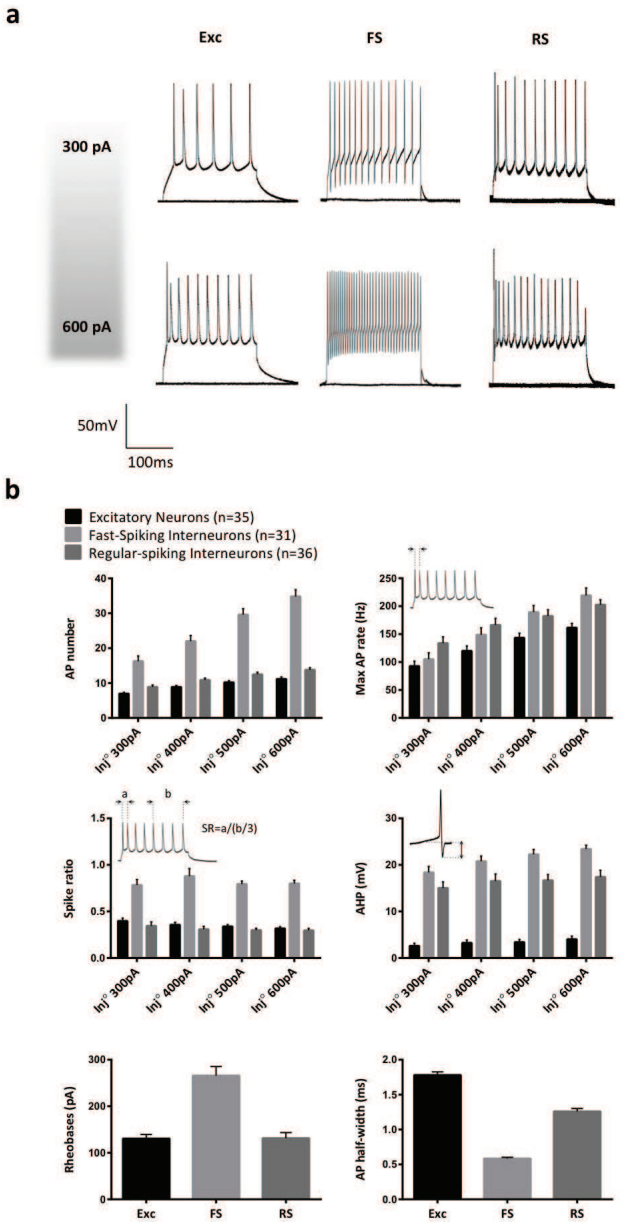
^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) : δ 11.1, 19.4, 21.0, 21.9, 29.5, 36.9, 44.9, 125.5, 127.4, 132.0, 134.3, 135.3, 137.0, 137.1, 163.5, 166.6, 190.5.

HRMS calculated for $[C_17H_{20}O_2N]^+$: 270.14940
HRMS found for $[C_17H_{20}O_2N]^+$: 270.14862

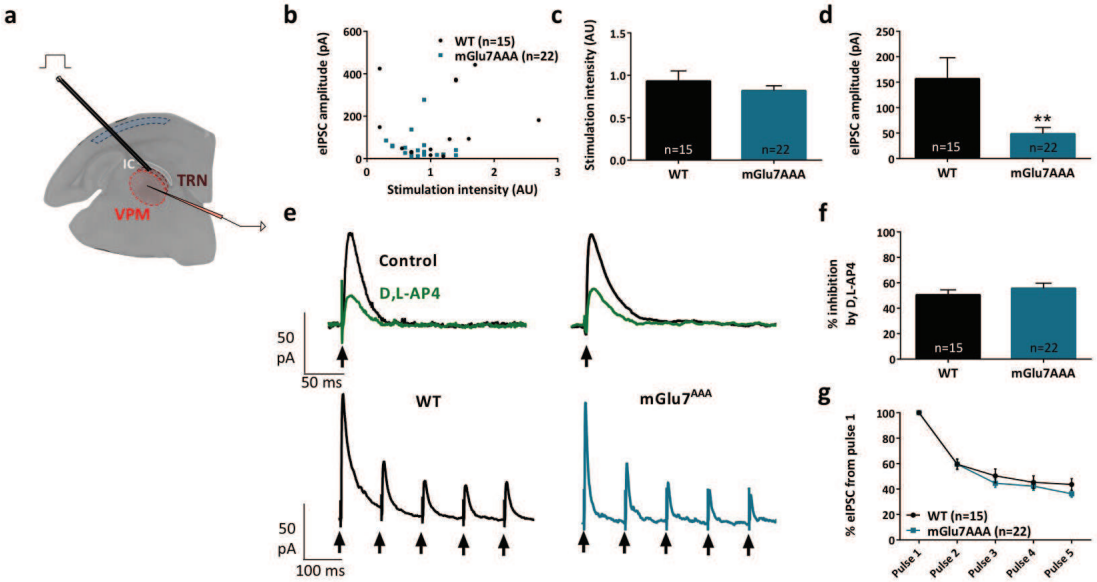
Elementary analysis calculated, % : C 75.81 ; H 7.11 ; N 5.20.
Elementary analysis found, % : C 75.18 ; H 6.95 ; N 4.36.

HPLC : macherey nagel (125 mm x 4.0 mm, 5 μm). Flowrate : 0.7 ml/min et $\lambda = 254$ nm solvant A (water / methanol / HCOOH : 900 : 100 : 1) and solvant B (water / methanol / HCOOH 200 : 800 : 1) TR = 19.6 min.

Supplementary Figures



Supplementary Figure 1. Electrophysiological properties of L4 neurons : classification in three classes. (a) Representative voltage traces from cortical layer 4 excitatory neurons (i.e pyramidal and spiny stellate cells, left), Fast-Spiking (middle) and Regular-Spiking (right) GABAergic interneurons responding to 300 pA (top) and 600 pA (bottom) injection. Their different firing patterns reflect intrinsic properties proper to each neuron type, and are identical in WT and mGlu7^{AAA} mice (data not shown). (b) Histograms recapitulating the parameters used to discriminate between the neuron subtypes. Data from WT and mGlu7^{AAA} mice are pooled, and each graph show neuron firing properties to 300, 400, 500 and 600 pA injection. Fast-Spiking interneurons firing is very different from excitatory and Regular-Spiking neurons : they display high-frequency action potentials (AP) with elevated after-hyperpolarisation potential (AHP) and low AP half-width. The spike ratio, which reflects the difference in inter-event interval between the two first and the four last AP, is high, illustrating that Fast-Spiking interneurons AP are non-adaptative. Their rheobase, which corresponds to the lowest current needed to induce at least one AP, is high, reflecting the fact that Fast-Spiking interneurons respond to elevated current stimuli only. On the other hand, Regular-Spiking interneurons display higher AP frequency and AHP than excitatory neurons, but lower AP half-width. Both excitatory and Regular-Spiking neurons show a low rheobase and a strong AP adaptation. Error bars indicate SEM.



Supplementary Figure 2. Absence of mGlu7-dependent inhibition at TRN to VPM synapses.

(a) Experimental configuration, including positions of recording electrode into the VPM and electrical stimulus on TRN. (b) Amplitude of GABA IPSCs plotted vs. stimulation intensity for each neuron in both genotypes (WT and mGlu7^{AAA} mice). (c) Threshold stimulation intensities showing no difference between the genotypes. The lower IPSCs amplitude might reflect presynaptic fatigue in mGlu7^{AAA} mice due to the high frequency of spontaneous GABA release from these synapses (cf. **Fig.5**). (e) Representative GABA current traces from VPM neurons responding to TRN single (top) or 5x10 Hz (bottom) stimulation of WT (left) and mGlu7^{AAA} (right) mice. Electrical stimulations are indicated by black arrows. (f,g) D,L-AP4-induced IGABA inhibition and short-term depression ratios are similar in both genotypes. ** P<0.01, Mann-and-Withney test. Error bars indicate SEM.

II.3.3 Discussion de l'article

Dans cette étude, nous avons montré que le récepteur mGlu7a inhibe non-seulement la libération de glutamate, mais aussi de GABA dans différents relais de la boucle thalamo-corticale. De plus, le récepteur mGlu7a participe également à l'induction de la plasticité à court terme, en favorisant la dépression synaptique.

Le récepteur mGlu7a semble être un modulateur essentiel de l'excitabilité des neurones réticulaires, d'une part en diminuant la force des entrées en provenance du VPM et d'autre part en freinant la transmission intra-NRT. Nous avons également trouvé que les inhibitions phasique et tonique étaient augmentées dans le VPM et le NRT des souris mGlu7^{AAA}, reflétant une hyperactivité spontanée des neurones réticulaires. Le récepteur mGlu7a semble donc nécessaire pour réguler négativement l'activité spontanée de ces neurones et par conséquent le tonus inhibiteur au sein du VPM. Ce résultat est en accord avec plusieurs études montrant que les mGluRs du groupe III inhibent les courants toniques GABAergiques au niveau du thalamus [160] et avec de précédents travaux mettant en évidence l'impact essentiel des courants toniques inhibiteurs dans le contrôle de l'excitabilité de différentes structures du SNC [192]. Le contrôle du récepteur mGlu7a sur les courants GABA$_A$ toniques devrait donc fortement affecter l'excitabilité thalamique. Ainsi, il apparait que les mGluRs du groupe III et le récepteur mGlu7 en particulier sont de cruciaux modulateurs de l'état d'excitabilité global du thalamus et ce en contrôlant à la fois les réponses phasiques et les réponses toniques au sein du réseau.

Chez la souris mutante mGlu7^{AAA}, la suractivation des neurones du NRT par les afférences du VPM combinée à l'hyperactivité spontanée des neurones réticulaires pourrait induire la sur-inhibition des neurones du VPM et des neurones adjacents du NRT. Etant donné que ces neurones thalamiques expriment les canaux calciques de type T, cette hyperpolarisation serait susceptible d'affecter leur mode de décharge : l'ouverture de ces canaux lorsque leur potentiel de membrane atteint -70 mV génère des bouffées de potentiels d'action calciques de forte amplitude ("bursts") typiquement observés lors des crises d'absence ou des fuseaux de sommeil [32, 118, 221, 456]. De façon intéressante, l'augmentation du tonus inhibiteur médié par les neurones réticulaires a été observée chez tous les autres modèles d'épilepsie absence [110] et cela est également confirmé chez les souris KI mGlu7^{AAA}.

Remarquez que l'inhibition intra-NRT est capable de désynchroniser l'activité des neurones réticulaires [32, 449]. Chez les jeunes souris KI mGlu7^{AAA}, l'inhibition intra-NRT est augmentée. Cet effet devrait donc être protecteur contre l'apparition des crises d'absence, en limitant les activités synchrones au sein du NRT. Cependant, les connexions formées par les neurones réticulaires adjacents sont connues pour disparaitre progressivement lors de la maturation cérébrale chez la souris [393]. Ainsi, cet effet protecteur serait perdu chez les souris mGlu7^{AAA} adultes et pourrait expliquer la différence d'âge d'apparition des crises chez ce modèle animal par rapport à l'homme chez qui l'épilepsie absence est une maladie de l'enfance.

Nos résultats montrent également que l'inactivation du récepteur mGlu7a dans les afférences thalamo-corticales au niveau des interneurones Fast-Spiking de la couche corticale IV augmente la force de ces entrées. Les interneurones Fast-Spiking sont connus pour médier de puissantes réponses périsomatiques et sont particulièrement impliqués dans l'inhibition en aval des entrées en provenance du VPM au sein de la boucle thalamo-corticale [114, 398]. Le renforcement des afférences thalamo-corticales sur les interneurones FS est susceptible d'induire leur suractivation et par conséquent d'augmenter l'inhibition et la synchronisation de l'activité corticale [472, 473]. L'ensemble de ces données souligne le fait que la fonction physiologique du récepteur mGlu7a est particulièrement importante pour le contrôle des entrées au niveau des neurones GABAergiques et de leur état d'excitabilité.

Les réponses postsynaptiques enregistrées dans certaines synapses présentaient une amplitude basale significativement plus faible chez la souris mGlu7^{AAA}. Ces mêmes synapses présentaient des courants AMPA ou GABA élevés (>50 pA) chez la souris sauvage, alors qu'aucune différence n'a été observée dans les synapses intra-NRT présentant des réponses de faibles amplitudes chez les deux génotypes. Cela dénote un certain lien entre la force de la réponse et l'impact du récepteur mGlu7 sur cette réponse. Ces différences pourraient refléter deux mécanismes différents, tous deux liés directement ou indirectement à l'augmentation de Ca^{2+} présynaptique chez la souris mutante. La perte d'inhibition des canaux calciques voltage-dépendants par la voie mGlu7a-PICK1 chez le KI mGlu7^{AAA} pourrait induire une libération de glutamate et de GABA soutenue par les terminaisons axonales des neurones du VPM et du NRT respectivement. L'accumulation anormale de Ca^{2+} dans la présynapse augmenterait non seulement la transmission évoquée par l'arrivée d'un ou plusieurs potentiels d'action (en renforçant la facilitation et/ou en diminuant la dépression synaptique, comme observé dans les synapses mGlu7^{AAA}), mais aussi les libérations spontanées de neurotransmetteurs par les présynapses. Nous avons confirmé cette hyperactivité spontanée des neurones du NRT. Cependant, étant donné que le NRT et la couche IV corticale reçoivent d'autres afférences glutamatergiques en plus de celles du VPM, cela n'a pas pu être vérifié pour les neurones du VPM. Le fait d'augmenter la libération synaptique nécessite un renouvellement en neurotransmetteur efficace et rapide au niveau présynaptique. Si les machineries permettant ce renouvellement sont dépassées, cela pourrait engendrer une diminution des stocks en neurotransmetteurs disponibles et une fatigue synaptique reflétée par une diminution d'amplitude des réponses. De plus, les récepteurs postsynaptiques pourraient être internalisés suite à la libération soutenue de neurotransmetteur. Dans les deux cas, les synapses les plus actives seraient les plus affectées, comme nous l'avons observé dans cette étude.

Les récepteurs NMDA assurent avec les récepteurs AMPA la réponse postsynaptique dans les synapses glutamatergiques thalamiques. Dans nos conditions d'enregistrement, nous bloquions les canaux NMDA avec l'antagoniste D-AP5. Si l'on compare la proportion des courants AMPA par rapport aux courants totaux (obtenus en ACSF seul), cela donne une indication sur l'implication respective des récepteurs AMPA et NMDA dans l'élaboration de la réponse. Ces ratios étaient identiques chez les souris WT et mGlu7^{AAA} (Fig.II.7), suggérant que la proportion de récepteurs AMPA et NMDA postsynaptiques fonctionnels est identique chez les deux génotypes. Ainsi, bien que les amplitudes des courants AMPA soient différentes chez les souris WT et mGlu7^{AAA}, cela ne semble pas provenir d'un déséquilibre entre les courants AMPA et NMDA postsynaptiques.

Nous avons également montré que la transmission et la plasticité basale synaptiques, en absence d'agoniste exogène, étaient modifiées chez la souris mGlu7^{AAA}. Cela suggère que la modulation médiée par le récepteur mGlu7 ne passe pas que par l'activation dépendante de la liaison de l'agoniste au récepteur. Plusieurs récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) présentent une activité constitutive, agoniste-indépendante, liée à leurs propriétés intrinsèques ou résultant de mutations pathologiques [53, 424]. Parmi les mGluRs, seul un petit nombre d'exemples concernant les récepteurs mGlu1 et mGlu5 ont été rapportés [9, 399]. Une inhibition tonique des canaux Ca^{2+} de type P/Q médiée par le récepteur mGlu7 a été montrée dans des cellules granulaires cérébelleuses en culture et est antagonisée par la liaison de MacMARCKS, un substrat de la protéine kinase C, au niveau de l'extrémité C-terminale du récepteur [40]. Nos résultats avec l'ADX71743 démontrent que le récepteur mGlu7 présente une activité constitutive qui dépend de son couplage avec PICK1 au niveau de son domaine PDZ-

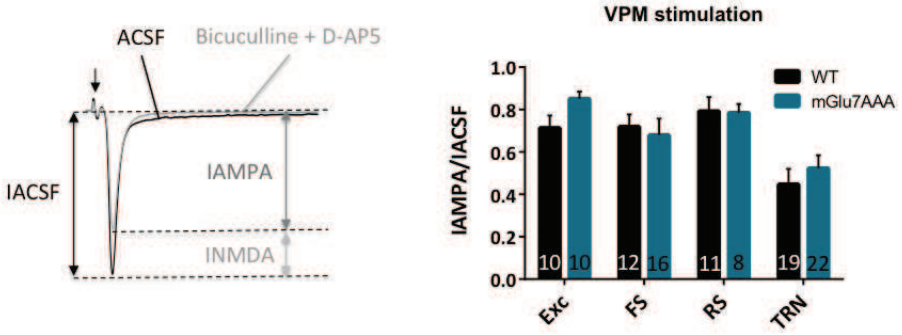


FIGURE II.7 – **Proportion des courants AMPA et NMDA impliqués dans les réponses postsynaptiques thalamiques.**

A gauche, illustration de l'implication des récepteurs AMPA et NMDA dans la réponse postsynaptique. A droite, ratios des courants AMPA par rapport aux courants totaux obtenus dans les afférences du VPM dans la couche corticale IV (exc : neurones excitateurs ; FS : interneurones Fast-Spiking ; RS : interneurones Regular-Spiking) et dans le NRT chez les souris WT et KI mGlu7^{AAA}. La participation des récepteurs AMPA et NMDA dans la réponse postsynaptique totale semble inchangée chez les deux génotypes. Les barres d'erreur indiquent la SEM.

ligand et est décelée dans les synapses glutamatergiques ainsi que GABAergiques. Etant donné la très faible affinité du récepteur mGlu7 pour le glutamate, il est probable que, en conditions physiologiques, ce récepteur agisse principalement via son activité constitutive plutôt que de façon agoniste-dépendante, notamment dans les synapses GABAergiques où la concentration en glutamate devrait être largement inférieure au millimolaire requis pour activer le récepteur mGlu7.

Ces données complètent le rôle de *"filtre passe-bas"* classiquement attribué au récepteur mGlu7 [379]. En effet, le récepteur mGlu7 induirait également une inhibition constitutive des synapses glutamatergiques et GABAergiques du VPM et du NRT respectivement, indépendamment de l'activité synaptique. Cette inhibition tonique sculpterait donc constamment et spécifiquement les réponses excitatrices et inhibitrices, soulignant le rôle critique du récepteur mGlu7 au sein du thalamus. Cette activité constitutive pourrait elle-même être régulée par des signaux intracellulaires qui restent à découvrir.

L'administration *in vivo* de l'ADX71743 montre que l'activité basale du récepteur mGlu7 est déterminante pour l'établissement et le maintien des activités oscillatoires au sein de la boucle thalamo-corticale, car son blocage induit une modification des rythmes EEG associée à un état léthargique de l'animal. La frontière entre cet état léthargique et l'épilepsie absence semble très subtile, car l'EEG révélait des DPO typiques des absences chez certaines souris. L'effet du NAM était perdu chez les souris mGlu7^{AAA} suggérant que la signalisation dépendante du domaine PDZ-ligand est la principale voie contrôlant la neurotransmission. Cela est en accord avec de précédentes observations montrant que l'inhibition des canaux calciques par le récepteur mGlu7 a plus d'impact sur la concentration en Ca^{2+} présynaptique que l'inhibition de l'adénylate cyclase [326]. De façon alternative, cela pourrait aussi révéler un effet

d'occlusion entre la mutation du site liant les motifs PDZ en AAA et la liaison de l'ADX71743. Ainsi, ces résultats suggèrent que la voie mGlu7a-PICK1 module de façon tonique, agoniste-indépendante, la libération de glutamate et de GABA par les synapses thalamiques.

De façon intéressante, l'activation *in vitro* des mGluRs du groupe III par le L-AP4 diminue à la fois la durée des oscillations en fuseaux et épileptiques chez le rat [261]. Les auteurs ont démontré que le récepteur mGlu7 est particulièrement important pour la suppression des fuseaux de sommeil. Chez la souris, l'ADX71743 induit des oscillations thalamo-corticales de 6-15 Hz représentatives des fuseaux de sommeil et des crises d'absence et ces évènements EEG sont associés à un arrêt comportemental et un état somnolent de l'animal. Le récepteur mGlu7a semble donc être un important modulateur des rythmes thalamo-corticaux liés à l'état de conscience.

Si l'on considère l'ensemble de ces résultats, il apparait que le récepteur mGlu7a module de façon tonique (et agoniste-dépendante dans les synapses glutamatergiques) la transmission et la plasticité à court terme via l'inhibition des canaux calciques. De façon intéressante, le récepteur mGlu7a est capable d'augmenter la dépression synaptique, mais aussi de freiner la facilitation dans les synapses présentant cette plasticité. Pelkey et al. ont montré que dans l'hippocampe, l'activation de la voie mGlu7a-PICK1 par le L-AP4 associée à la stimulation à haute fréquence des fibres moussues induit une dépression à long terme (LTD) dans ces synapses [376]. Par contre, lorsque le récepteur est internalisé dans ces mêmes synapses, la stimulation à haute fréquence induit une potentialisation à long terme (LTP), ce qui dénote un contrôle bidirectionnel du récepteur mGlu7a sur la plasticité synaptique à long terme. Bien que les mécanismes engendrant la plasticité synaptique à court et à long terme soient différents, le récepteur mGlu7a semble capable de réguler les deux types de plasticités, soulignant le rôle crucial du récepteur pour le fonctionnement synaptique et plus généralement pour les processus émotionnels et cognitifs engendrés par ces phénomènes de plasticité [352].

De plus, étant donné l'importance du Ca^{2+} pour la formation et le maintien des contacts synaptiques [287], on ne peut exclure que les mutations du récepteur mGlu7 affectent également le développement des réseaux neuronaux. Chez l'homme, des polymorphismes du gène *GRM7* ont récemment été associés à l'autisme [518] et à la schizophrénie [356], deux pathologies neurodéveloppementales, ainsi qu'à des troubles du déficit de l'attention avec hyperactivité [372] et des déficits auditifs âge-dépendant [176], mais pas (encore) aux épilepsies [195]. Les diverses anomalies phénotypiques chez l'homme et les modèles animaux mutants pour mGlu7 reflètent la puissance des contrôles synaptiques par ce récepteur.

Chapitre III

Discussion et Perspectives

Contents

III.1 Souris Knock-in mGlu7^{AAA} et étude de la voie mGlu7a-PICK1 . . . . **130**
III.2 mGlu7, un récepteur qui pèse lourd sur la balance excitation/inhibition **130**
III.3 Activité constitutive du récepteur mGlu7a **131**
III.4 Fonctions du récepteur mGlu7a dans le circuit thalamo-cortical . . . **133**
III.4.1 Le récepteur mGlu7a, chef d'orchestre des rythmes thalamiques 133
III.4.2 Contrôles agoniste-dépendant et -indépendant des neurones thalamiques : modulation de l'activité spontanée, de la transmission et de la plasticité synaptiques 133
III.4.3 Impact du récepteur mGlu7a sur le fonctionnement de la boucle thalamo-corticale 135
III.5 Vers une réévaluation du rôle du récepteur mGlu7 dans le SNC . . . **137**
III.6 Le récepteur mGlu7, une future cible thérapeutique ? **138**

III.1 Utilisation de la souris Knock-In mGlu7^{AAA} pour étudier les fonctions dépendant de la voie mGlu7a-PICK1

La compréhension des fonctions physiologiques des mGluRs constitue un domaine de recherche important. Cela s'applique notamment au récepteur mGlu7. Sa localisation présynaptique dans la zone active [249] et son implication dans les crises épilepiques [41] (voir partie I.3) supportent l'idée d'un rôle crucial de mGlu7 dans le fonctionnement des réseaux neuronaux. Cependant, ses fonctions sont largement restées dans l'ombre à cause du manque d'outils pharmacologiques spécifiques [104]. Son étude est d'autant plus délicate que les mGluRs du groupe III sont souvent exprimés de façon concomitante dans les synapses. Nous avons donc profité d'un modèle génétique mutant pour mGlu7, la souris KI mGlu7^{AAA}, pour approfondir nos connaissances sur les fonctions spécifiquement supportées par ce récepteur.

Qu'est ce que les souris knock-in mGlu7^{AAA} nous apprennent ? Tout d'abord, ce modèle présente l'avantage d'inactiver sélectivement une voie de signalisation de mGlu7, la voie mGlu7-PICK1, sans pour autant modifier l'expression du récepteur. Cela permet d'éviter des compensation qui se mettent souvent en place chez les animaux dont un gène a été délété [497, 251, 302], qui pourraient avoir lieu chez les souris KO mGlu7$^{-/-}$ (voir partie introductive I.3.4). Ce modèle KI dévoile l'implication spécifique de cette voie dans le contrôle de la boucle thalamo-corticale, en induisant des crises spontanées et pures d'épilepsie absence lorsque mGlu7 et PICK1 sont découplés [41]. Ce phénotype est nettement différent de celui observé chez les souris KO mGlu7$^{-/-}$ (voir partie introductive I.3.5), appuyant la fonction spécialisée de la voie mGlu7-PICK1 dans cette circuiterie.

Ainsi, ce modèle murin offre pour la première fois l'opportunité d'étudier les fonctions physiologiques de la voie mGlu7-PICK1 dans un environnement natif, en s'affranchissant de l'absence de pharmacologie spécifique du récepteur. Etant donnée la complexité de la signalisation du récepteur mGlu7, un contrôle intéressant serait représenté par une souris où seule la voie de signalisation "classique" liée à la voie dépendante de la protéine Gi/o et de l'adénylate cyclase soit inactivée. Cette souris n'existe pas à ce jour.

Nous avons déterminé la localisation et les fonctions électrophysiologiques précises de la voie mGlu7-PICK1 en comparant les effets induits chez les souris WT et les KI mGlu7^{AAA}, puis corrélé ces résultats à des observations comportementales. Étant donné la faible affinité du récepteur mGlu7 pour le glutamate, la tendance actuelle est d'attribuer un rôle de *"filtre passe-bas"* à mGlu7 [379]. Cependant, les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse étoffent ce concept.

III.2 mGlu7, un récepteur qui pèse lourd sur la balance excitation/inhibition

La balance excitation/inhibition dans le SNC est supportée respectivement par la transmission glutamatergique et GABAergique. Ces deux grands systèmes présentent des interactions et se contrôlent mutuellement. Ces interactions sont bien illustrées dans le cas de la boucle thalamo-corticale, où l'activité globale de cette circuiterie est le fruit de dialogues entre neurones glutamatergiques et interneurones GABAergiques, que ce soit au niveau thalamique entre le VPM et le NRT, ou au niveau cortical au sein des circuits rétroactifs et récurrents (voir partie I.5).

Plusieurs études ont démontré l'expression du récepteur mGlu7 dans les présynapses glutamatergiques [249], ainsi que dans certaines présynapses GABAergiques de l'hippocampe

[436, 451], l'hypothalamus [420] et du cortex somatosensoriel [124]. Notre étude démontre une nouvelle localisation du récepteur au niveau de présynapses GABAergiques, dans les neurones réticulaires thalamiques. Cela confirme la capacité du récepteur mGlu7 à moduler à la fois les systèmes glutamatergiques et GABAergiques dans différentes régions cérébrales. De par les nombreuses interactions entre ces deux systèmes, cette double modulation présente un avantage certain pour agir de façon équilibrée sur la balance excitation/inhibition, sans favoriser un système par rapport à l'autre. Ce double effet est d'autant plus important dans le thalamus, où l'activité neuronale résulte d'un "*circuit fermé*" entre des neurones glutamatergiques et GABAergiques. Chaque neurone est en effet contrôlé rétroactivement (positivement ou négativement) en réponse aux informations qu'il envoie, soulignant l'importance de pouvoir agir sur ces deux systèmes simultanément.

Les ions Ca^{2+} sont des acteurs moléculaires majeurs pour le fonctionnement neuronal [408, 23, 95], que ce soit dans le contrôle de la libération de neurotransmetteur que dans l'induction de la plasticité synaptique (voir partie I.1). L'inhibition des canaux Ca_v de type P/Q et N présynaptiques médiée par le récepteur mGlu7a a donc un impact déterminant pour la libération de neurotransmetteur. Cela est confirmé par les défauts de transmission et de plasticité synaptiques à l'origine des nombreux phénotypes observés chez les animaux mutants pour le récepteur mGlu7. Ces défauts peuvent induire des modifications à court et long termes sur la balance excitation/inhibition dans le circuit thalamo-cortical.

III.3 Mise en évidence d'un nouveau mécanisme d'activation du récepteur mGlu7a : l'activité constitutive

De façon intéressante, Caldwell et al. ont démontré un lien entre la concentration en Ca^{2+} intracellulaire et l'efficacité de l'activation du récepteur mGlu7 par le L-AP4 dans des ovocytes de Xenope [71]. Cela provient du fait que la calmoduline, une protéine sensible au Ca^{2+} liant l'extrémité C-terminale du récepteur, entrerait en compétition avec les sous-unités $G\beta\gamma$ [153]. L'augmentation de la concentration intracellulaire en Ca^{2+} induit la liaison de la calmoduline au récepteur et permet ainsi une meilleure activation de $G\beta\gamma$ et une inhibition efficace des canaux Ca_v. Les auteurs concluent que le récepteur mGlu7a est un détecteur de coïncidence des entrées présynaptiques de Ca^{2+} et de la libération de glutamate, ce qui lui attribue un rôle de filtre fréquence-dépendant (*"filtre passe-bas"*).

Une question se pose alors : comment le récepteur mGlu7 peut-il être activé dans des synapses GABAergiques et quel est son rôle ? La transmission et la plasticité synaptiques basales, en absence de l'agoniste D,L-AP4, sont modifiées chez la souris $mGlu7^{AAA}$ (voir III.4). Comment l'inactivation du récepteur mGlu7 pourrait aboutir à des différences si importantes, à la fois dans les neurones glutamatergiques et dans les neurones GABAergiques ? Ces défauts synaptiques pourraient avoir la même origine : une augmentation de la concentration en Ca^{2+} présynaptique dans les synapses chez la souris $mGlu7^{AAA}$. Plusieurs RCPG sont connus pour présenter une activité constitutive [53, 424]. Parmi les mGluRs, seul un petit nombre d'exemples concernant les récepteurs mGlu1 et mGlu5 ont été rapportés [9, 399]. Cette activité constitutive n'a jamais été démontrée pour le récepteur mGlu7. Un premier élément de réponse réside dans une étude réalisée par Bertaso et ses collègues en 2006, qui montre que MacMARCKS antagonise une inhibition tonique des canaux Ca_v de type P/Q dépendante du récepteur mGlu7a [40]. Cependant, seule la comparaison des effets médiés par un antagoniste orthostérique par rapport à ceux médiés par un modulateur allostérique négatif permet de conclure formellement à une activité constitutive (voir partie I.1.6). Dans le cadre de cette

thèse, nous avons eu la chance de pouvoir tester un nouveau modulateur allostérique négatif (NAM) mis au point par Addex Therapeutics et synthétisé par le groupe de Françine Acher (Université Paris Descartes), l'ADX71743 [235], très spécifique des récepteurs mGlu7 (voir I.3.4). Ce NAM nous a permis de mettre en évidence une activité constitutive du récepteur dans un système hétérologue. Nos résultats montrent également que l'activité constitutive du récepteur mGlu7 dépend de son couplage avec PICK1 au niveau de son domaine PDZ-ligand. L'effet du NAM étant totalement aboli dans les tranches mGlu7^{AAA}, il semblerait que la signalisation dépendante du domaine PDZ-ligand est la principale voie médiée par le récepteur mGlu7. Cela est en accord avec de précédentes observations montrant que le couplage du récepteur mGlu7 à la voie AMPc ne participe que faiblement à son activité modulatrice [326]. Dans nos expériences de TR-FRET, le CPPG est un antagoniste des mGluRs du groupe III. Il pourrait donc induire une augmentation de la libération de neurotransmetteur de façon non-spécifique du récepteur mGlu7a (via l'inhibition des récepteurs mGlu4 et/ou mGlu8 endogènes) dans les tranches thalamo-corticales. Il faudrait donc comparer l'effet du CPPG chez les souris WT et mGlu7^{AAA} afin de dévoiler une éventuelle activité endogène du récepteur, dépendante du glutamate libéré à la synapse.

Une étude de Turner et Salt a montré que ni le MAP4 ni le LY341495, deux antagonistes orthostériques des mGluRs du groupe III, n'avaient d'effet sur l'amplitude des PPSE évoqués cortico-thalamiques, ce qui suggère l'absence d'activité glutamate-dépendante des mGluR du groupe III dans les tranches thalamo-corticales chez le rat [489]. Ces observations suggèrent que la modulation physiologique médiée par le récepteur mGlu7 ne passe pas obligatoirement par l'activation du récepteur par le glutamate. Nos données suggèrent que le récepteur pourrait présenter une activité constitutive (agoniste-indépendante) et que cette activité serait perdue chez la souris mGlu7^{AAA}. Ceci mènerait à une perte d'inhibition des canaux Ca_v et à une accumulation basale de Ca^{2+} dans les présynapses. De plus, chez la souris WT le NAM induit un effet similaire dans les synapses glutamatergiques et GABAergiques. Cela renforce l'idée que l'activation glutamate-dépendante du récepteur mGlu7 interviendrait peu dans les synapses glutamatergiques. De façon intéressante, l'injection *in vivo* du NAM chez des souris WT induit des activités EEG similaires à celles observées chez les souris mutantes KI mGlu7^{AAA}. Les défauts phénotypiques de ce modèle animal résulteraient donc principalement d'une perte de l'inhibition constitutive du récepteur plutôt que de son activité dépendante du glutamate libéré à la synapse. Il serait intéressant de corréler la concentration intracellulaire en Ca^{2+} et le niveau d'activité constitutive du récepteur mGlu7.

En résumé, ces données proposent une hypothèse complémentaire au simple rôle de *"filtre passe-bas"* sur l'activité excitatrice classiquement attribué au récepteur mGlu7 [379]. Elles mettent en évidence une modulation constitutive des réponses excitatrices et inhibitrices via la voie mGlu7-PICK1, du moins au sein de la boucle thalamo-corticale. Étant donné la très faible affinité du récepteur mGlu7 pour le glutamate, il est probable que, en conditions physiologiques, ce récepteur agisse principalement via son activité constitutive plutôt que de façon agoniste-dépendante, notamment dans les synapses GABAergiques où la concentration en glutamate devrait être relativement faible.

III.4 Fonctions du récepteur mGlu7a dans le circuit thalamo-cortical

III.4.1 Le récepteur mGlu7a, chef d'orchestre des rythmes thalamiques

Les rythmes thalamo-corticaux résultent d'une communication réciproque entre les neurones de relais glutamatergiques du VPM et les neurones réticulaires GABAergiques du NRT (voir partie I.5 et I.6). En conditions physiologiques, le thalamus peut générer des oscillations en fuseaux de 6 à 14 Hz, les fuseaux de sommeil ou *spindles*, observés principalement lors des phases précoces du sommeil [67]. Lorsque la circuiterie thalamo-corticale présente une activité anormale, cela peut induire des crises d'absence, caractérisées par des décharges en pointe-onde (DPO) dont les caractéristiques sont relativement similaires aux fuseaux de sommeil (voir partie I.6).

Le découplage du complexe mGlu7-PICK1 induit un dysfonctionnement du circuit thalamo-cortical et des crises d'absences spontanées chez la souris adulte [41]. Ces crises pourraient survenir suite à une dérégulation progressive du réseau (voir partie I.6.2, [32]). Nous avons mesuré la durée des oscillations thalamiques évoquées chez les jeunes souris KI mGlu7^{AAA} ne présentant pas encore de crises spontanées à l'aide d'un système multi-électrode, afin d'étudier l'état d'excitabilité du NRT et du VPM. Les activités évoquées dans les tranches thalamo-corticales se rapprochaient des fuseaux de sommeil. Les oscillations persistaient plus longtemps chez la souris mutante que chez la souris sauvage, suggérant une hyperexcitabilité thalamique. La capacité du thalamus à générer des oscillations potentiellement pathologiques est donc accrue chez la jeune souris KI mGlu7^{AAA}. L'inactivation du récepteur mGlu7 chez les souris mutantes pourrait affecter initialement le façonnage des fuseaux de sommeil, ce qui rendrait peu à peu le circuit thalamo-cortical apte à générer spontanément ce type d'activités rythmiques pendant l'état éveillé. Cette hypothèse est en accord avec le consensus actuel stipulant que les oscillations épileptiques sont provoquées suite à un détournement des processus à l'origine des fuseaux de sommeil [314, 32]. De façon plus générale, ces travaux soulignent clairement un rôle modulateur clé du récepteur mGlu7 dans l'établissement des activités rythmiques au sein des circuits thalamo-corticaux.

Pendant l'éveil, le mode de décharge tonique des neurones du VPM permet de relayer de façon fidèle et efficace les informations sensorielles au niveau cortical où elles sont traitées [431]. Au contraire, lors du sommeil ou lors de crises d'absence, la transition vers le mode de décharge en bouffées (burst) entraîne une oscillation à basse fréquence des neurones thalamiques [113, 145]. Ces oscillations sont distribuées et relayées au niveau cortical, jusqu'à ce que le réseau tout entier oscille de façon synchrone [109, 108]. Dans cet état, les neurones du VPM sont incapables de relayer l'information sensorielle au cortex, d'où la perte totale de sensorialité lors du sommeil. Ainsi, en contrôlant l'apparition des rythmes synchrones au sein du réseau thalamo-cortical, le récepteur mGlu7 contrôlerait *in fine* l'état de conscience de l'individu.

III.4.2 Contrôles agoniste-dépendant et -indépendant des neurones thalamiques : modulation de l'activité spontanée, de la transmission et de la plasticité synaptiques

Nous avons étudié les fonctions synaptiques du récepteur mGlu7 à différents niveaux du réseau thalamo-cortical afin de comprendre sa fonction physiologique dans ce circuit. Nous avons montré que la voie de signalisation du complexe mGlu7a-PICK1 inhibe les synapses glutamatergiques (VPM $\rightarrow$ NRT et VPM $\rightarrow$ L4 sur les interneurones Fast-Spiking), mais aussi

GABAergiques (intra-NRT) du réseau. Chez les souris mGlu7^{AAA}, plusieurs défauts électrophysiologiques étaient observés dans ces différentes synapses :

- une diminution de l'inhibition agoniste-dépendante de la libération de neurotransmetteur ;
- une diminution de l'amplitude basale (en absence d'agoniste D,L-AP4) des EPSC et IPSC dans les synapses présentant des réponses d'amplitudes élevées (>50 pA, dans les synapses VPM → NRT et VPM → interneurones Fast-Spiking), alors qu'aucune différence n'a été observée dans les synapses intra-NRT présentant des réponses de faibles amplitudes chez les deux génotypes. Cela dénote un certain lien entre la force de la réponse et l'impact du récepteur mGlu7 sur cette réponse ;
- une modification de la plasticité synaptique basale, en réduisant la dépression et/ou en renforçant la facilitation ;
- une augmentation de la libération spontanée (PA-indépendante) de neurotransmetteur par les neurones réticulaires, aboutissant à une sur-inhibition tonique et phasique des neurones du NRT et du VPM.

Il apparait que le récepteur mGlu7a, via sa voie de signalisation PICK1-PKC et l'inhibition des canaux Ca_v (P/Q et N), contrôle la boucle de façon puissante et permanente. Ses fonctions tendent à limiter l'excitabilité des synapses glutamatergiques du VPM et GABAergiques du NRT, en modulant aussi bien la transmission et la plasticité synaptiques au sein du thalamus que l'activité spontanée des neurones réticulaires.

Ces effets reflètent la perte de l'inhibition endogène (agoniste-dépendante) mais aussi constitutive (agoniste-indépendante) médiées par le récepteur mGlu7 chez la souris mutante. Ils pourraient être liées directement ou indirectement à une augmentation de la concentration en Ca^{2+} présynaptique ches ces souris. En effet, la perte d'inhibition des canaux calciques voltage-dépendants par la voie mGlu7-PICK1 chez la souris mGlu7^{AAA} accroit l'entrée de Ca^{2+} dans la présynapse. L'accumulation anormale de Ca^{2+} est susceptible d'augmenter non seulement la libération de neurotransmetteur induite par l'arrivée d'un ou plusieurs potentiels d'action (en renforçant la facilitation et/ou en diminuant la dépression synaptique, comme observé dans les synapses mGlu7^{AAA}), mais aussi la libération spontanée de neurotransmetteurs (comme observé dans les neurones du NRT en présence de TTX). Le fait d'augmenter la libération synaptique nécessite un renouvellement en neurotransmetteur très efficace au niveau présynaptique. Si les machineries permettant ce renouvellement sont dépassées, alors l'activation répétitive des synapses peut conduire à l'épuisement des stocks en neurotransmetteur disponible. Une seconde conséquence réside au niveau postsynaptique, où les récepteurs pourraient être internalisés suite à une libération soutenue de neurotransmetteur. Dans les deux cas, comme nous l'avons observé dans cette étude, les synapses qui présentent une forte libération de neurotransmetteur seraient les plus affectées.

Une étude comparant l'effet de différents agonistes et antagonistes des mGluRs du groupe III sur le taux de glutamate ambiant a montré que le récepteur mGlu7 inhibe la libération non-vésiculaire de glutamate dans le noyau accumbens [516]. Cet effet dépend des antiporteurs cystéine-glutamate (voir partie I.2.1) et suggère un rôle essentiel du récepteur mGlu7 dans le contrôle des niveaux ambiants de glutamate. On peut se demander ici si l'augmentation du tonus inhibiteur observé chez les souris mGlu7^{AAA} ne dépendrait pas partiellement d'un tel phénomène via les transporteurs du GABA. Le récepteur mGlu7 pourrait en effet inhiber à la fois la libération synaptique et extrasynaptique (non-vésiculaire) de GABA dans le thalamus.

De même, il pourrait affecter le tonus excitateur en inhibant la libération spontanée du glutamate par les neurones du VPM, au niveau synaptique et extrasynaptique. Cependant, étant donné que des afférences glutamatergiques non-spécifiques aux neurones du VPM innervent aussi les neurones du NRT et de la couche IV corticale, il semble difficile de vérifier cette hypothèse dans les tranches thalamo-corticales. Cet aspect mériterait d'être approfondi, par exemple sur des neurones thalamiques (sauvages ou mGlu7^{AAA}) en culture afin de comparer les courants miniatures et les taux ambiants de neurotransmetteurs.

Cette thèse est focalisée sur les synapses thalamiques, mais il sera intéressant d'approfondir le rôle du récepteur mGlu7 au niveau cortical. Les résultats obtenus en électrophysiologie ont été complétés avec des marquages immunohistochimiques confirmant la localisation du récepteur mGlu7a dans les synapses cortico-thalamiques. Il semble également exprimé dans différentes synapses corticales qu'il nous reste à determiner. Étant donné la complexité des microcircuits corticaux (voir I.5.4) et la colocalisation des fibres TC et CT, l'optogénétique semble être l'approche la plus appropriée. Elle permettrait de cibler spécifiquement les différents sous-types neuronaux et ainsi d'étudier les fonctions du récepteur dans les synapses LIV → LII/III, LII/III → LVI, ainsi que dans les synapses cortico-thalamiques formées par les neurones pyramidaux de la couche VI sur les neurones de relais et réticulaires.

III.4.3 Impact du récepteur mGlu7a sur le fonctionnement de la boucle thalamo-corticale

Nous venons de voir que le récepteur mGlu7 module l'état d'excitabilité global du thalamus, en contrôlant à la fois les réponses courtes, phasiques et les réponses prolongées, toniques, au sein du réseau. L'inactivation de la signalisation du complexe mGlu7a-PICK1 aboutit à deux anomalies fonctionnelles principales dans la boucle thalamo-corticale : d'une part, une augmentation des entrées en provenance du VPM sur les neurones réticulaires et sur les interneurones FS de la couche IV corticale et d'autre part, une hyperactivité des neurones réticulaires, aboutissant à une augmentation de la fréquence des mIPSC dans le VPM et le NRT, ainsi qu'à une augmentation des courants GABA$_A$ toniques dans le VPM. Comment ces effets sont-ils corrélés à l'apparition des crises d'absence chez les souris KI mGlu7^{AAA} ?

- La suractivation des neurones réticulaires par les neurones du VPM pourrait induire une hyperexcitabilité des neurones du NRT et ainsi accroitre le rétrocontrôle inhibiteur médié par la voie VPM → NRT → VPM. Cet effet indirect est amplifié par l'augmentation de l'activité spontanée des neurones réticulaires, aboutissant à une hyper-inhibition phasique (par le GABA synaptique) et tonique (par le GABA ambiant) des neurones thalamiques. Étant donné que les neurones thalamiques expriment les canaux calciques de type T, cette hyperpolarisation est susceptible d'affecter leur mode de décharge. L'ouverture de ces canaux lorsque le potentiel de membrane atteint -70 mV génère des potentiels d'action calciques de forte amplitude, les bursts, typiquement observés lors des crises d'absence ou des fuseaux de sommeil [32, 118, 221, 456]. De façon intéressante, l'augmentation du tonus inhibiteur médié par les neurones réticulaires a été observé chez tous les autres modèles d'épilepsie absence [110, 116], illustrant l'impact essentiel des courants toniques inhibiteurs dans le contrôle de l'excitabilité cérébrale [192]. Le contrôle exercé par le récepteur mGlu7 sur les courants GABA$_A$ toniques devrait donc fortement affecter l'excitabilité thalamique, en diminuant leur capacité à générer des bursts calciques.

- L'inhibition intra-NRT est connue pour désynchroniser l'activité des neurones réticulaires ([496, 222, 449], voir [32] pour revue). Chez les jeunes souris KI mGlu7^{AAA}, nos

résultats suggèrent que l'inhibition intra-NRT est augmentée. Cet effet devrait empêcher l'apparition des crises d'absence, en limitant les activité synchrones au sein du NRT. Cependant, les connexions formées par les neurones réticulaires adjacents disparaissent progressivement lors de la maturation cérébrale chez la souris [393]. Ainsi, cet effet protecteur serait perdu chez les souris mGlu7^{AAA} adultes. Ceci pourrait expliquer la différence d'âge d'apparition des crises chez ce modèle animal par rapport à l'homme, chez qui l'épilepsie absence est une maladie de l'enfance. Une étude approfondie de la coïncidence temporelle entre l'apparition des crises et la densité des connexions intra-NRT permettrait de tester cette hypothèse.

- Il existe trois grandes classes de neurones dans la couche IV corticale : les neurones excitateurs et deux classes d'interneurones GABAergiques, les Regular- et les Fast-Spiking. Ces derniers sont les principaux médiateurs de l'inhibition rétroactive aux entrées thalamo-corticales (voir I.5.4.4 ; [114, 33, 398]). Leurs entrées thalamo-corticales engendrent des réponses rapides et puissantes qu'ils transmettent efficacement aux neurones voisins au niveau périsomatique, sculptant ainsi les réponses corticales induites par l'activation des fibres TC. Nos résultats montrent que la voie VPM → interneurones Fast-Spiking est augmentée chez les souris mGlu7^{AAA}. Le renforcement de ces afférences est susceptible d'affecter l'inhibition et la synchronisation corticales médiées par ces interneurones [472, 473].

L'ensemble de ces données souligne le fait que la fonction physiologique du récepteur mGlu7 semble particulièrement importante pour le contrôle des entrées au niveau des neurones GABAergiques et de leur excitabilité.

Actuellement, nos travaux ne permettent pas de conclure avec certitude quant à l'origine des crises d'absence chez les souris mGlu7^{AAA}. Nous savons peu de chose sur l'influence corticale de mGlu7a, mais ce récepteur semble important pour limiter l'activation des interneurones FS et par conséquent limiter l'inhibition corticale. Au niveau thalamique, il est clair que son action influence fortement le mode de décharge des neurones de relais et réticulaires en limitant leur hyperpolarisation. Ces deux influences pourraient induire des activités oscillatoires au sein du réseau thalamo-cortical. Il serait intéressant de déterminer avec précision le site d'origine des oscillations pathologiques chez les souris KI mGlu7^{AAA}, mais les techniques actuelles ne le permettent pas. En effet les temps de latence des réponses au sein du circuit sont extrêmement courts et il est difficile de déterminer avec précision l'impact des entrées thalamiques sur les rythmes corticaux et vice-et-versa. De plus, ces oscillations résultent probablement de plusieurs dysfonctionnements qui, mis bout à bout, engendrent des anomalies plus globales au sein du réseau.

Nos enregistrements EEG suggèrent que l'activité du récepteur mGlu7a est déterminante pour l'établissement et le maintien des activités oscillatoires au sein de la boucle thalamo-corticale. Ils montrent que le blocage du récepteur mGlu7a *in vivo* induit des fuseaux de sommeil, associés à un état léthargique, endormi, de l'animal. La frontière entre cet état léthargique et l'épilepsie absence semble être très mince, car l'EEG a révélé des DPO typiques des absences chez certaines souris. Cela confirme le lien étroit qui existe entre ces deux types d'oscillations thalamo-corticales. Il serait intéressant d'étudier plus en détail la modulation des fuseaux de sommeil et plus généralement du sommeil par le récepteur mGlu7. Durant le sommeil NREM, les oscillations à ondes lentes (< 1 Hz) caractéristiques impliquent également une communication entre le VPM, le NRT et le cortex (voir I.6.2) [32, 457, 117] et sont donc susceptibles d'être affectées chez les souris mGlu7^{AAA}. Il est probable que le récepteur mGlu7 représente un modulateur clé dans l'établissement des activités rythmiques associées

aux différentes phases de sommeil et de l'état de conscience physio-pathologique qui en découle. Cet aspect sera étudié dans de futures investigations.

III.5 Vers une réévaluation du rôle du récepteur mGlu7 dans le SNC

La fonction modulatrice du récepteur mGlu7 au niveau synaptique dépendrait à la fois de son activité constitutive physiologique, à laquelle s'additionnerait une activité dépendante de fortes libérations synaptiques de glutamate. Comme nous l'avons vu, cette action impacte également la libération spontanée de neurotransmetteur, modulant ainsi fortement le tonus $GABA_A$ inhibiteur au sein du thalamus et donc son état d'excitabilité global. Les courants toniques $GABA_A$ sont observés dans toutes les structures cérébrales [34]. Les différentes manipulations génétiques et pharmacologiques affectant ce tonus inhibiteur induisent des phénotypes similaires à ceux observés chez les individus mutants pour le récepteur mGlu7 : des troubles de l'apprentissage et de la mémoire, des troubles cognitifs liée à une excitabilité hippocampique anormale, l'épilepsie, la schizophrénie, la dépression et les troubles bipolaires (voir [192] pour revue). Cela suggère que, au moins partiellement, les défauts phénotypiques liés au polymorphisme, à l'inactivation ou à la délétion du récepteur mGlu7 sont associés à la perte de modulation des courants $GABA_A$ toniques par le récepteur. Le récepteur mGlu7 pourrait également réguler les courants toniques excitateurs (via une modulation synaptique et extrasynaptique de la libération spontanée de glutamate, voir partie I.3). Cette double modulation serait déterminante pour établir l'état d'excitabilité global des différentes régions cérébrales.

Un lien entre le récepteur mGlu7 et la plasticité à long terme (LTD et LTP) avait déjà été démontré par Pelkey et al [376]. De plus, Sansig et al. avaient également mis en évidence une récupération retardée de la facilitation synaptique à court terme dans l'hippocampe des souris KO mGlu7$^{-/-}$ [415]. Dans cette étude, nous avons établi une nouvelle fonction du récepteur mGlu7 dans l'établissement de la plasticité synaptique, à la fois dans la dépression et dans la facilitation à court terme. La voie de signalisation induite par le complexe mGlu7-PICK1 accroit la dépression synaptique et freine la facilitation sélectivement dans certaines synapses. Il serait intéressant de vérifier si la plasticité à long terme basale (en absence d'agoniste exogène) est également affectée chez les souris mutantes, ce qui appuierait le rôle crucial du récepteur mGlu7 dans les différents processus émotionnels et cognitifs engendrés par ces phénomènes de plasticité [352].

Les ions Ca^{2+} et la plasticité neuronale sont indispensables à la formation et au maintien des contacts synaptiques [287]. Des mutations du récepteur mGlu7 pourraient donc aussi induire des défauts développementaux au sein des réseaux neuronaux via une perte du contrôle de la concentration calcique à la présynapse. Chez l'homme, des polymorphismes du gène *GRM7* ont récemment été associés à l'autisme [518] et à la schizophrénie [356], deux pathologies neurodéveloppementales, reflétant peut-être cette implication du récepteur dans la mise en place des circuiteries cérébrales. Des défauts d'attention et l'hyperactivité [372] ainsi que des défauts d'audition âge-dépendant [176] ont aussi été rapportés, mais à ce jour aucun lien avec les épilepsies n'a été trouvé [195].

L'expression sélective du récepteur mGlu7 dans certaines populations neuronales diffère spatio-temporellement d'une espèce à l'autre (par exemple il est exprimé dans les synapses NRT $\rightarrow$ VPM chez le rat mais pas chez la souris, voir [222] et partie II.3) et engendre ainsi des effets phénotypiques propres. En plus de leur vulnérabilité aux crises épileptiques [415], les souris KO mGlu7$^{-/-}$ montrent de nombreux défauts d'apprentissage [309, 68, 218, 219, 193, 72]

associés à des défauts de plasticité synaptique, notamment au niveau de l'amygdale pour les apprentissages d'aversion et de peur conditionnée [309, 165]. Les souris KO présentent également des troubles émotionnels liés à l'anxiété et la dépression [72, 121, 453], corrélés à une dérégulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. Ces défauts soulignent l'importance fonctionnelle du récepteur notamment dans l'hippocampe, l'amygdale ou encore le cortex cérébral où il est fortement exprimé [249]. De façon similaire, les souris KI mGlu7^{AAA} présentent des crises d'absence spontanées ainsi que des déficits de mémoire de travail spatiale [41, 524], liés à un dysfonctionnement des circuits thalamo-corticaux et hippocampiques respectivement. Ces modèles KO et KI pourraient aussi présenter des défauts de nociception, de mouvements, d'attention et d'éveil, reflétant l'absence ou l'inactivation du récepteur mGlu7 dans la moelle épinière, le cervelet et le locus coeruleus respectivement, mais cela n'a pas encore été étudié [352]. Nous avons testé l'effet de l'administration *in vivo* du NAM spécifique du récepteur mGlu7, l'ADX71743, sur les réponses de peur conditionnée et l'anxiété (test du labyrinthe en croix surélevé, données non montrées) chez les souris WT. Les souris présentaient une forte diminution de l'activité motrice et exploratoire liée à un état de somnolence. Il nous était donc difficile de distinguer un effet anxiogène ou anxiolytique du NAM. Ces tests n'ont pas encore été effectués chez les souris KI. Cependant, l'observation du comportement naturel de ces animaux suggère que les souris mGlu7^{AAA} sont moins anxieuses que les WT.

Le récepteur mGlu7 s'avère donc capable de moduler diverses structures centrales. Nos hypothèses issues des études sur la boucle thalamo-corticale pourraient s'appliquer à ces autres structures, ce qui confirmerait l'importance fonctionnelle de ce récepteur dans le SNC.

III.6 Le récepteur mGlu7, une future cible thérapeutique contre les troubles du sommeil et l'épilepsie absence ?

Cette étude a mis en évidence un lien étroit entre le récepteur mGlu7 et l'établissement des rythmes thalamo-corticaux associés au sommeil et aux épilepsies absence. Ce récepteur est capable d'induire ou d'inhiber les oscillations physio-pathologiques selon son état d'activation. Agissant directement sur la balance excitation/inhibition, le complexe mGlu7a-PICK1 pourrait constituer une nouvelle cible thérapeutique efficace contre les troubles du sommeil (insomnies, narcolepsies...) et les épilepsies absence. Son activation au sein du circuit aboutirait à la diminution des activités thalamiques synchrones, alors que son inhibition les favoriserait. Cette étude doit bien entendu être complétée sur de nombreux points avant de pouvoir envisager l'élaboration d'un traitement. Par exemple, la localisation spatio-temporelle et la fonction du complexe mGlu7a-PICK1 pourraient différer entre les modèles animaux et l'homme et induire des effets âge-dépendants propres à la maturation des tissus cérébraux chez les différentes espèces. Cependant, les dernières études portant sur le récepteur mGlu7, dont celles réalisées au cours de cette thèse, offrent des perspectives très prometteuses [352].

Jusqu'à récemment, les agents pharmacologiques thérapeutiques potentiels développés visaient principalement le site de liaison orthostérique du récepteur. Étant donné les nombreuses homologies de séquence parmi les différents mGluRs, ces agents présentent généralement une sélectivité peu satisfaisante, notamment pour le groupe III [351]. Un autre inconvénient des agents orthostériques est leur effet *"tout-ou-rien"* sur l'état d'activation du récepteur, qui se trouve soit en conformation active en présence d'un agoniste, ou en configuration inactive en présence d'un antagoniste. Ils entrent en compétition directe avec les ligands endogènes sur le récepteur et empêchent ainsi leurs actions. De plus, le fait d'occuper la poche de liaison orthostérique du récepteur de façon prolongée engendre souvent une désensibilisation du récepteur, ce

qui affecte rapidement l'efficacité de l'agent thérapeutique. Au contraire, l'émergence de nouveaux modulateurs allostériques positifs et négatifs offre l'opportunité de moduler bien plus finement le récepteur. En plus de présenter une meilleure sélectivité, ces agents permettent parfois d'activer ou d'inhiber certaines voies de signalisation spécifiques d'un récepteur tout en conservant l'effet de l'agoniste endogène sur d'autres voies de signalisation, maintenant ainsi un certain degré d'activation spatio-temporelle physiologique du récepteur [102]. L'utilisation thérapeutique de ces modulateurs allostériques affinerait l'effet désiré et limiterait donc considérablement les effets secondaires par rapport aux agents orthostériques.

Les récentes avancées en nanotechnologies laissent également entrevoir des progrès considérables quant à la distribution spatio-temporelle des agents pharmacologiques au sein des organismes [271], suggérant qu'il sera bientôt possible de délivrer les drogues dans certaines zones cérébrales précises. Cela permettra de s'affranchir d'un effet global, non-spécifique, du composé dans le SNC, en ne modulant que certaines régions d'intérêt. Par exemple, on pourrait cibler précisement le récepteur mGlu7 au niveau du thalamus pour moduler pharmacologiquement les rythmes thalamo-corticaux.

Ainsi, les mGluRs et le récepteur mGlu7 en particulier pourraient bientôt constituer des cibles thérapeutiques de choix face à diverses neuropathologies induites par un déséquilibre entre l'excitation et l'inhibition au sein du SNC. La modulation du complexe mGlu7a-PICK1 permettrait d'augmenter ou de diminuer sélectivement l'excitabilité de certaines populations neuronales glutamatergiques ou GABAergiques, rétablissant ainsi la balance excitation/inhibition au sein des structures cérébrales et les fonctions neurophysiologiques affectées.

Bibliographie

[1] Abdul-Ghani AS, Attwell PJ, Singh Kent N, Bradford HF, Croucher MJ, Jane DE (1997) Anti-epileptogenic and anticonvulsant activity of l-2-amino-4-phosphonobutyrate, a presynaptic glutamate receptor agonist. *Brain research* 755 :202–212. 52

[2] Abe T, Sugihara H, Nawa H, Shigemoto R, Mizuno N, Nakanishi S (1992) Molecular characterization of a novel metabotropic glutamate receptor mglur5 coupled to inositol phosphate ca2+ signal transduction. *Journal of Biological Chemistry* 267 :13361–13368. 43

[3] Abitbol K, McLean H, Bessiron T, Daniel H (2012) A new signalling pathway for parallel fibre presynaptic type 4 metabotropic glutamate receptors (mglur4) in the rat cerebellar cortex. *The Journal of Physiology* 590 :2977–2994. 44

[4] Acher FC, Tellier FJ, Azerad R, Brabet I, Fagni L, Pin JP (1997) Synthesis and pharmacological characterization of aminocyclopentanetricarboxylic acids : new tools to discriminate between metabotropic glutamate receptor subtypes. *Journal of medicinal chemistry* 40 :3119–3129. 51

[5] Agmon A, Connors BW (1992) Correlation between intrinsic firing patterns and thalamocortical synaptic responses of neurons in mouse barrel cortex. *The Journal of neuroscience* 12 :319–329. 69

[6] Amara SG, Fontana AC (2002) Excitatory amino acid transporters : keeping up with glutamate. *Neurochemistry international* 41 :313–318. 35

[7] Andermann ML, Moore CI (2006) A somatotopic map of vibrissa motion direction within a barrel column. *Nature neuroscience* 9 :543–551. 67

[8] Anggono V, Clem RL, Huganir RL (2011) Pick1 loss of function occludes homeostatic synaptic scaling. *J Neurosci* 31 :2188–96. 78

[9] Ango F, Prézeau L, Muller T, Tu JC, Xiao B, Worley P, Pin JP, Bockaert J, Fagni L (2001) Agonist-independent activation of metabotropic glutamate receptors by the intracellular protein homer. *Nature* 411 :962–965. 32, 113, 126, 131

[10] Anwyl R (1999) Metabotropic glutamate receptors : electrophysiological properties and role in plasticity. *Brain Research Reviews* 29 :83–120. 44

[11] Aoki C, Venkatesan C, Go C, Mong JA, Dawson TM (1994) Cellular and subcellular localization of nmda-r1 subunit immunoreactivity in the visual cortex of adult and neonatal rats. *The Journal of neuroscience* 14 :5202–5222. 38

[12] Aramori I, Nakanishi S (1992) Signal transduction and pharmacological characteristics of a metabotropic glutamate receptor, mglurl, in transfected cho cells. *Neuron* 8 :757–765. 43

[13] Araque A, Carmignoto G, Haydon PG (2001) Dynamic signaling between astrocytes and neurons. *Annual Review of Physiology* 63 :795–813. 35

[14] Armstrong N, Gouaux E (2000) Mechanisms for activation and antagonism of an ampa-sensitive glutamate receptor : crystal structures of the glur2 ligand binding core. *Neuron* 28 :165–181. 36

[15] Arnold PB, Li CX, Waters RS (2001) Thalamocortical arbors extend beyond single cortical barrels : an in vivo intracellular tracing study in rat. *Experimental brain research* 136 :152–168. 58

[16] Aronica E, Catania M, Geurts J, Yankaya B, Troost D (2001) Immunohistochemical localization of group i and ii metabotropic glutamate receptors in control and amyotrophic lateral sclerosis human spinal cord : upregulation in reactive astrocytes. *Neuroscience* 105 :509–520. 43

[17] Aronica E, Gorter J, Rozemuller A, Yankaya B, Troost D (2005) Activation of metabotropic glutamate receptor 3 enhances interleukin (il)-1β-stimulated release of il-6 in cultured human astrocytes. *Neuroscience* 130 :927–933. 44

[18] Aronoff R, Matyas F, Mateo C, Ciron C, Schneider B, Petersen CCH (2010) Long-range connectivity of mouse primary somatosensory barrel cortex. *Eur J Neurosci* 31 :2221–33. 59

[19] Arsenault D, Zhang Zw (2006) Developmental remodelling of the lemniscal synapse in the ventral basal thalamus of the mouse. *The Journal of physiology* 573 :121–132. 58

[20] Ascoli GA, Alonso-Nanclares L, Anderson SA, Barrionuevo G, Benavides-Piccione R, Burkhalter A, Buzsáki G, Cauli B, Defelipe J, Fairén A et al. (2008) Petilla terminology : nomenclature of features of gabaergic interneurons of the cerebral cortex. *Nature Reviews Neuroscience* 9 :557–568. 68

[21] Attwell D, Barbour B, Szatkowski M (1993) Nonvesicular release of neurotransmitter. *Neuron* 11 :401–407. 35

[22] Attwell D, Gibb A (2005) Neuroenergetics and the kinetic design of excitatory synapses. *Nature Reviews Neuroscience* 6 :841–849. 36

[23] Augustine GJ, Santamaria F, Tanaka K (2003) Local calcium signaling in neurons. *Neuron* 40 :331–346. 131

[24] Ayala JE, Niswender CM, Luo Q, Banko JL, Conn PJ (2008) Group iii mglur regulation of synaptic transmission at the sc-ca1 synapse is developmentally regulated. *Neuropharmacology* 54 :804–814. 51

[25] Ayalon G, Stern-Bach Y (2001) Functional assembly of ampa and kainate receptors is mediated by several discrete protein-protein interactions. *Neuron* 31 :103–113. 36

[26] Baker DA, Xi ZX, Shen H, Swanson CJ, Kalivas PW (2002) The origin and neuronal function of in vivo nonsynaptic glutamate. *The Journal of neuroscience* 22 :9134–9141. 35

[27] Ballard TM, Woolley ML, Prinssen E, Huwyler J, Porter R, Spooren W (2005) The effect of the mglu5 receptor antagonist mpep in rodent tests of anxiety and cognition : a comparison. *Psychopharmacology* 179 :218–229. 45

[28] Barria A, Muller D, Derkach V, Griffith LC, Soderling TR (1997) Regulatory phosphorylation of ampa-type glutamate receptors by cam-kii during long-term potentiation. *Science* 276 :2042–2045. 38

[29] Baude A, Nusser Z, Roberts JDB, Mulvihill E, Jeffrey Mcllhinney R, Somogyi P (1993) The metabotropic glutamate receptor (mglurlα) is concentrated at perisynaptic membrane of neuronal subpopulations as detected by immunogold reaction. *Neuron* 11 :771–787. 43

[30] Bear MF, Huber KM, Warren ST (2004) The mglur theory of fragile x mental retardation. *Trends in neurosciences* 27 :370–377. 45

[31] Beedle AM, McRory JE, Poirot O, Doering CJ, Altier C, Barrere C, Hamid J, Nargeot J, Bourinet E, Zamponi GW (2004) Agonist-independent modulation of n-type calcium channels by orl1 receptors. *Nature neuroscience* 7 :118–125. 50

[32] Beenhakker MP, Huguenard JR (2009) Neurons that fire together also conspire together : is normal sleep circuitry hijacked to generate epilepsy ? *Neuron* 62 :612–32. 73, 76, 78, 97, 102, 112, 125, 133, 135, 136

[33] Beierlein M, Gibson JR, Connors BW (2003) Two dynamically distinct inhibitory networks in layer 4 of the neocortex. *J Neurophysiol* 90 :2987–3000. 70, 136

[34] Belelli D, Harrison NL, Maguire J, Macdonald RL, Walker MC, Cope DW (2009) Extrasynaptic gabaa receptors : form, pharmacology, and function. *The Journal of Neuroscience* 29 :12757–12763. 54, 137

[35] Ben-Ari Y, Cherubini E, Corradetti R, Gaiarsa J (1989) Giant synaptic potentials in immature rat ca3 hippocampal neurones. *The Journal of Physiology* 416 :303–325. 37

[36] Ben-Ari Y, Cossart R (2000) Kainate, a double agent that generates seizures : two decades of progress. *Trends in neurosciences* 23 :580–587. 37

[37] Ben-Ari Y, Khazipov R, Leinekugel X, Caillard O, Gaiarsa JL (1997) Gaba$_a$, nmda and ampa receptors : a developmentally regulated ménage à trois'. *Trends in neurosciences* 20 :523–529. 54

[38] Benke TA, Lüthi A, Isaac JT, Collingridge GL (1998) Modulation of ampa receptor unitary conductance by synaptic activity. *Nature* 393 :793–797. 38

[39] Berridge MJ, Taylor C (1988) Inositol trisphosphate and calcium signaling In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, Vol. 53, pp. 927–933. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 118

[40] Bertaso F, Lill Y, Airas JM, Espeut J, Blahos J, Bockaert J, Fagni L, Betz H, El Far O (2006) Macmarcks interacts with the metabotropic glutamate receptor type 7 and modulates g protein-mediated constitutive inhibition of calcium channels. *Journal of neurochemistry* 99 :288–298. 50, 114, 126, 131

[41] Bertaso F, Zhang C, Scheschonka A, de Bock F, Fontanaud P, Marin P, Huganir RL, Betz H, Bockaert J, Fagni L et al. (2008) Pick1 uncoupling from mglur7a causes absence-like seizures. *Nature neuroscience* 11 :940–948. 17, 53, 78, 95, 97, 101, 109, 110, 112, 130, 133, 138

[42] Bessis AS, Rondard P, Gaven F, Brabet I, Triballeau N, Prézeau L, Acher F, Pin JP (2002) Closure of the venus flytrap module of mglu8 receptor and the activation process : Insights from mutations converting antagonists into agonists. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 :11097–11102. 40

[43] Bettler B, Kaupmann K, Mosbacher J, Gassmann M (2004) Molecular structure and physiological functions of gabab receptors. *Physiological reviews* 84 :835–867. 55

[44] Bhave G, Karim F, Carlton S, Gereau IV R (2001) Peripheral group i metabotropic glutamate receptors modulate nociception in mice. *Nature neuroscience* 4 :417–423. 43

[45] Birnbaumer L, Abramowitz J, Brown AM (1990) Receptor-effector coupling by g proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes* 1031 :163–224. 26

[46] Bittigau P, Ikonomidou C (1997) Topical review : Glutamate in neurologic diseases. *Journal of child neurology* 12 :471–485. 39

[47] Blackmer T, Larsen EC, Bartleson C, Kowalchyk JA, Yoon EJ, Preininger AM, Alford S, Hamm HE, Martin TF (2005) G protein $\beta\gamma$ directly regulates snare protein fusion machinery for secretory granule exocytosis. *Nature neuroscience* 8 :421–425. 50

[48] Bliss TV, Collingridge GL et al. (1993) A synaptic model of memory : long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361 :31–39. 34

[49] Bliss TV, Lømo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of physiology* 232 :331–356. 34

[50] Bockaert J, Perroy J, Bécamel C, Marin P, Fagni L (2010) Gpcr interacting proteins (gips) in the nervous system : Roles in physiology and pathologies. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 50 :89–109. 29, 31, 42, 78

[51] Bockaert J, Philippe Pin J (1999) Molecular tinkering of g protein-coupled receptors : an evolutionary success. *The EMBO journal* 18 :1723–1729. 29

[52] Bolshakov VY, Siegelbaum SA (1994) Postsynaptic induction and presynaptic expression of hippocampal long-term depression. *Science* 264 :1148–1152. 38

[53] Bond RA, IJzerman AP (2006) Recent developments in constitutive receptor activity and inverse agonism, and their potential for gpcr drug discovery. *Trends in pharmacological sciences* 27 :92–96. 31, 113, 126, 131

[54] Boudin H, Doan A, Xia J, Shigemoto R, Huganir RL, Worley P, Craig AM (2000) Presynaptic clustering of mglur7a requires the pick1 pdz domain binding site. *Neuron* 28 :485–497. 47

[55] Bowery N (1993) Gabab receptor pharmacology. *Annual review of pharmacology and toxicology* 33 :109–147. 55

[56] Bowie D (2008) Ionotropic glutamate receptors & cns disorders. *CNS & neurological disorders drug targets* 7 :129. 39, 40

[57] Bradley SR, Levey AI, Hersch SM, Conn PJ (1996) Immunocytochemical localization of group iii metabotropic glutamate receptors in the hippocampus with subtype-specific antibodies. *The Journal of neuroscience* 16 :2044–2056. 44

[58] Bradley SR, Rees HD, Yi H, Levey AI, Conn PJ (1998) Distribution and developmental regulation of metabotropic glutamate receptor 7a in rat brain. *Journal of neurochemistry* 71 :636–645. 45, 46, 82, 101

[59] Branco T, Staras K (2009) The probability of neurotransmitter release : variability and feedback control at single synapses. *Nature Reviews Neuroscience* 10 :373–383. 44

[60] Brandstätter JH, Koulen P, Wässle H (1998) Diversity of glutamate receptors in the mammalian retina. *Vision research* 38 :1385–1397. 44

[61] Brecht M, Sakmann B (2002) -dynamic representation of whisker deflection by synaptic potentials in spiny stellate and pyramidal cells in the barrels and septa of layer 4 rat somatosensory cortex. *The Journal of physiology* 543 :49–70. 69

[62] Brickley SG, Mody I (2012) Extrasynaptic gaba(a) receptors : their function in the cns and implications for disease. *Neuron* 73 :23–34. 23

[63] Bright DP, Aller MI, Brickley SG (2007) Synaptic release generates a tonic gabaa receptor-mediated conductance that modulates burst precision in thalamic relay neurons. *The Journal of neuroscience* 27 :2560–2569. 54

[64] Browne S, Kang J, Akk G, Chiang L, Schulman H, Huguenard J, Prince D (2001) Kinetic and pharmacological properties of gabaareceptors in single thalamic neurons and gabaa subunit expression. *Journal of neurophysiology* 86 :2312–2322. 54

[65] Bruno RM, Sakmann B (2006) Cortex is driven by weak but synchronously active thalamocortical synapses. *Science* 312 :1622–7. 70

[66] Bruno V, Battaglia G, Copani A, D'Onofrio M, Di Iorio P, De Blasi A, Melchiorri D, Flor PJ, Nicoletti F (2001) Metabotropic glutamate receptor subtypes as targets for neuroprotective drugs. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 21 :1013–1033. 43, 45

[67] Bryant AS, Li B, Beenhakker MP, Huguenard JR (2009) Maintenance of thalamic epileptiform activity depends on the astrocytic glutamate-glutamine cycle. *J Neurophysiol* 102 :2880–8. 95, 133

[68] Bushell TJ, Sansig G, Collett VJ, Van Der Putten H, Collingridge GL (2002) Altered short-term synaptic plasticity in mice lacking the metabotropic glutamate receptor mglu7. *The Scientific World Journal* 2 :730–737. 137

[69] Buzsaki G (1991) The thalamic clock : emergent network properties. *Neuroscience* 41 :351–364. 74

[70] Calabresi P, Centonze D, Pisani A, Bernardi G (1999) Metabotropic glutamate receptors and cell-type-specific vulnerability in the striatum : implication for ischemia and huntington's disease. *Experimental neurology* 158 :97–108. 45

[71] Caldwell JH, Herin GA, Nagel G, Bamberg E, Scheschonka A, Betz H (2008) Increases in intracellular calcium triggered by channelrhodopsin-2 potentiate the response of metabotropic glutamate receptor mglur7. *Journal of Biological Chemistry* 283 :24300–24307. 48, 131

[72] Callaerts-Vegh Z, Beckers T, Ball SM, Baeyens F, Callaerts PF, Cryan JF, Molnar E, D'Hooge R (2006) Concomitant deficits in working memory and fear extinction are functionally dissociated from reduced anxiety in metabotropic glutamate receptor 7-deficient mice. *The Journal of neuroscience* 26 :6573–6582. 53, 137, 138

[73] Calver A, Michalovich D, Testa T, Robbins M, Jaillard C, Hill J, Szekeres P, Charles K, Jourdain S, Holbrook J et al. (2003) Molecular cloning and characterisation of a novel gabab-related g-protein coupled receptor. *Molecular brain research* 110 :305–317. 55

[74] Cammack J, Rakhilin S, Schwartz E (1994) A gaba transporter operates asymmetrically and with variable stoichiometry. *Neuron* 13 :949–960. 53

[75] Carroll RC, Beattie EC, von Zastrow M, Malenka RC (2001) Role of ampa receptor endocytosis in synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience* 2 :315–324. 38

[76] Cartmell J, Schoepp DD (2000) Regulation of neurotransmitter release by metabotropic glutamate receptors. *Journal of neurochemistry* 75 :889–907. 102

[77] Carvell GE, Simons D (1990) Biometric analyses of vibrissal tactile discrimination in the rat. *The Journal of Neuroscience* 10 :2638–2648. 70

[78] Castro-Alamancos MA (2002) Properties of primary sensory (lemniscal) synapses in the ventrobasal thalamus and the relay of high-frequency sensory inputs. *Journal of neurophysiology* 87 :946–953. 58, 70, 72

[79] Catterall WA, Leal K, Nanou E (2013) Calcium channels and short-term synaptic plasticity. *Journal of Biological Chemistry* 288 :10742–10749. 21, 32

[80] Cauli B, Audinat E, Lambolez B, Angulo MC, Ropert N, Tsuzuki K, Hestrin S, Rossier J (1997) Molecular and physiological diversity of cortical nonpyramidal cells. *The Journal of Neuroscience* 17 :3894–3906. 69

[81] Caviness VS (1975) Architectonic map of neocortex of the normal mouse. *Journal of Comparative Neurology* 164 :247–263. 66

[82] Cesaro P (1999) *Neuroanatomie fonctionnelle : de la cellule aux comportements. Le cerveau, la moelle épinière* Number vol 2. ANPP. 63

[83] Chandra D, Jia F, Liang J, Peng Z, Suryanarayanan A, Werner D, Spigelman I, Houser C, Olsen R, Harrison N et al. (2006) Gabaa receptor $\alpha 4$ subunits mediate extrasynaptic inhibition in thalamus and dentate gyrus and the action of gaboxadol. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103 :15230–15235. 54, 55

[84] Chang L, Cloak CC, Ernst T (2003) Magnetic resonance spectroscopy studies of gaba in neuropsychiatric disorders. *The Journal of clinical psychiatry. Supplement* 64 :7–14. 55

[85] Chapman AG (1998) Glutamate receptors in epilepsy. *Progress in brain research* 116 :371–383. 45, 76

[86] Chen G, Way J, Armour S, Watson C, Queen K, Jayawickreme CK, Chen WJ, Kenakin T (2000) Use of constitutive g protein-coupled receptor activity for drug discovery. *Molecular pharmacology* 57 :125–134. 31

[87] Chen GQ, Cui C, Mayer ML, Gouaux E (1999) Functional characterization of a potassium-selective prokaryotic glutamate receptor. *Nature* 402 :817–821. 36

[88] Chen L, Zhang QJ, Liu J, Wang S, Ali U, Gui ZH, Wang Y (2009) Chronic, systemic treatment with a metabotropic glutamate receptor 5 antagonist in 6-hydroxydopamine partially lesioned rats reverses abnormal firing of dopaminergic neurons. *Brain research* 1286 :192–200. 45

[89] Chen MJ, Ng JMJ, Peng ZF, Manikandan J, Yap YW, Llanos RM, Beart PM, Cheung NS (2013) Gene profiling identifies commonalities in neuronal pathways in excitotoxicity : Evidence favouring cell cycle re-activation in concert with oxidative stress. *Neurochemistry international* . 39

[90] Chiaia NL, Rhoades RW, Bennett-Clarke CA, Fish SE, Killackey HP (1991) Thalamic processing of vibrissal information in the rat. i. afferent input to the medial ventral posterior and posterior nuclei. *Journal of Comparative Neurology* 314 :201–216. 58, 63, 64

[91] Chiamulera C, Epping-Jordan MP, Zocchi A, Marcon C, Cottiny C, Tacconi S, Corsi M, Orzi F, Conquet F (2001) Reinforcing and locomotor stimulant effects of cocaine are absent in mglur5 null mutant mice. *Nature neuroscience* 4 :873–874. 45

[92] Choi DW (1994) 6. glutamate receptors and the induction of excitotoxic neuronal death. *Progress in brain research* 100 :47–52. 39

[93] Christopoulos A (2002) Allosteric binding sites on cell-surface receptors : novel targets for drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery* 1 :198–210. 51

[94] Chung S, Li X, Nelson SB (2002) Short-term depression at thalamocortical synapses contributes to rapid adaptation of cortical sensory responses in vivo. *Neuron* 34 :437–446. 70

[95] Clapham DE (2007) Calcium signaling. *Cell* 131 :1047–1058. 131

[96] Clements J (1996) Transmitter timecourse in the synaptic cleft : its role in central synaptic function. *Trends in neurosciences* 19 :163–171. 23

[97] Coenen A, Van Luijtelaar E (2003) Genetic animal models for absence epilepsy : a review of the wag/rij strain of rats. *Behavior genetics* 33 :635–655. 76

[98] Collingridge GL, Isaac JT, Wang YT (2004) Receptor trafficking and synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience* 5 :952–962. 32, 34

[99] Collingridge GL, Lester RA (1989) Excitatory amino acid receptors in the vertebrate central nervous system. *Pharmacological reviews* 41 :143–210. 35

[100] Collingridge GL, Olsen RW, Peters J, Spedding M (2009) A nomenclature for ligand-gated ion channels. *Neuropharmacology* 56 :2–5. 35

[101] Collingridge GL, Singer W (1990) Excitatory amino acid receptors and synaptic plasticity. *Trends in pharmacological sciences* 11 :290–296. 39

[102] Conn PJ, Christopoulos A, Lindsley CW (2009a) Allosteric modulators of gpcrs : a novel approach for the treatment of cns disorders. *Nature reviews Drug discovery* 8 :41–54. 139

[103] Conn PJ, Lindsley CW, Jones CK (2009b) Activation of metabotropic glutamate receptors as a novel approach for the treatment of schizophrenia. *Trends in pharmacological sciences* 30 :25–31. 45

[104] Conn PJ, Niswender CM (2006) mglur7's lucky number. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 :251–252. 130

[105] Conn PJ, Pin JP (1997) Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annual review of pharmacology and toxicology* 37 :205–237. 40, 43, 44, 45, 48, 51

[106] Conquet F, Bashir ZI, Davies CH, Daniel H, Ferraguti F, Bordi F, Franz-Bacon K, Reggiani A, Matarese V, Condé F et al. (1994) Motor deficit and impairment of synaptic plasticity in mice lacking mglur1 . 43

[107] Conti F, Minelli A, DeBiasi S, Melone M (1997) Neuronal and glial localization of nmda receptors in the cerebral cortex. *Molecular neurobiology* 14 :1–18. 39

[108] Contreras D, Destexhe A, Sejnowski TJ, Steriade M (1996) Control of spatiotemporal coherence of a thalamic oscillation by corticothalamic feedback. *Science* 274 :771–774. 72, 133

[109] Contreras D, Timofeev I, Steriade M (1996) Mechanisms of long-lasting hyperpolarizations underlying slow sleep oscillations in cat corticothalamic networks. *The Journal of Physiology* 494 :251–264. 72, 133

[110] Cope DW, Di Giovanni G, Fyson SJ, Orbán G, Errington AC, Lőrincz ML, Gould TM, Carter DA, Crunelli V (2009) Enhanced tonic gabaa inhibition in typical absence epilepsy. *Nature medicine* 15 :1392–1398. 78, 112, 125, 135

[111] Corti C, Restituito S, Rimland JM, Brabet I, Corsi M, Pin JP, Ferraguti F (1998) Cloning and characterization of alternative mrna forms for the rat metabotropic glutamate receptors mglur7 and mglur8. *European Journal of Neuroscience* 10 :3629–3641. 45

[112] Coyle JT, Puttfarcken P (1993) Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* 262 :689–695. 34, 40

[113] Crandall SR, Govindaiah G, Cox CL (2010) Low-threshold ca2+ current amplifies distal dendritic signaling in thalamic reticular neurons. *The Journal of Neuroscience* 30 :15419–15429. 72, 133

[114] Cruikshank SJ, Lewis TJ, Connors BW (2007) Synaptic basis for intense thalamocortical activation of feedforward inhibitory cells in neocortex. *Nat Neurosci* 10 :462–8. 64, 87, 95, 112, 115, 125, 136

[115] Cruikshank SJ, Urabe H, Nurmikko AV, Connors BW (2010) Pathway-specific feedforward circuits between thalamus and neocortex revealed by selective optical stimulation of axons. *Neuron* 65 :230–45. 70, 103, 106

[116] Crunelli V, Cope DW, Terry JR (2011) Transition to absence seizures and the role of gaba(a) receptors. *Epilepsy Res* 97 :283–9. 78, 135

[117] Crunelli V, Hughes SW (2009) The slow (< 1 hz) rhythm of non-rem sleep : a dialogue between three cardinal oscillators. *Nature neuroscience* 13 :9–17. 72, 136

[118] Crunelli V, Leresche N (2002a) Block of thalamic t-type ca2+ channels by ethosuximide is not the whole story. *Epilepsy Currents* 2 :53–56. 74, 76, 102, 125, 135

[119] Crunelli V, Leresche N (2002b) Childhood absence epilepsy : genes, channels, neurons and networks. *Nat Rev Neurosci* 3 :371–82. 73, 74, 75, 76

[120] Crunelli V, Tóth TI, Cope DW, Blethyn K, Hughes SW (2005) The 'window't-type calcium current in brain dynamics of different behavioural states. *The Journal of Physiology* 562 :121–129. 64, 66, 78

[121] Cryan JF, Kelly PH, Neijt HC, Sansig G, Flor PJ, Van Der Putten H (2003) Antidepressant and anxiolytic-like effects in mice lacking the group iii metabotropic glutamate receptor mglur7. *European Journal of Neuroscience* 17 :2409–2417. 53, 138

[122] Curtis D, Phillis J, Watkins J (1959) The depression of spinal neurones by γ-amino-n-butyric acid and β-alanine. *The Journal of physiology* 146 :185. 17

[123] Curtis JC, Kleinfeld D (2009) Phase-to-rate transformations encode touch in cortical neurons of a scanning sensorimotor system. *Nature neuroscience* 12 :492–501. 67

[124] Dalezios Y, Luján R, Shigemoto R, Roberts JDB, Somogyi P (2002) Enrichment of mglur7a in the presynaptic active zones of gabaergic and non-gabaergic terminals on interneurons in the rat somatosensory cortex. *Cerebral Cortex* 12 :961–974. 47, 101, 131

[125] Danbolt NC (2001) Glutamate uptake. *Progress in neurobiology* 65 :1–105. 35

[126] Danober L, Deransart C, Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C (1998) Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Progress in neurobiology* 55 :27–57. 76

[127] Daw N, Stein P, Fox K (1993) The role of nmda receptors in information processing. *Annual review of neuroscience* 16 :207–222. 38

[128] De Blasi A, Conn PJ, Pin JP, Nicoletti F (2001) Molecular determinants of metabotropic glutamate receptor signaling. *Trends in pharmacological sciences* 22 :114–120. 42

[129] De Paola V, Arber S, Caroni P (2003) Ampa receptors regulate dynamic equilibrium of presynaptic terminals in mature hippocampal networks. *Nature neuroscience* 6 :491–500. 38

[130] DeBiasi S, Minelli A, Melone M, Conti F (1996) Presynaptic nmda receptors in the neocortex are both auto-and heteroreceptors. *Neuroreport* 7 :2773–2776. 39

[131] DeFelipe J (2002) Cortical interneurons : from cajal to 2001. *Progress in brain research* 136 :215–238. 67

[132] Deleuze C, Huguenard JR (2006) Distinct electrical and chemical connectivity maps in the thalamic reticular nucleus : potential roles in synchronization and sensation. *J Neurosci* 26 :8633–45. 66, 72, 78

[133] Derkach VA, Oh MC, Guire ES, Soderling TR (2007) Regulatory mechanisms of ampa receptors in synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience* 8 :101–113. 38

[134] Deschênes M, Timofeeva E, Lavallée P (2003) The relay of high-frequency sensory signals in the whisker-to-barreloid pathway. *The Journal of neuroscience* 23 :6778–6787. 58

[135] Dev KK, Nakajima Y, Kitano J, Braithwaite SP, Henley JM, Nakanishi S (2000) Pick1 interacts with and regulates pkc phosphorylation of mglur7. *The Journal of Neuroscience* 20 :7252–7257. 47

[136] Dhami GK, Ferguson SS (2006) Regulation of metabotropic glutamate receptor signaling, desensitization and endocytosis. *Pharmacology & therapeutics* 111 :260–271. 43, 44

[137] Diamond ME (1995) Somatosensory thalamus of the rat. *Cerebral cortex* 11 :189–219. 64

[138] Diamond ME, Armstrong-James M, Ebner FF (1992) Somatic sensory responses in the rostral sector of the posterior group (pom) and in the ventral posterior medial nucleus (vpm) of the rat thalamus. *Journal of Comparative Neurology* 318 :462–476. 58

[139] Diamond ME, von Heimendahl M, Knutsen PM, Kleinfeld D, Ahissar E (2008) 'where'and'what'in the whisker sensorimotor system. *Nature Reviews Neuroscience* 9 :601–612. 58

[140] Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF (1999) The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological reviews* 51 :7–62. 39

[141] Doble A (1994) Excitatory amino acid receptors and neurodegeneration. *Therapie* 50 :319–337. 39

[142] Douglas RJ, Martin KA (2004) Neuronal circuits of the neocortex. *Annu. Rev. Neurosci.* 27 :419–451. 66, 67, 68

[143] Douglas RJ, Martin KA (2007) Mapping the matrix : the ways of neocortex. *Neuron* 56 :226–238. 67, 68

[144] Douglas RJ, Martin KA, Whitteridge D (1989) A canonical microcircuit for neocortex. *Neural computation* 1 :480–488. 68

[145] Dreyfus FM, Tscherter A, Errington AC, Renger JJ, Shin HS, Uebele VN, Crunelli V, Lambert RC, Leresche N (2010) Selective t-type calcium channel block in thalamic neurons reveals channel redundancy and physiological impact of i(t)window. *J Neurosci* 30 :99–109. 72, 133

[146] Dudek SM, Bear MF (1993) Bidirectional long-term modification of synaptic effectiveness in the adult and immature hippocampus. *The Journal of neuroscience* 13 :2910–2918. 34

[147] Duggan A, Johnston G (1970) Glutamate and related amino acids in cat spinal roots, dorsal root ganglia and peripheral nerves. *Journal of neurochemistry* 17 :1205–1208. 17

[148] Duguid IC, Smart TG (2004) Retrograde activation of presynaptic NMDA receptors enhances GABA release at cerebellar interneuron-Purkinje cell synapses. *Nature neuroscience* 7 :525–533. 39

[149] Duguid I, Smart T (2009) Presynaptic nmda receptors . 39

[150] Dunlap K, Luebke JI, Turner TJ (1995) Exocytotic ca2+ channels in mammalian central neurons. *Trends in neurosciences* 18 :89–98. 21, 32

[151] Egger V, Feldmeyer D (2013) Electrical activity in neurons In *Neurosciences-From Molecule to Behavior : a university textbook*, pp. 113–143. Springer. 21, 23

[152] El Far O, Airas J, Wischmeyer E, Nehring RB, Karschin A, Betz H (2000) Interaction of the c-terminal tail region of the metabotropic glutamate receptor 7 with the protein kinase c substrate pick1. *European Journal of Neuroscience* 12 :4215–4221. 47

[153] El Far O, Betz H (2002) G-protein-coupled receptors for neurotransmitter amino acids : C-terminal tails, crowded signalosomes. *Biochem. J* 365 :329–336. 131

[154] Engel J (2001) A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy : report of the ilae task force on classification and terminology. *Epilepsia* 42 :796–803. 73, 74

[155] Engelhardt S, Grimmer Y, Fan GH, Lohse MJ (2001) Constitutive activity of the human β1-adrenergic receptor in β1-receptor transgenic mice. *Molecular Pharmacology* 60 :712–717. 31

[156] Enna SJ, Gallagher JP et al. (1983) Biochemical and electrophysiological characteristics of mammalian gaba receptors. *Int. Rev. Neurobiol* 24 :1–2. 54

[157] Enna S (2007) The gaba receptors. *The GABA Receptors* pp. 1–21. 54

[158] Enz R (2012) Structure of metabotropic glutamate receptor c-terminal domains in contact with interacting proteins. *Frontiers in molecular neuroscience* 5. 42

[159] Erlander MG, Tobin AJ (1991) The structural and functional heterogeneity of glutamic acid decarboxylase : a review. *Neurochemical research* 16 :215–226. 53

[160] Errington AC, Gibson KM, Crunelli V, Cope DW (2011) Aberrant gaba(a) receptor-mediated inhibition in cortico-thalamic networks of succinic semialdehyde dehydrogenase deficient mice. *PLoS One* 6 :e19021. 112, 125

[161] Fagg G, Foster A (1983) Amino acid neurotransmitters and their pathways in the mammalian central nervous system. *Neuroscience* 9 :701–719. 53

[162] Fagni L, Bossu J, Bockaert J (1991) Activation of a large-conductance ca2+-dependent k+ channel by stimulation of glutamate phosphoinositide-coupled receptors in cultured cerebellar granule cells. *European Journal of Neuroscience* 3 :778–789. 43

[163] Fagni L (2012) Diversity of metabotropic glutamate receptor–interacting proteins and pathophysiological functions In *Synaptic Plasticity*, pp. 63–79. Springer. 42

[164] Farrant M, Nusser Z (2005) Variations on an inhibitory theme : phasic and tonic activation of gabaa receptors. *Nature Reviews Neuroscience* 6 :215–229. 54, 107

[165] Fendt M, Schmid S, Thakker D, Jacobson L, Yamamoto R, Mitsukawa K, Maier R, Natt F, Hüsken D, Kelly P et al. (2007) mglur7 facilitates extinction of aversive memories and controls amygdala plasticity. *Molecular psychiatry* 13 :970–979. 53, 138

[166] Ferguson SS (2001) Evolving concepts in g protein-coupled receptor endocytosis : the role in receptor desensitization and signaling. *Pharmacological reviews* 53 :1–24. 29

[167] Ferraguti F, Shigemoto R (2006) Metabotropic glutamate receptors. *Cell and tissue research* 326 :483–504. 47

[168] Fisher RS, Boas WvE, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J (2005) Epileptic seizures and epilepsy : definitions proposed by the international league against epilepsy (ilae) and the international bureau for epilepsy (ibe). *Epilepsia* 46 :470–472. 74

[169] Flint AC, Dammerman RS, Kriegstein AR (1999) Endogenous activation of metabotropic glutamate receptors in neocortical development causes neuronal calcium oscillations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96 :12144–12149. 43

[170] Flor P, Van Der Putten H, Rüegg D, Lukic S, Leonhardt T, Bence M, Sansig G, Knöpfel T, Kuhn R (1997) A novel splice variant of a metabotropic glutamate receptor, human mglur7b. *Neuropharmacology* 36 :153–159. 45, 101, 114

[171] Foeller E, Feldman DE (2004) Synaptic basis for developmental plasticity in somatosensory cortex. *Current opinion in neurobiology* 14 :89–95. 34

[172] Frati C, Marchese C, Fisichella G, Copani A, Nasca M, Storto M, Nicoletti F (2000) Expression of functional mglu5 metabotropic glutamate receptors in human melanocytes. *Journal of cellular physiology* 183 :364–372. 43

[173] Fremeau Jr RT, Troyer MD, Pahner I, Nygaard GO, Tran CH, Reimer RJ, Bellocchio EE, Fortin D, Storm-Mathisen J, Edwards RH (2001) The expression of vesicular glutamate transporters defines two classes of excitatory synapse. *Neuron* 31 :247–260. 89

[174] Frerking M, Ohliger-Frerking P (2002) Ampa receptors and kainate receptors encode different features of afferent activity. *The Journal of neuroscience* 22 :7434–7443. 37

[175] Freund T, Buzsáki G (1996) Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* 6 :347–470. 53

[176] Friedman RA, Van Laer L, Huentelman MJ, Sheth SS, Van Eyken E, Corneveaux JJ, Tembe WD, Halperin RF, Thorburn AQ, Thys S et al. (2009) Grm7 variants confer susceptibility to age-related hearing impairment. *Human molecular genetics* 18 :785–796. 52, 115, 128, 137

[177] Fujiyama F, Kuramoto E, Okamoto K, Hioki H, Furuta T, Zhou L, Nomura S, Kaneko T (2004) Presynaptic localization of an ampa-type glutamate receptor in corticostriatal and thalamostriatal axon terminals. *European Journal of Neuroscience* 20 :3322–3330. 38

[178] Fundytus ME (2001) Glutamate receptors and nociception. *CNS drugs* 15 :29–58. 45

[179] Furukawa H, Singh SK, Mancusso R, Gouaux E (2005) Subunit arrangement and function in nmda receptors. *Nature* 438 :185–192. 37, 38

[180] Galvez T, Pin JP (2003) Comment fonctionne un récepteur couplé aux protéines g ? le cas des récepteurs métabotropiques du glutamate et du gaba. *M/S : médecine sciences* 19 :559–565. 36

[181] Garabedian CE, Jones SR, Merzenich MM, Dale A, Moore CI (2003) Band-pass response properties of rat si neurons. *Journal of neurophysiology* 90 :1379–1391. 70

[182] Gasparini F, Bruno V, Battaglia G, Lukic S, Leonhardt T, Inderbitzin W, Laurie D, Sommer B, Varney M, Hess S et al. (1999) (r, s)-4-phosphonophenylglycine, a potent and selective group iii metabotropic glutamate receptor agonist, is anticonvulsive and neuroprotective in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 289 :1678–1687. 51

[183] Geiger J, Melcher T, Koh DS, Sakmann B, Seeburg P, Jonas P, Monyer H (1995) Relative abundance of subunit mrnas determines gating and ca2+ permeability of ampa receptors in principal neurons and interneurons in rat cns. *Neuron* 15 :193–204. 38

[184] Gentet LJ, Ulrich D (2003) Strong, reliable and precise synaptic connections between thalamic relay cells and neurones of the nucleus reticularis in juvenile rats. *The Journal of physiology* 546 :801–811. 58, 70

[185] Gerber U, Gee CE, Benquet P (2007) Metabotropic glutamate receptors : intracellular signaling pathways. *Current opinion in pharmacology* 7 :56–61. 42

[186] Gereau Rt, Conn PJ et al. (1994) A cyclic amp-dependent form of associative synaptic plasticity induced by coactivation of beta-adrenergic receptors and metabotropic glutamate receptors in rat hippocampus. *The Journal of neuroscience* 14 :3310–3318. 44

[187] Gereau IV RW, Conn PJ (1994) Potentiation of camp responses by metabotropic glutamate receptors depresses excitatory synaptic transmission by a kinase-independent mechanism. *Neuron* 12 :1121–1129. 44

[188] Ghauri M, Chapman AG, Meldrum BS (1996) Convulsant and anticonvulsant actions of agonists and antagonists of group iii mglurs. *Neuroreport* 7 :1469–1474. 52

[189] Gibson JR, Beierlein M, Connors BW (1999) Two networks of electrically coupled inhibitory neurons in neocortex. *Nature* 402 :75–79. 70

[190] Gill SS, Pulido OM, Mueller RW, McGuire PF (1999) Immunochemical localization of the metabotropic glutamate receptors in the rat heart. *Brain research bulletin* 48 :143–146. 43

[191] Gloor P (1968) Generalized cortico-reticular epilepsies some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge. *Epilepsia* 9 :249–263. 74

[192] Glykys J, Mody I (2007) Activation of gaba< sub> a</sub> receptors : Views from outside the synaptic cleft. *Neuron* 56 :763–770. 55, 114, 125, 135, 137

[193] Goddyn H, Callaerts-Vegh Z, Stroobants S, Dirikx T, Vansteenwegen D, Hermans D, Putten Hvd, D'Hooge R (2008) Deficits in acquisition and extinction of conditioned responses in mglur7 knockout mice. *Neurobiology of learning and memory* 90 :103–111. 53, 101, 137

[194] Golshani P, Liu XB, Jones EG (2001) Differences in quantal amplitude reflect glur4-subunit number at corticothalamic synapses on two populations of thalamic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 :4172–4177. 64

[195] Goodwin H, Curran N, Chioza B, Blower J, Nashef L, Asherson P, Makoff A (2000) No association found between polymorphisms in genes encoding mglur7 and mglur8 and idiopathic generalised epilepsy in a case control study. *Epilepsy research* 39 :27–31. 52, 115, 128, 137

[196] Gray E, Whittaker V (1962) The isolation of nerve endings from brain : an electron microscopic study of cell fragments derived by homogenization and centrifugation. *Journal of anatomy* 96 :79. 21

[197] Greene JG, Greenamyre JT (1996) Bioenergetics and glutamate excitotoxicity. *Progress in neurobiology* 48 :613–634. 34

[198] Gu Y, Publicover SJ (2000) Expression of functional metabotropic glutamate receptors in primary cultured rat osteoblasts cross-talk with n-methyl-d-aspartate receptors. *Journal of Biological Chemistry* 275 :34252–34259. 43

[199] Guastella J, Nelson N, Nelson H, Czyzyk L, Keynan S, Miedel MC, Davidson N, Lester HA, Kanner BI (1990) Cloning and expression of a rat brain gaba transporter. *Science* 249 :1303–1306. 53

[200] Guillery R (1995) Anatomical evidence concerning the role of the thalamus in corticocortical communication : a brief review. *Journal of Anatomy* 187 :583. 57

[201] Guillery R, Feig S, Lozsadi D (1998) Paying attention to the thalamic reticular nucleus. *Trends in neurosciences* 21 :28–32. 64, 66

[202] Guillery R, Sherman SM (2002) Thalamic relay functions and their role in corticocortical communication : generalizations from the visual system. *Neuron* 33 :163–175. 55

[203] Gupta A, Wang Y, Markram H (2000) Organizing principles for a diversity of gabaergic interneurons and synapses in the neocortex. *Science* 287 :273–278. 69, 70

[204] Gyetvai B, Simonyi A, Oros M, Saito M, Smiley J, Vadász C (2011) mglur7 genetics and alcohol : intersection yields clues for addiction. *Neurochem Res* 36 :1087–100. 53

[205] Hamberger A, Berthold C, Karlsson B, Lehmann A, Nystrom B (1983) Extracellular gaba, glutamate, and glutamine in vivo perfusion dialysis of the rabbit hippocampus. *Neurology and Neurobiology* 7 :473–492. 34

[206] Hampson DR, Rose EM, Antflick JE (2008) The structures of metabotropic glutamate receptors In *The Glutamate Receptors*, pp. 363–386. Springer. 42

[207] Hannan AJ, Blakemore C, Katsnelson A, Vitalis T, Huber KM, Bear M, Roder J, Kim D, Shin HS, Kind PC (2001) Plc-β1, activated via mglurs, mediates activity-dependent differentiation in cerebral cortex. *Nature neuroscience* 4 :282–288. 43

[208] Hartmann MJ, Johnson NJ, Towal RB, Assad C (2003) Mechanical characteristics of rat vibrissae : resonant frequencies and damping in isolated whiskers and in the awake behaving animal. *The Journal of neuroscience* 23 :6510–6519. 58

[209] Hasenstaub A, Shu Y, Haider B, Kraushaar U, Duque A, McCormick DA (2005) Inhibitory postsynaptic potentials carry synchronized frequency information in active cortical networks. *Neuron* 47 :423–435. 72

[210] HAYASHI T (1954) Effects of sodium glutamate on the nervous system. *The Keio Journal of Medicine* 3 :183–192. 17

[211] Henderson TA, Jacquin MF (1995) What makes subcortical barrels ? In *The barrel cortex of rodents*, pp. 123–187. Springer. 63

[212] Herman MA, Jahr CE (2007) Extracellular glutamate concentration in hippocampal slice. *The Journal of Neuroscience* 27 :9736–9741. 34

[213] Hermans E, Challiss R (2001) Structural, signalling and regulatory properties of the group i metabotropic glutamate receptors : prototypic family c g-protein-coupled receptors. *Biochem. J* 359 :465–484. 30, 43

[214] Hertz L, Dringen R, Schousboe A, Robinson SR (1999) Astrocytes : glutamate producers for neurons. *Journal of neuroscience research* 57 :417–428. 34

[215] Heuss C, Gerber U (2000) G-protein-independent signaling by g-protein-coupled receptors. *Trends in neurosciences* 23 :469–475. 43

[216] Hodgkin AL, Huxley AF (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of physiology* 117 :500. 23

[217] Hollmann M, Heinemann S (1994) Cloned glutamate receptors. *Annual review of neuroscience* 17 :31–108. 36

[218] Hölscher C, Schmid S, Pilz PK, Sansig G, Van Der Putten H, Plappert CF (2004) Lack of the metabotropic glutamate receptor subtype 7 selectively impairs short-term working memory but not long-term memory. *Behavioural brain research* 154 :473–481. 53, 137

[219] Holscher C, Schmid S, Pilz PK, Sansig G, Van Der Putten H, Plappert CF (2005) Lack of the metabotropic glutamate receptor subtype 7 selectively modulates theta rhythm and working memory. *Learning & memory* 12 :450–455. 137

[220] Houamed KM, Kuijper JL, Gilbert TL, Haldeman BA, O'Hara PJ, Mulvihill ER, Almers W, Hagen FS (1991) Cloning, expression, and gene structure of a g protein-coupled glutamate receptor from rat brain. *Science* 252 :1318–1321. 40

[221] Huguenard JR, McCormick DA (2007) Thalamic synchrony and dynamic regulation of global forebrain oscillations. *Trends Neurosci* 30 :350–6. 55, 57, 72, 73, 74, 96, 97, 102, 112, 125, 135

[222] Huguenard J, Prince D (1994) Intrathalamic rhythmicity studied in vitro : nominal t-current modulation causes robust antioscillatory effects. *The Journal of neuroscience* 14 :5485–5502. 95, 135, 137

[223] Iacovelli L, Bruno V, Salvatore L, Melchiorri D, Gradini R, Caricasole A, Barletta E, De Blasi A, Nicoletti F (2002) Native group-iii metabotropic glutamate receptors are coupled to the mitogen-activated protein kinase/phosphatidylinositol-3-kinase pathways. *Journal of neurochemistry* 82 :216–223. 44

[224] Isaac JTR, Feldmeyer D (2009) Mechanisms of neocortical development. *J Physiol* 587 :1871–2. 38

[225] Jacquin MF, Golden J, Panneton WM (1988) Structure and function of barrel 'precursor'cells in trigeminal nucleus principalis. *Developmental Brain Research* 43 :309–314. 58

[226] Javitt DC, Zukin SR et al. (1991) Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 148 :1301–1308. 40

[227] Javitt D (2004) Glutamate as a therapeutic target in psychiatric disorders. *Molecular psychiatry* 9 :984–997. 40

[228] Jensen KF, Killackey HP (1987) Terminal arbors of axons projecting to the somatosensory cortex of the adult rat. i. the normal morphology of specific thalamocortical afferents. *The Journal of neuroscience* 7 :3529–3543. 58

[229] Jia F, Pignataro L, Schofield CM, Yue M, Harrison NL, Goldstein PA (2005) An extrasynaptic gabaa receptor mediates tonic inhibition in thalamic vb neurons. *Journal of neurophysiology* 94 :4491–4501. 54, 107

[230] Jingami H, Nakanishi S, Morikawa K (2003) Structure of the metabotropic glutamate receptor. *Current opinion in neurobiology* 13 :271–278. 40

[231] Johnson MD, Ojemann GA (2000) The role of the human thalamus in language and memory : evidence from electrophysiological studies. *Brain and cognition* 42 :218–230. 60

[232] Jones EG, Steriade M, McCormick D (1985) *The thalamus* Plenum Press New York. 62

[233] Jones E (2007) The thalamus (cambridge up, cambridge, uk). *Ed* 2 :1708. 60, 63

[234] Jones KA, Borowsky B, Tamm JA, Craig DA, Durkin MM, Dai M, Yao WJ, Johnson M, Gunwaldsen C, Huang LY et al. (1998) Gabab receptors function as a heteromeric assembly of the subunits gababr1 and gababr2. *Nature* 396 :674–679. 55

[235] Kalinichev M, Rouillier M, Girard F, Royer-Urios I, Bournique B, Finn T, Charvin D, Campo B, Le Poul E, Mutel V et al. (2013) Adx71743, a potent and selective negative allosteric modulator of metabotropic glutamate receptor 7 : In vitro and in vivo characterization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 344 :624–636. 51, 107, 132

[236] Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM et al. (2000) *Principles of neural science*, Vol. 4 McGraw-Hill New York. 21, 23, 24, 25

[237] Kanumilli S, Toms N, Venkateswarlu K, Mellor H, Roberts P (2002) Functional coupling of rat metabotropic glutamate 1a receptors to phospholipase d in cho cells : involvement of extracellular ca2+, protein kinase c, tyrosine kinase and rho-a. *Neuropharmacology* 42 :1–8. 43

[238] Kapfer C, Glickfeld LL, Atallah BV, Scanziani M (2007) Supralinear increase of recurrent inhibition during sparse activity in the somatosensory cortex. *Nature neuroscience* 10 :743–753. 64

[239] Katz B, Miledi R (1968) The role of calcium in neuromuscular facilitation. *The Journal of physiology* 195 :481–492. 32

[240] Kauderer BS, Kandel ER (2000) Capture of a protein synthesis-dependent component of long-term depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97 :13342–13347. 34

[241] Kauer JA, Malenka RC (2007) Synaptic plasticity and addiction. *Nature Reviews Neuroscience* 8 :844–858. 34

[242] Kaupmann K, Huggel K, Heid J, Flor PJ, Bischoff S, Mickel SJ, McMaster G, Angst C, Bittiger H, Froestl W, Bettler B (1997) Expression cloning of gabab receptors uncovers similarity to metabotropic glutamate receptors. *Nature* 386 :239–246. 55

[243] Kawaguchi Y, Kubota Y (1997) Gabaergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex. *Cerebral Cortex* 7 :476–486. 69

[244] Kenakin T (2001) Inverse, protean, and ligand-selective agonism : matters of receptor conformation. *The FASEB journal* 15 :598–611. 31

[245] Kenakin T (2005) New concepts in drug discovery : collateral efficacy and permissive antagonism. *Nature Reviews Drug Discovery* 4 :919–927. 51

[246] Kerner JA, Standaert DG, Penney JB, Young AB, Landwehrmeyer GB (1997) Expression of group one metabotropic glutamate receptor subunit mrnas in neurochemically identified neurons in the rat neostriatum, neocortex, and hippocampus. *Molecular brain research* 48 :259–269. 43

[247] Khakh BS, North RA (2006) P2x receptors as cell-surface atp sensors in health and disease. *Nature* 442 :527–532. 25

[248] Kim D, Song I, Keum S, Lee T, Jeong MJ, Kim SS, McEnery MW, Shin HS (2001) Lack of the burst firing of thalamocortical relay neurons and resistance to absence seizures in mice lacking alpha(1g) t-type ca(2+) channels. *Neuron* 31 :35–45. 78

[249] Kinoshita A, Shigemoto R, Ohishi H, Van Der Putten H, Mizuno N (1998) Immunohistochemical localization of metabotropic glutamate receptors, mglur7a and mglur7b, in the central nervous system of the adult rat and mouse : a light and electron microscopic study. *Journal of Comparative Neurology* 393 :332–352. 45, 46, 82, 101, 107, 114, 130, 138

[250] Kinzie J, Saugstad J, Westbrook G, Segerson T (1995) Distribution of metabotropic glutamate receptor 7 messenger rna in the developing and adult rat brain. *Neuroscience* 69 :167–176. 45

[251] Kitano H (2004) Biological robustness. *Nature Reviews Genetics* 5 :826–837. 52, 130

[252] Klausberger T, Somogyi P (2008) Neuronal diversity and temporal dynamics : the unity of hippocampal circuit operations. *Science* 321 :53–57. 53

[253] Knutsen PM, Biess A, Ahissar E (2008) Vibrissal kinematics in 3d : tight coupling of azimuth, elevation, and torsion across different whisking modes. *Neuron* 59 :35–42. 70, 118

[254] Kosinski CM, Risso Bradley S, Conn PJ, Levey AI, Landwehrmeyer GB, Penney JB, Young AB, Standaert DG (1999) Localization of metabotropic glutamate receptor 7 mrna and mglur7a protein in the rat basal ganglia. *Journal of Comparative Neurology* 415 :266–284. 45

[255] Koulen P, Brandstätter JH (2002) Pre-and postsynaptic sites of action of mglur8a in the mammalian retina. *Investigative ophthalmology & visual science* 43 :1933–1940. 44

[256] Krupa DJ, Matell MS, Brisben AJ, Oliveira LM, Nicolelis MA (2001) Behavioral properties of the trigeminal somatosensory system in rats performing whisker-dependent tactile discriminations. *The Journal of Neuroscience* 21 :5752–5763. 70

[257] Kukley M, Capetillo-Zarate E, Dietrich D (2007) Vesicular glutamate release from axons in white matter. *Nature neuroscience* 10 :311–320. 34, 35

[258] Kullmann DM, Erdemli G, Asztély F (1996) Ltp of ampa and nmda receptor–mediated signals : evidence for presynaptic expression and extrasynaptic glutamate spill-over. *Neuron* 17 :461–474. 38

[259] Kuner R, Köhr G, Grünewald S, Eisenhardt G, Bach A, Kornau HC (1999) Role of heteromer formation in gabab receptor function. *Science* 283 :74–77. 55

[260] Kunishima N, Shimada Y, Tsuji Y, Sato T, Yamamoto M, Kumasaka T, Nakanishi S, Jingami H, Morikawa K (2000) Structural basis of glutamate recognition by a dimeric metabotropic glutamate receptor. *Nature* 407 :971–977. 40

[261] Kyuyoung CL, Huguenard JR (2014) Modulation of short-term plasticity in the corticothalamic circuit by group iii metabotropic glutamate receptors. *J Neurosci* 34 :675–87. 95, 97, 114, 128

[262] Laaris N, Keller A (2002) Functional independence of layer iv barrels. *Journal of neurophysiology* 87 :1028–1034. 69

[263] Lafon-Cazal M, Fagni L, Guiraud MJ, Mary S, Lerner-Natoli M, Pin JP, Shigemoto R, Bockaert J (1999) mglur7-like metabotropic glutamate receptors inhibit nmda-mediated excitotoxicity in cultured mouse cerebellar granule neurons. *European Journal of Neuroscience* 11 :663–672. 47, 52

[264] Lam YW, Sherman SM (2007) Different topography of the reticulothalmic inputs to first- and higher-order somatosensory thalamic relays revealed using photostimulation. *Journal of neurophysiology* 98 :2903–2909. 65, 66

[265] Lam YW, Sherman SM (2011) Functional organization of the thalamic input to the thalamic reticular nucleus. *J Neurosci* 31 :6791–9. 66

[266] Land PW, Buffer SA, Yaskosky JD (1995) Barreloids in adult rat thalamus : Three-dimensional architecture and relationship to somatosensory cortical barrels. *Journal of Comparative Neurology* 355 :573–588. 58, 63

[267] Land PW, Simons DJ (1985) Metabolic and structural correlates of the vibrissae representation in the thalamus of the adult rat. *Neuroscience letters* 60 :319–324. 63

[268] Landisman CE, Connors BW (2007) Vpm and pom nuclei of the rat somatosensory thalamus : intrinsic neuronal properties and corticothalamic feedback. *Cereb Cortex* 17 :2853–65. 64

[269] Landisman CE, Long MA, Beierlein M, Deans MR, Paul DL, Connors BW (2002) Electrical synapses in the thalamic reticular nucleus. *The Journal of neuroscience* 22 :1002–1009. 65

[270] Larsen DD, Callaway EM (2006) Development of layer-specific axonal arborizations in mouse primary somatosensory cortex. *J Comp Neurol* 494 :398–414. 69

[271] Lavan DA, McGuire T, Langer R (2003) Small-scale systems for in vivo drug delivery. *Nature biotechnology* 21 :1184–1191. 139

[272] Lavreysen H, Dautzenberg FM (2008) Therapeutic potential of group iii metabotropic glutamate receptors. *Current medicinal chemistry* 15 :671–684. 51, 52

[273] Lee Hg, Zhu X, O Neill MJ, Webber K, Casadesus G, Marlatt M, Raina AK, Perry G, Smith MA (2004) The role of metabotropic glutamate receptors in alzheimer's disease. *Acta neurobiologiae experimentalis* 64 :89–98. 45

[274] Lefkowitz RJ, Cotecchia S, Samama P, Costa T (1993) Constitutive activity of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. *Trends in pharmacological sciences* 14 :303–307. 31

[275] Lefort S, Tomm C, Floyd Sarria JC, Petersen CC (2009) The excitatory neuronal network of the c2 barrel column in mouse primary somatosensory cortex. *Neuron* 61 :301–316. 67, 69

[276] Legendre P, Rosenmund C, Westbrook G (1993) Inactivation of nmda channels in cultured hippocampal neurons by intracellular calcium. *The Journal of neuroscience* 13 :674–684. 39

[277] Leresche N, Lambert RC, Errington AC, Crunelli V (2012) From sleep spindles of natural sleep to spike and wave discharges of typical absence seizures : is the hypothesis still valid ? *Pflugers Arch* 463 :201–12. 73, 76, 97

[278] Lerma J (2003) Roles and rules of kainate receptors in synaptic transmission. *Nature Reviews Neuroscience* 4 :481–495. 36, 37

[279] Lester RA, Jahr CE (1990) Quisqualate receptor-mediated depression of calcium currents in hippocampal neurons. *Neuron* 4 :741–749. 43

[280] Levi G, Raiteri M (1993) Carrier-mediated release of neurotransmitters. *Trends in neurosciences* 16 :415–419. 35

[281] Li R, Dozmorov M, Hellberg F, Tian Y, Jilderos B, Wigström H (2004) Characterization of nmda induced depression in rat hippocampus : involvement of ampa and nmda receptors. *Neuroscience letters* 357 :87–90. 39

[282] Li W, Neugebauer V (2004) Differential roles of mglur1 and mglur5 in brief and prolonged nociceptive processing in central amygdala neurons. *Journal of neurophysiology* 91 :13–24. 45

[283] Linden AM, Johnson B, Peters S, Shannon H, Tian M, Wang Y, Yu J, Köster A, Baez M, Schoepp D (2002) Increased anxiety-related behavior in mice deficient for metabotropic glutamate 8 (mglu8) receptor. *Neuropharmacology* 43 :251–259. 45

[284] Lipton P (1999) Ischemic cell death in brain neurons. *Physiological reviews* 79 :1431–1568. 37

[285] Liu H, Wang H, Sheng M, Jan L, Jan Y, Basbaum A (1994) Evidence for presynaptic n-methyl-d-aspartate autoreceptors in the spinal cord dorsal horn. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91 :8383–8387. 39

[286] Llinas R, Ribary U, Contreras D, Pedroarena C (1998) The neuronal basis for consciousness. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B : Biological Sciences* 353 :1841–1849. 71

[287] Lohmann C, Wong RO (2005) Regulation of dendritic growth and plasticity by local and global calcium dynamics. *Cell calcium* 37 :403–409. 128, 137

[288] Lu SM, Lin RCS (1993) Thalamic afferents of the rat barrel cortex : a light-and electron-microscopic study using phaseolus vulgaris leucoagglutinin as an anterograde tracer. *Somatosensory & motor research* 10 :1–16. 64

[289] Lu W, Xiong Z, Lei S, Orser B, Dudek E, Browning M, MacDonald J (1999) G-protein-coupled receptors act via protein kinase c and src to regulate nmda receptors. *Nature neuroscience* 2 :331–338. 43

[290] Lujan R, Shigemoto R, Lopez-Bendito G (2005) Glutamate and gaba receptor signalling in the developing brain. *Neuroscience* 130 :567–580. 43

[291] Luján R, Roberts JDB, Shigemoto R, Ohishi H, Somogyi P (1997) Differential plasma membrane distribution of metabotropic glutamate receptors mglur1 alpha, mglur2 and mglur5, relative to neurotransmitter release sites. *Journal of chemical neuroanatomy* 13 :219–241. 43

[292] Lukasiewicz PD (1996) Gabac receptors in the vertebrate retina. *Molecular neurobiology* 12 :181–194. 54

[293] Lund J (1984) Spiny stellate neurons. *Cerebral cortex* 1 :255–308. 69

[294] Lüscher C, Huber KM (2010) Group 1 mglur-dependent synaptic long-term depression : mechanisms and implications for circuitry and disease. *Neuron* 65 :445–459. 43

[295] M Ribeiro F, Paquet M, P Cregan S, SG Ferguson S (2010) Group i metabotropic glutamate receptor signalling and its implication in neurological disease. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets* 9 :574–595. 43

[296] Macdonald RL, Botzolakis E (2009) Gabaa receptor channels. *Physiology and Pathology of chloride transporters and channels in the nervous system : From molecules to diseases* p. 257. 54, 55

[297] Magalhaes AC, Dunn H, Ferguson SS (2012) Regulation of gpcr activity, trafficking and localization by gpcr-interacting proteins. *British journal of pharmacology* 165 :1717–1736. 42

[298] Makoff A, Pilling C, Harrington K, Emson P (1996) Human metabotropic glutamate receptor type 7 : molecular cloning and mrna distribution in the cns. *Molecular brain research* 40 :165–170. 45

[299] Malenka RC, Bear MF (2004) Ltp and ltd : an embarrassment of riches. *Neuron* 44 :5–21. 34

[300] Malenka RC, Nicoll RA (1999) Long-term potentiation–a decade of progress ? *Science* 285 :1870–1874. 32

[301] Manahan-Vaughan D, Kulla A, Frey JU (2000) Requirement of translation but not transcription for the maintenance of long-term depression in the ca1 region of freely moving rats. *The Journal of Neuroscience* 20 :8572–8576. 34

[302] Marder E, Goaillard JM (2006) Variability, compensation and homeostasis in neuron and network function. *Nature Reviews Neuroscience* 7 :563–574. 24, 52, 130

[303] Margeta-Mitrovic M, Mitrovic I, Riley RC, Jan LY, Basbaum AI (1999) Immunohistochemical localization of gabab receptors in the rat central nervous system. *Journal of Comparative Neurology* 405 :299–321. 55

[304] Markram H, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, Gupta A, Silberberg G, Wu C (2004) Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nature Reviews Neuroscience* 5 :793–807. 69, 70

[305] Martín R, Torres M, Sánchez-Prieto J (2007) mglur7 inhibits glutamate release through a pkc-independent decrease in the activity of p/q-type ca2+ channels and by diminishing camp in hippocampal nerve terminals. *European Journal of Neuroscience* 26 :312–322. 48

[306] Martin S, Grimwood P, Morris R (2000) Synaptic plasticity and memory : an evaluation of the hypothesis. *Annual review of neuroscience* 23 :649–711. 32

[307] Masu M, Iwakabe H, Tagawa Y, Miyoshi T, Yamashita M, Fukuda Y, Sasaki H, Hiroi K, Nakamura Y, Shigemoto R et al. (1995) Specific deficit of the on response in visual transmission by targeted disruption of the mgiur6 gene. *Cell* 80 :757–765. 45

[308] Masu M, Tanabe Y, Tsuchida K, Shigemoto R, Nakanishi S (1991) Sequence and expression of a metabotropic glutamate receptor . 40, 43

[309] Masugi M, Yokoi M, Shigemoto R, Muguruma K, Watanabe Y, Sansig G, Van Der Putten H, Nakanishi S (1999) Metabotropic glutamate receptor subtype 7 ablation causes deficit in fear response and conditioned taste aversion. *The Journal of neuroscience* 19 :955–963. 51, 52, 53, 137, 138

[310] Mateos J, Azkue J, Sarria R, Kuhn R, Grandes P, Knöpfel T (1998) Localization of the mglu4a metabotropic glutamate receptor in rat cerebellar cortex. *Histochemistry and cell biology* 109 :135–139. 44

[311] Matute C, Domercq M, Sánchez-Gómez MV (2006) Glutamate-mediated glial injury : Mechanisms and clinical importance. *Glia* 53 :212–224. 40, 44

[312] May LT, Leach K, Sexton PM, Christopoulos A (2007) Allosteric modulation of g protein-coupled receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 47 :1–51. 28, 51

[313] Mayer ML (2006) Glutamate receptors at atomic resolution. *Nature* 440 :456–462. 36

[314] McCormick DA, Bal T (1997) Sleep and arousal : thalamocortical mechanisms. *Annual review of neuroscience* 20 :185–215. 55, 58, 71, 72, 76, 78, 97, 133

[315] McCormick DA, Pape HC (1990) Properties of a hyperpolarization-activated cation current and its role in rhythmic oscillation in thalamic relay neurones. *The Journal of Physiology* 431 :291–318. 72

[316] McCormick DA CD (2001) On the cellular and network bases of epileptic seizures. *Annual review of physiology* 63 :815–846. 72, 74

[317] McGeer P, McGeer E (1989) Amino acid neurotransmitters. *Basic neurochemistry* 4 :323–328. 53

[318] McKernan RM, Whiting PJ (1996) Which $gaba_a$-receptor subtypes really occur in the brain ? *Trends in neurosciences* 19 :139–143. 54

[319] McLennan H, Huffman R, Marshall K (1968) Patterns of excitation of thalamic neurones by amino-acids and by acetylcholine . 17

[320] Meeren H, van Luijtelaar G, da Silva FL, Coenen A (2005) Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures : the cortical focus theory. *Archives of neurology* 62 :371–376. 74, 76

[321] Meeren HK, Pijn JPM, Van Luijtelaar EL, Coenen AM, da Silva FHL (2002) Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *The Journal of neuroscience* 22 :1480–1495. 74

[322] Meldrum BS (2000) Glutamate as a neurotransmitter in the brain : review of physiology and pathology. *The Journal of nutrition* 130 :1007S–1015S. 34, 35, 39

[323] Meng EC, Bourne HR (2001) Receptor activation : what does the rhodopsin structure tell us ? *Trends in pharmacological sciences* 22 :587–593. 28

[324] Merlin LR (2002) Differential roles for mglur1 and mglur5 in the persistent prolongation of epileptiform bursts. *Journal of neurophysiology* 87 :621–625. 45

[325] Meyer HS, Wimmer VC, Oberlaender M, de Kock CP, Sakmann B, Helmstaedter M (2010) Number and laminar distribution of neurons in a thalamocortical projection column of rat vibrissal cortex. *Cerebral Cortex* 20 :2277–2286. 68

[326] Millán C, Luján R, Shigemoto R, Sánchez-Prieto J (2002) The inhibition of glutamate release by metabotropic glutamate receptor 7 affects both [ca2+]c and camp evidence for a strong reduction of ca2+ entry in single nerve terminals. *Journal of Biological Chemistry* 277 :14092–14101. 47, 48, 101, 114, 127, 132

[327] Millán C, Sánchez-Prieto J (2002) Differential coupling of n-and p/q-type calcium channels to glutamate exocytosis in the rat cerebral cortex. *Neuroscience letters* 330 :29–32. 47

[328] Miller EK, Cohen JD (2001) An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annual review of neuroscience* 24 :167–202. 70

[329] Milligan G (2003) Constitutive activity and inverse agonists of g protein-coupled receptors : a current perspective. *Molecular pharmacology* 64 :1271–1276. 31

[330] Mistry RB, Isaac JTR, Crabtree JW (2008) Two differential frequency-dependent mechanisms regulating tonic firing of thalamic reticular neurons. *Eur J Neurosci* 27 :2643–56. 103

[331] Mitsukawa K, Yamamoto R, Ofner S, Nozulak J, Pescott O, Lukic S, Stoehr N, Mombereau C, Kuhn R, McAllister KH et al. (2005) A selective metabotropic glutamate receptor 7 agonist : activation of receptor signaling via an allosteric site modulates stress parameters in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 :18712–18717. 51

[332] Miyata M (2007) Distinct properties of corticothalamic and primary sensory synapses to thalamic neurons. *Neurosci Res* 59 :377–82. 71

[333] Mody I (2001) Distinguishing between gabaa receptors responsible for tonic and phasic conductances. *Neurochemical research* 26 :907–913. 54, 107

[334] Moghaddam B (2004) Targeting metabotropic glutamate receptors for treatment of the cognitive symptoms of schizophrenia. *Psychopharmacology* 174 :39–44. 45

[335] Moghaddam B, Adams BW (1998) Reversal of phencyclidine effects by a group ii metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science* 281 :1349–1352. 45

[336] Monyer H, Burnashev N, Laurie DJ, Sakmann B, Seeburg PH (1994) Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four nmda receptors. *Neuron* 12 :529–540. 38, 39

[337] Mulkey RM, Herron CE, Malenka RC (1993) An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science* 261 :1051–1055. 38

[338] Murotomi K, Takagi N, Takayanagi G, Ono M, Takeo S, Tanonaka K (2008) mglur1 antagonist decreases tyrosine phosphorylation of nmda receptor and attenuates infarct size after transient focal cerebral ischemia. *Journal of neurochemistry* 105 :1625–1634. 45

[339] Muto T, Tsuchiya D, Morikawa K, Jingami H (2007) Structures of the extracellular regions of the group ii/iii metabotropic glutamate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104 :3759–3764. 42

[340] Nägerl UV, Eberhorn N, Cambridge SB, Bonhoeffer T (2004) Bidirectional activity-dependent morphological plasticity in hippocampal neurons. *Neuron* 44 :759–767. 34

[341] Nakajima Y, Yamamoto T, Nakayama T, Nakanishi S (1999) A relationship between protein kinase c phosphorylation and calmodulin binding to the metabotropic glutamate receptor subtype 7. *Journal of Biological Chemistry* 274 :27573–27577. 47

[342] Nakanishi S (1992) Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function. *Science* 258 :597–603. 17, 35

[343] Nakanishi S (1994) Metabotropic glutamate receptors : synaptic transmission, modulation, and plasticity. *Neuron* 13 :1031–1037. 40

[344] Neher E, Sakmann B (1976) Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. *Nature* 260 :799–802. 23

[345] Neki A, Ohishi H, Kaneko T, Shigemoto R, Nakanishi S, Mizuno N (1996) Pre-and postsynaptic localization of a metabotropic glutamate receptor, mglur2, in the rat brain : an immunohistochemical study with a monoclonal antibody. *Neuroscience letters* 202 :197–200. 44

[346] Ngomba RT, Santolini I, Salt TE, Ferraguti F, Battaglia G, Nicoletti F, van Luijtelaar G (2011) Metabotropic glutamate receptors in the thalamocortical network : Strategic targets for the treatment of absence epilepsy. *Epilepsia* 52 :1211–1222. 76

[347] Nicoletti F, Bruno V, Copani A, Casabona G, Knöpfel T (1996) Metabotropic glutamate receptors : a new target for the therapy of neurodegenerative disorders ? *Trends in neurosciences* 19 :267–271. 52

[348] Nicoletti F, Meek J, Iadarola M, Chuang D, Roth B, Costa E (1986) Coupling of inositol phospholipid metabolism with excitatory amino acid recognition sites in rat hippocampus. *Journal of neurochemistry* 46 :40–46. 40

[349] Niedermeyer E (2005) 9. the normal eeg of the waking adult. *Electroencephalography : Basic principles, clinical applications, and related fields* p. 167. 109

[350] Niswender C, Johnson K, Luo Q, Williams R, Ayala J, Saleh S, Orton D, Conn P (2008) Permissive antagonism induced by negative allosteric modulators of mglur7 In *Neuropharmacology*, Vol. 55, pp. 615–615. Perrgamon-Elsevier Science LTD The Boulevard, Langford Lane, Kidlington, Oxford OX5 1GB, England. 51

[351] Niswender CM, Conn PJ (2010) Metabotropic glutamate receptors : physiology, pharmacology, and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 50 :295–322. 41, 42, 45, 48, 50, 51, 101, 138

[352] O'Connor RM, Finger BC, Flor PJ, Cryan JF (2010) Metabotropic glutamate receptor 7 : at the interface of cognition and emotion. *Eur J Pharmacol* 639 :123–31. 48, 50, 53, 115, 128, 137, 138

[353] O'Connor RM, Thakker DR, Schmutz M, Van Der Putten H, Hoyer D, Flor PJ, Cryan JF (2013) Adult sirna-induced knockdown of mglu< sub> 7</sub> receptors reduces anxiety in the mouse. *Neuropharmacology* 72 :66–73. 52

[354] O'Connor V, Far OE, Bofill-Cardona E, Nanoff C, Freissmuth M, Karschin A, Airas JM, Betz H, Boehm S (1999) Calmodulin dependence of presynaptic metabotropic glutamate receptor signaling. *Science Signaling* 286 :1180. 48

[355] Ohishi H, Akazawa C, Shigemoto R, Nakanishi S, Mizuno N (1995) Distributions of the mrnas for l-2-amino-4-phosphonobutyrate-sensitive metabotropic glutamate receptors, mglur4 and mglur7, in the rat brain. *Journal of Comparative Neurology* 360 :555–570. 44

[356] Ohtsuki T, Koga M, Ishiguro H, Horiuchi Y, Arai M, Niizato K, Itokawa M, Inada T, Iwata N, Iritani S et al. (2008) A polymorphism of the metabotropic glutamate receptor mglur7 (grm7) gene is associated with schizophrenia. *Schizophrenia research* 101 :9–16. 52, 115, 128, 137

[357] Okada M, Onodera K, Van Renterghem C, Sieghart W, Takahashi T (2000) Functional correlation of gabaa receptor α subunits expression with the properties of ipscs in the developing thalamus. *The Journal of Neuroscience* 20 :2202–2208. 54

[358] Okamoto N, Hori S, Akazawa C, Hayashi Y, Shigemoto R, Mizuno N, Nakanishi S (1994) Molecular characterization of a new metabotropic glutamate receptor mglur7 coupled to inhibitory cyclic amp signal transduction. *Journal of Biological Chemistry* 269 :1231–1236. 45, 48

[359] Oliet SH, Malenka RC, Nicoll RA (1997) Two distinct forms of long-term depression coexist in ca1 hippocampal pyramidal cells. *Neuron* 18 :969–982. 38

[360] Olivera BM, Miljanich G, Ramachandran J, Adams ME (1994) Calcium channel diversity and neurotransmitter release : the ω-conotoxins and ω-agatoxins. *Annual review of biochemistry* 63 :823–867. 21, 32

[361] Olsen RW (1981) Gaba-benzodiazepine-barbiturate receptor interactions. *Journal of neurochemistry* 37 :1–13. 54

[362] Olsen RW (1982) Drug interactions at the gaba receptor-ionophore complex. *Annual review of pharmacology and toxicology* 22 :245–277. 55

[363] Olsen RW, Sieghart W (2009) Gaba_a receptors : Subtypes provide diversity of function and pharmacology. *Neuropharmacology* 56 :141–148. 54

[364] O'Malley DM, Sandell JH, Masland RH (1992) Co-release of acetylcholine and gaba by the starburst amacrine cells. *The Journal of neuroscience* 12 :1394–1408. 53

[365] Otani S, Daniel H, Takita M, Crepel F (2002) Long-term depression induced by postsynaptic group ii metabotropic glutamate receptors linked to phospholipase c and intracellular calcium rises in rat prefrontal cortex. *The Journal of neuroscience* 22 :3434–3444. 44

[366] Ottersen O, Zhang N, Walberg F (1992) Metabolic compartmentation of glutamate and glutamine : morphological evidence obtained by quantitative immunocytochemistry in rat cerebellum. *Neuroscience* 46 :519–534. 34

[367] Palczewski K, Kumasaka T, Hori T, Behnke CA, Motoshima H, Fox BA, Trong IL, Teller DC, Okada T, Stenkamp RE et al. (2000) Crystal structure of rhodopsin : Ag protein-coupled receptor. *Science Signaling* 289 :739. 28

[368] Pałucha-Poniewiera A, Kłodzińska A, Stachowicz K, Tokarski K, Hess G, Schann S, Frauli M, Neuville P, Pilc A (2008) Peripheral administration of group iii mglu receptor agonist acpt-i exerts potential antipsychotic effects in rodents. *Neuropharmacology* 55 :517–524. 51

[369] Panatier A, Theodosis DT, Mothet JP, Touquet B, Pollegioni L, Poulain DA, Oliet SH (2006) Glia-derived d-serine controls nmda receptor activity and synaptic memory. *Cell* 125 :775–784. 38

[370] Paoletti P, Vergnano A, Barbour B, Casado M (2009) Zinc at glutamatergic synapses. *Neuroscience* 158 :126–136. 38

[371] Paquet M, Smith Y (2000) Presynaptic nmda receptor subunit immunoreactivity in gabaergic terminals in rat brain. *J Comp Neurol* 423 :330–47. 39

[372] Park S, Jung SW, Kim BN, Cho SC, Shin MS, Kim JW, Yoo HJ, Cho DY, Chung US, Son JW et al. (2013) Association between the grm7 rs3792452 polymorphism and attention deficit hyperacitiveity disorder in a korean sample. *Behavioral and Brain Functions* 9 :1. 52, 115, 128, 137

[373] Paz JT, Bryant AS, Peng K, Fenno L, Yizhar O, Frankel WN, Deisseroth K, Huguenard JR (2011) A new mode of corticothalamic transmission revealed in the gria4(-/-) model of absence epilepsy. *Nat Neurosci* 14 :1167–73. 78

[374] Peden DR, Petitjean CM, Herd MB, Durakoglugil MS, Rosahl TW, Wafford K, Homanics GE, Belelli D, Fritschy JM, Lambert JJ (2008) Developmental maturation of synaptic and extrasynaptic gabaa receptors in mouse thalamic ventrobasal neurones. *The Journal of physiology* 586 :965–987. 54

[375] Pelkey KA, Lavezzari G, Racca C, Roche KW, McBain CJ (2005) mglur7 is a metaplastic switch controlling bidirectional plasticity of feedforward inhibition. *Neuron* 46 :89–102. 50

[376] Pelkey KA, Topolnik L, Yuan XQ, Lacaille JC, McBain CJ (2008) State-dependent camp sensitivity of presynaptic function underlies metaplasticity in a hippocampal feedforward inhibitory circuit. *Neuron* 60 :980–987. 50, 115, 128, 137

[377] Penfield W, Jasper H (1954) Epilepsy and the functional anatomy of the human brain . 74

[378] Perroy J, El Far O, Bertaso F, Pin J, Betz H, Bockaert J, Fagni L (2002) Pick1 is required for the control of synaptic transmission by the metabotropic glutamate receptor 7. *The EMBO journal* 21 :2990–2999. 48, 101

[379] Perroy J, Prezeau L, De Waard M, Shigemoto R, Bockaert J, Fagni L (2000) Selective blockade of p/q-type calcium channels by the metabotropic glutamate receptor type 7 involves a phospholipase c pathway in neurons. *The Journal of Neuroscience* 20 :7896–7904. 47, 48, 53, 101, 114, 118, 127, 130, 132

[380] Petersen CC (2007) The functional organization of the barrel cortex. *Neuron* 56 :339–355. 58

[381] Petersen CC, Sakmann B (2000) The excitatory neuronal network of rat layer 4 barrel cortex. *The Journal of Neuroscience* 20 :7579–7586. 69

[382] Petilla Interneuron Nomenclature Group, Ascoli GA, Alonso-Nanclares L, Anderson SA, Barrionuevo G, Benavides-Piccione R, Burkhalter A, Buzsáki G, Cauli B, Defelipe J, Fairén A, Feldmeyer D, Fishell G, Fregnac Y, Freund TF, Gardner D, Gardner EP, Goldberg JH, Helmstaedter M, Hestrin S, Karube F, Kisvárday ZF, Lambolez B, Lewis DA, Marin O, Markram H, Muñoz A, Packer A, Petersen CCH, Rockland KS, Rossier J, Rudy B, Somogyi P, Staiger JF, Tamas G, Thomson AM, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, West DC, Yuste R (2008) Petilla terminology : nomenclature of features of gabaergic interneurons of the cerebral cortex. *Nat Rev Neurosci* 9 :557–68. 69

[383] Petralia RS, Wenthold RJ (1992) Light and electron immunocytochemical localization of ampa-selective glutamate receptors in the rat brain. *Journal of Comparative Neurology* 318 :329–354. 36

[384] Petralia R, Wang YX, Niedzielski A, Wenthold R (1996) The metabotropic glutamate receptors, mglur2 and mglur3, show unique postsynaptic, presynaptic and glial localizations. *Neuroscience* 71 :949–976. 44

[385] Petrenko AB, Yamakura T, Baba H, Shimoji K (2003) The role of n-methyl-d-aspartate (nmda) receptors in pain : a review. *Anesthesia & Analgesia* 97 :1108–1116. 40

[386] Petty F (1995) Gaba and mood disorders : a brief review and hypothesis. *Journal of Affective Disorders* 34 :275–281. 55

[387] Pierce KL, Premont RT, Lefkowitz RJ (2002) Seven-transmembrane receptors. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 3 :639–650. 26, 27, 28

[388] Pilpel Y, Kolleker A, Berberich S, Ginger M, Frick A, Mientjes E, Oostra BA, Seeburg PH (2009) Synaptic ionotropic glutamate receptors and plasticity are developmentally altered in the ca1 field of fmr1 knockout mice. *The Journal of physiology* 587 :787–804. 40

[389] Pin JP, Duvoisin R (1995) The metabotropic glutamate receptors : structure and functions. *Neuropharmacology* 34 :1–26. 42

[390] Pin JP, Galvez T, Prézeau L (2003) Evolution, structure, and activation mechanism of family 3/c g-protein-coupled receptors. *Pharmacology & therapeutics* 98 :325–354. 28

[391] Pin J, Joly C, Heinemann S, Bockaert J (1994) Domains involved in the specificity of g protein activation in phospholipase c-coupled metabotropic glutamate receptors. *The EMBO journal* 13 :342. 42

[392] Pinault D (2004a) The thalamic reticular nucleus : structure, function and concept. *Brain Research Reviews* 46 :1–31. 58, 64, 65, 66, 112

[393] Pinault D (2004b) The thalamic reticular nucleus : structure, function and concept. *Brain Res Brain Res Rev* 46 :1–31. 125, 136

[394] Pinault D, Deschenes M (1998) Projection and innervation patterns of individual thalamic reticular axons in the thalamus of the adult rat : a three-dimensional, graphic, and morphometric analysis. *Journal of Comparative Neurology* 391 :180–203. 57, 64, 65, 66, 106

[395] Pinheiro P, Mulle C (2006) Kainate receptors. *Cell and tissue research* 326 :457–482. 37

[396] Pinto DJ, Hartings JA, Brumberg JC, Simons DJ (2003) Cortical damping : analysis of thalamocortical response transformations in rodent barrel cortex. *Cerebral cortex* 13 :33–44. 70

[397] Portas CM, Rees G, Howseman A, Josephs O, Turner R, Frith C (1998) A specific role for the thalamus in mediating the interaction of attention and arousal in humans. *The Journal of Neuroscience* 18 :8979–8989. 60

[398] Porter JT, Johnson CK, Agmon A (2001) Diverse types of interneurons generate thalamus-evoked feedforward inhibition in the mouse barrel cortex. *The Journal of Neuroscience* 21 :2699–2710. 69, 70, 112, 125, 136

[399] Prézeau L, Gomeza J, Ahern S, Mary S, Galvez T, Bockaert J, Pin JP (1996) Changes in the carboxyl-terminal domain of metabotropic glutamate receptor 1 by alternative splicing generate receptors with differing agonist-independent activity. *Molecular pharmacology* 49 :422–429. 113, 126, 131

[400] Rakic P (1988) Specification of cerebral cortical areas. *Science* 241 :170–176. 67

[401] Reichova I, Sherman SM (2004) Somatosensory corticothalamic projections : distinguishing drivers from modulators. *J Neurophysiol* 92 :2185–97. 32, 71

[402] Renner M, Lacor PN, Velasco PT, Xu J, Contractor A, Klein WL, Triller A (2010) Deleterious effects of amyloid β oligomers acting as an extracellular scaffold for mglur5. *Neuron* 66 :739–754. 45

[403] Reymann KG, Frey JU (2007). *Neuropharmacology* 52 :24–40. 34

[404] Richerson GB, Wu Y (2003) Dynamic equilibrium of neurotransmitter transporters : not just for reuptake anymore. *Journal of neurophysiology* 90 :1363–1374. 35

[405] Riedel G, Platt B, Micheau J (2003) Glutamate receptor function in learning and memory. *Behavioural brain research* 140 :1–47. 43

[406] Rizzo SJS, Leonard SK, Gilbert A, Dollings P, Smith DL, Zhang MY, Di L, Platt BJ, Neal S, Dwyer JM et al. (2011) The metabotropic glutamate receptor 7 allosteric modulator amn082 : a monoaminergic agent in disguise ? *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 338 :345–352. 51

[407] Rondard P, Liu J, Huang S, Malhaire F, Vol C, Pinault A, Labesse G, Pin JP (2006) Coupling of agonist binding to effector domain activation in metabotropic glutamate-like receptors. *Journal of Biological Chemistry* 281 :24653–24661. 42

[408] Rose CR, Konnerth A (2001) Stores not just for storage : intracellular calcium release and synaptic plasticity. *Neuron* 31 :519–522. 131

[409] Rosemond E, Wang M, Yao Y, Storjohann L, Stormann T, Johnson EC, Hampson DR (2004) Molecular basis for the differential agonist affinities of group iii metabotropic glutamate receptors. *Molecular pharmacology* 66 :834–842. 48

[410] Rosenbaum DM, Rasmussen SG, Kobilka BK (2009) The structure and function of g-protein-coupled receptors. *Nature* 459 :356–363. 26, 28

[411] Rosenmund C, Stern-Bach Y, Stevens CF (1998) The tetrameric structure of a glutamate receptor channel. *Science* 280 :1596–1599. 36

[412] Rouse ST, Marino MJ, Bradley SR, Awad H, Wittmann M, Conn PJ (2000) Distribution and roles of metabotropic glutamate receptors in the basal ganglia motor circuit : implications for treatment of parkinson's disease and related disorders. *Pharmacology & therapeutics* 88 :427–435. 45

[413] Sachs AJ, Schwendinger JK, Yang AW, Haider NB, Nystuen AM (2007) The mouse mutants recoil wobbler and nmf373 represent a series of grm1 mutations. *Mammalian Genome* 18 :749–756. 45

[414] Samama P, Cotecchia S, Costa T, Lefkowitz R (1993) A mutation-induced activated state of the beta 2-adrenergic receptor. extending the ternary complex model. *Journal of Biological Chemistry* 268 :4625–4636. 29

[415] Sansig G, Bushell TJ, Clarke VR, Rozov A, Burnashev N, Portet C, Gasparini F, Schmutz M, Klebs K, Shigemoto R et al. (2001) Increased seizure susceptibility in mice lacking metabotropic glutamate receptor 7. *The Journal of Neuroscience* 21 :8734–8745. 52, 78, 101, 110, 137

[416] Schmitz D, Mellor J, Breustedt J, Nicoll RA (2003) Presynaptic kainate receptors impart an associative property to hippocampal mossy fiber long-term potentiation. *Nature neuroscience* 6 :1058–1063. 37

[417] Schmitz D, Mellor J, Nicoll RA (2001) Presynaptic kainate receptor mediation of frequency facilitation at hippocampal mossy fiber synapses. *Science* 291 :1972–1976. 37

[418] Schoepp DD, Conn PJ (1993) Metabotropic glutamate receptors in brain function and pathology. *Trends in Pharmacological Sciences* 14 :13–20. 45

[419] Schoepp DD, Jane DE, Monn JA (1999) Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology* 38 :1431–1476. 17, 51

[420] Schrader L, Tasker J (1997) Presynaptic modulation by metabotropic glutamate receptors of excitatory and inhibitory synaptic inputs to hypothalamic magnocellular neurons. *Journal of neurophysiology* 77 :527–527. 47, 48, 101, 131

[421] Schubert D, Kötter R, Zilles K, Luhmann HJ, Staiger JF (2003) Cell type-specific circuits of cortical layer iv spiny neurons. *The Journal of neuroscience* 23 :2961–2970. 69

[422] Schulz HL, Stohr H, Weber BH (2002) Characterization of three novel isoforms of the metabotrobic glutamate receptor 7 (grm7). *Neuroscience letters* 326 :37–40. 45, 101

[423] Seeburg PH (1993) The tins/tips lecture the molecular biology of mammalian glutamate receptor channels. *Trends in neurosciences* 16 :359–365. 35

[424] Seifert R, Wenzel-Seifert K (2002) Constitutive activity of g-protein-coupled receptors : cause of disease and common property of wild-type receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 366 :381–416. 31, 113, 126, 131

[425] Semyanov A, Kullmann DM (2000) Modulation of gabaergic signaling among interneurons by metabotropic glutamate receptors. *Neuron* 25 :663–672. 48

[426] Servitja JM, Masgrau R, Pardo R, Sarri E, von Eichel-Streiber C, Gutkind JS, Picatoste F (2003) Metabotropic glutamate receptors activate phospholipase d in astrocytes through a protein kinase c-dependent and rho-independent pathway. *Neuropharmacology* 44 :171–180. 43

[427] Sharon D, Vorobiov D, Dascal N (1997) Positive and negative coupling of the metabotropic glutamate receptors to a g protein–activated k+ channel, girk, in xenopus oocytes. *The Journal of general physiology* 109 :477–490. 43

[428] Sheng M, Cummings J, Roldan LA, Jan YN, Jan LY (1994) Changing subunit composition of heteromeric nmda receptors during development of rat cortex. *Nature* 368 :144–147. 38

[429] Shepherd GM, Stepanyants A, Bureau I, Chklovskii D, Svoboda K (2005) Geometric and functional organization of cortical circuits. *Nature neuroscience* 8 :782–790. 58

[430] Shepherd JD, Huganir RL (2007) The cell biology of synaptic plasticity : Ampa receptor trafficking. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 23 :613–643. 38

[431] Shepherd MG et al. (2010) *Handbook of brain microcircuits* Oxford University Press. 68, 71, 133

[432] Sherman SM, Koch C (1990) Thalamus In Shepherd GM, editor, *The Synaptic Organization of the Brain*, chapter 9, pp. 246–278. Oxford University Press, Oxford. 60

[433] Sherman SM (2006) Thalamus. *Scholarpedia* 1 :1583. 57

[434] Sherman SM, Guillery RW (2001) *Exploring the thalamus* Access Online via Elsevier. 65, 66

[435] Sherrington CS (1925) Remarks on some aspects of reflex inhibition. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character* 97 :519–545. 69

[436] Shigemoto R, Kinoshita A, Wada E, Nomura S, Ohishi H, Takada M, Flor PJ, Neki A, Abe T, Nakanishi S et al. (1997) Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *The Journal of neuroscience* 17 :7503–7522. 44, 47, 114, 131

[437] Shigeri Y, Seal RP, Shimamoto K (2004) Molecular pharmacology of glutamate transporters, eaats and vgluts. *Brain research reviews* 45 :250–265. 35

[438] Shin HS (2006) T-type ca2+ channels and absence epilepsy. *Cell Calcium* 40 :191–6. 76

[439] Shupliakov O, Brodin L, Cullheim S, Ottersen O, Storm-Mathisen J (1992) Immunogold quantification of glutamate in two types of excitatory synapse with different firing patterns. *The Journal of neuroscience* 12 :3789–3803. 34

[440] Sieghart W, Fuchs K, Tretter V, Ebert V, Jechlinger M, Höger H, Adamiker D (1999) Structure and subunit composition of gabaa receptors. *Neurochemistry international* 34 :379–385. 54

[441] Sieghart W (1992) Gaba_a receptors : ligand-gated cl- ion channels modulated by multiple drug-binding sites. *Trends in pharmacological sciences* 13 :446–450. 55

[442] Simon J, Wakimoto H, Fujita N, Lalande M, Barnard EA (2004) Analysis of the set of gabaa receptor genes in the human genome. *Journal of Biological Chemistry* 279 :41422–41435. 54

[443] Simons DJ (1985) Temporal and spatial integration in the rat si vibrissa cortex. *Journal of Neurophysiology* 54 :615–635. 70

[444] Sittampalam GS, Gal-Edd N, Arkin M, Auld D, Austin C, Bejcek B, Glicksman M, Inglese J, Lemmon V, Li Z et al. (2012) Ip-3/ip-1 assays . 117, 118

[445] Sladeczek F, Pin JP, Récasens M, Bockaert J, Weiss S (1985) Glutamate stimulates inositol phosphate formation in striatal neurones. *Nature* 317 :717–719. 17, 40

[446] Smrcka A (2008) G protein $\beta\gamma$ subunits : central mediators of g protein-coupled receptor signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences* 65 :2191–2214. 29

[447] Snead OC, Banerjee P, Burnham M, Hampson D (2000) Modulation of absence seizures by the gabaa receptor : a critical role for metabotropic glutamate receptor 4 (mglur4). *The Journal of Neuroscience* 20 :6218–6224. 76, 78, 112

[448] Soghomonian JJ, Martin DL (1998) Two isoforms of glutamate decarboxylase : why ? *Trends in pharmacological sciences* 19 :500–505. 53, 89

[449] Sohal VS, Keist R, Rudolph U, Huguenard JR (2003) Dynamic gabaa receptor subtype-specific modulation of the synchrony and duration of thalamic oscillations. *The Journal of neuroscience* 23 :3649–3657. 65, 76, 125, 135

[450] Sommer B, Köhler M, Sprengel R, Seeburg PH (1991) Rna editing in brain controls a determinant of ion flow in glutamate-gated channels. *Cell* 67 :11–19. 36

[451] Somogyi P, Dalezios Y, Luján R, Roberts JDB, Watanabe M, Shigemoto R (2003) High level of mglur7 in the presynaptic active zones of select populations of gabaergic terminals innervating interneurons in the rat hippocampus. *European Journal of Neuroscience* 17 :2503–2520. 47, 101, 131

[452] Sporns O, Tononi G, Kötter R (2005) The human connectome : a structural description of the human brain. *PLoS computational biology* 1 :e42. 21

[453] Stachowicz K, Branski P, Klak K, van der Putten H, Cryan JF, Flor PJ, Andrzej P (2008) Selective activation of metabotropic g-protein-coupled glutamate 7 receptor elicits anxiolytic-like effects in mice by modulating gabaergic neurotransmission. *Behavioural pharmacology* 19 :597–603. 53, 138

[454] Staiger JF, Zuschratter W, Luhmann HJ, Schubert D (2009) Local circuits targeting parvalbumin-containing interneurons in layer iv of rat barrel cortex. *Brain Struct Funct* 214 :1–13. 69, 70

[455] Steriade M (2000) Corticothalamic resonance, states of vigilance and mentation. *Neuroscience* 101 :243–76. 71

[456] Steriade M (2006) Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems. *Neuroscience* 137 :1087–1106. 72, 73, 102, 112, 125, 135

[457] Steriade M, Contreras D, Dossi RC, Nunez A (1993) The slow ($<$ 1 hz) oscillation in reticular thalamic and thalamocortical neurons : scenario of sleep rhythm generation in interacting thalamic and neocortical networks. *The Journal of neuroscience* 13 :3284–3299. 72, 136

[458] Steriade M, Nunez A, Amzica F (1993) A novel slow ($<$ 1 hz) oscillation of neocortical neurons in vivo : depolarizing and hyperpolarizing components. *The Journal of Neuroscience* 13 :3252–3265. 72

[459] Steriade M, Timofeev I, Grenier F (2001) Natural waking and sleep states : a view from inside neocortical neurons. *Journal of neurophysiology* 85 :1969–1985. 72

[460] Steriade M, Jones EG, Llinás RR (1990) *Thalamic oscillations and signaling.* John Wiley & Sons. 60

[461] Steriade M, McCormick DA, Sejnowski TJ (1993a) Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science* 262 :679–685. 71, 72

[462] Steriade M, Nuñez A, Amzica F (1993b) Intracellular analysis of relations between the slow (< 1 hz) neocortical oscillation and other sleep rhythms of the electroencephalogram. *The Journal of neuroscience* 13 :3266–3283. 72

[463] Steriade M (2005) Cellular substrates of brain rhythms. *Electroencephalography : basic principles, clinical applications and related fields* pp. 27–62. 74

[464] Stone T (1993) Neuropharmacology of quinolinic and kynurenic acids. *Pharmacological reviews* 45 :309–379. 38

[465] Storto M, de Grazia U, Battaglia G, Felli MP, Maroder M, Gulino A, Ragona G, Nicoletti F, Screpanti I, Frati L et al. (2000a) Expression of metabotropic glutamate receptors in murine thymocytes and thymic stromal cells. *Journal of neuroimmunology* 109 :112–120. 43

[466] Storto M, de Grazia U, Knöpfel T, Canonico PL, Copani A, Richelmi P, Nicoletti F, Vairetti M (2000b) Selective blockade of mglu5 metabotropic glutamate receptors protects rat hepatocytes against hypoxic damage. *Hepatology* 31 :649–655. 43

[467] Strange PG (2002) Mechanisms of inverse agonism at g-protein-coupled receptors. *Trends in pharmacological sciences* 23 :89–95. 31

[468] Suh YH, Pelkey KA, Lavezzari G, Roche PA, Huganir RL, McBain CJ, Roche KW (2008) Corequirement of pick1 binding and pkc phosphorylation for stable surface expression of the metabotropic glutamate receptor mglur7. *Neuron* 58 :736–48. 47

[469] Sun QQ, Huguenard JR, Prince DA (2006) Barrel cortex microcircuits : thalamocortical feedforward inhibition in spiny stellate cells is mediated by a small number of fast-spiking interneurons. *J Neurosci* 26 :1219–30. 70

[470] Suzdak PD, Thomsen C, Mulvihill E, Kristensen P (1994) Molecular cloning, expression, and characterization of metabotropic glutamate receptor subtypes In *The metabotropic glutamate receptors*, pp. 1–30. Springer. 40

[471] Suzuki G, Tsukamoto N, Fushiki H, Kawagishi A, Nakamura M, Kurihara H, Mitsuya M, Ohkubo M, Ohta H (2007) In vitro pharmacological characterization of novel isoxazolopyridone derivatives as allosteric metabotropic glutamate receptor 7 antagonists. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 323 :147–156. 51

[472] Swadlow HA (2003) Fast-spike interneurons and feedforward inhibition in awake sensory neocortex. *Cerebral Cortex* 13 :25–32. 70, 125, 136

[473] Swadlow HA, Beloozerova IN, Sirota MG (1998) Sharp, local synchrony among putative feed-forward inhibitory interneurons of rabbit somatosensory cortex. *Journal of Neurophysiology* 79 :567–582. 112, 125, 136

[474] Swanson CJ, Bures M, Johnson MP, Linden AM, Monn JA, Schoepp DD (2005) Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders. *Nat Rev Drug Discov* 4 :131–44. 41

[475] Swartz KJ, Bean BP (1992) Inhibition of calcium channels in rat ca3 pyramidal neurons by a metabotropic glutamate receptor. *The Journal of neuroscience* 12 :4358–4371. 43

[476] Sykova E (2004) Extrasynaptic volume transmission and diffusion parameters of the extracellular space. *Neuroscience* 129 :861–876. 24

[477] Szatkowski M, Barbour B, Attwell D (1990) Non-vesicular release of glutamate from glial cells by reversed electrogenic glutamate uptake. *Nature* 348 :443–446. 35

[478] Tan HO, Reid CA, Single FN, Davies PJ, Chiu C, Murphy S, Clarke AL, Dibbens L, Krestel H, Mulley JC et al. (2007) Reduced cortical inhibition in a mouse model of familial childhood absence epilepsy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104 :17536–17541. 76

[479] Tang TS, Slow E, Lupu V, Stavrovskaya IG, Sugimori M, Llinás R, Kristal BS, Hayden MR, Bezprozvanny I (2005) Disturbed ca2+ signaling and apoptosis of medium spiny neurons in huntington's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 :2602–2607. 45

[480] Tao YX (2008) Constitutive activation of g protein-coupled receptors and diseases : insights into mechanisms of activation and therapeutics. *Pharmacology & therapeutics* 120 :129–148. 31

[481] Thomsen C, Ole Dalby N (1998) Roles of metabotropic glutamate receptor subtypes in modulation of pentylenetetrazole-induced seizure activity in mice. *Neuropharmacology* 37 :1465–1473. 52

[482] Thomson AM, Bannister AP (2003) Interlaminar connections in the neocortex. *Cerebral Cortex* 13 :5–14. 67

[483] Thomson AM, Lamy C (2007) Functional maps of neocortical local circuitry. *Frontiers in neuroscience* 1 :19. 68, 69, 70

[484] Tiberi M, Caron MG (1994) High agonist-independent activity is a distinguishing feature of the dopamine d1b receptor subtype. *Journal of Biological Chemistry* 269 :27925–27931. 31

[485] Tingley WG, Roche KW, Thompson AK, Huganir RL (1993) Regulation of nmda receptor phosphorylation by alternative splicing of the c-terminal domain. *Nature* 364 :70–73. 36

[486] Traub RD, Bibbig A, LeBeau FE, Buhl EH, Whittington MA (2004) Cellular mechanisms of neuronal population oscillations in the hippocampus in vitro. *Annu. Rev. Neurosci.* 27 :247–278. 72

[487] Traynelis SF, Wollmuth LP, McBain CJ, Menniti FS, Vance KM, Ogden KK, Hansen KB, Yuan H, Myers SJ, Dingledine R (2010) Glutamate receptor ion channels : structure, regulation, and function. *Pharmacological reviews* 62 :405–496. 36

[488] Turner JP, Salt TE (2003) Group ii and iii metabotropic glutamate receptors and the control of the nucleus reticularis thalami input to rat thalamocortical neurones in vitro. *Neuroscience* 122 :459–69. 70

[489] Turner JP, Salt TE (1999) Group iii metabotropic glutamate receptors control corticothalamic synaptic transmission in the rat thalamus in vitro. *The Journal of physiology* 519 :481–491. 114, 132

[490] Ullmer C, Zoffmann S, Bohrmann B, Matile H, Lindemann L, Flor P, Malherbe P (2012) Functional monoclonal antibody acts as a biased agonist by inducing internalization of metabotropic glutamate receptor 7. *British journal of pharmacology* 167 :1448–1466. 84

[491] Van Der Loos H (1976) Barreloids in mouse somatosensory thalamus. *Neuroscience letters* 2 :1–6. 63

[492] Van Der Zeyden M, Oldenziel WH, Rea K, Cremers TI, Westerink BH (2008) Microdialysis of gaba and glutamate : analysis, interpretation and comparison with microsensors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 90 :135–147. 35

[493] Veinante P, Deschênes M (1999) Single-and multi-whisker channels in the ascending projections from the principal trigeminal nucleus in the rat. *The Journal of neuroscience* 19 :5085–5095. 58

[494] Viaene AN, Petrof I, Sherman SM (2011) Synaptic properties of thalamic input to layers 2/3 and 4 of primary somatosensory and auditory cortices. *J Neurophysiol* 105 :279–92. 70

[495] Vignes M, Collingridge GL (1997) The synaptic activation of kainate receptors. *Nature* 388 :179–182. 37

[496] Von Krosigk M, Bal T, McCormick DA (1993) Cellular mechanisms of a synchronized oscillation in the thalamus. *Science-New York Then Washington-* 261 :361–361. 95, 135

[497] Wagner A (2000) Robustness against mutations in genetic networks of yeast. *Nature genetics* 24 :355–361. 130

[498] Watanabe M, Maemura K, Kanbara K, Tamayama T, Hayasaki H (2002) Gaba and gaba receptors in the central nervous system and other organs. *International review of cytology* 213 :1–47. 54

[499] Watkins J (1999) L-glutamate as a central neurotransmitter : looking back. *Biochemical Society Transactions* 28 :297–309. 34

[500] Watt AJ, Sjöström PJ, Häusser M, Nelson SB, Turrigiano GG (2004) A proportional but slower nmda potentiation follows ampa potentiation in ltp. *Nature neuroscience* 7 :518–524. 38, 39

[501] Weiergräber M, Stephani U, Köhling R (2010) Voltage-gated calcium channels in the etiopathogenesis and treatment of absence epilepsy. *Brain Res Rev* 62 :245–71. 48, 65, 73, 76

[502] Weiss JH, Sensi SL (2000) Ca2+–zn2+ permeable ampa or kainate receptors : possible key factors in selective neurodegeneration. *Trends in neurosciences* 23 :365–371. 39

[503] Welker C, Woolsey TA (1974) Structure of layer iv in the somatosensory neocortex of the rat : description and comparison with the mouse. *Journal of Comparative Neurology* 158 :437–453. 68

[504] Wenthold RJ, Petralia RS, Niedzielski A et al. (1996) Evidence for multiple ampa receptor complexes in hippocampal ca1/ca2 neurons. *The Journal of neuroscience* 16 :1982–1989. 37

[505] Wenthold RJ, Prybylowski K, Standley S, Sans N, Petralia RS (2003) Trafficking of nmda receptors 1. *Annual review of pharmacology and toxicology* 43 :335–358. 38

[506] Whiting PJ (2003) Gaba-a receptor subtypes in the brain : a paradigm for cns drug discovery ? *Drug discovery today* 8 :445–450. 54

[507] Wierońska JM, Brański P, Siwek A, Dybala M, Nowak G, Pilc A (2010) Gabaergic dysfunction in mglu7 receptor-deficient mice as reflected by decreased levels of glutamic acid decarboxylase 65 and 67kda and increased reelin proteins in the hippocampus. *Brain Res* 1334 :12–24. 52

[508] Wierońska JM, Stachowicz K, Nowak G, Pilc A (2011) The loss of glutamate-gaba harmony in anxiety disorders. *Edited by Vladimir V. Kalinin* p. 135. 23

[509] Wilding TJ, Huettner JE (2001) Functional diversity and developmental changes in rat neuronal kainate receptors. *The Journal of physiology* 532 :411–421. 36

[510] Wisden W, Seeburg PH (1993) Mammalian ionotropic glutamate receptors. *Current opinion in neurobiology* 3 :291–298. 25

[511] Won H, Lee HR, Gee HY, Mah W, Kim JI, Lee J, Ha S, Chung C, Jung ES, Cho YS et al. (2012) Autistic-like social behaviour in shank2-mutant mice improved by restoring nmda receptor function. *Nature* 486 :261–265. 40

[512] Wong T, Guin C, Bottiglieri T, Snead OC (2003) Gaba, γ-hydroxybutyric acid, and neurological disease. *Annals of neurology* 54 :S3–S12. 55

[513] Woolsey TA, Van der Loos H (1970) The structural organization of layer iv in the somatosensory region (si) of mouse cerebral cortex : the description of a cortical field composed of discrete cytoarchitectonic units. *Brain research* 17 :205–242. 58, 67

[514] Wright RA, Arnold MB, Wheeler WJ, Ornstein PL, Schoepp DD (2000) Binding of [3h](2s, 1's, 2's)-2-(9-xanthylmethyl)-2-(2'-carboxycyclopropyl) glycine ([3h] ly341495) to cell membranes expressing recombinant human group iii metabotropic glutamate receptor subtypes. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 362 :546–554. 48

[515] Wu Y, Wang W, Díez-Sampedro A, Richerson GB (2007) Nonvesicular inhibitory neurotransmission via reversal of the gaba transporter gat-1. *Neuron* 56 :851–865. 35, 53

[516] Xi ZX, Shen H, Baker DA, Kalivas PW (2003) Inhibition of non-vesicular glutamate release by group iii metabotropic glutamate receptors in the nucleus accumbens. *Journal of neurochemistry* 87 :1204–1212. 50, 134

[517] Yalçın Ö (2012) Genes and molecular mechanisms involved in the epileptogenesis of idiopathic absence epilepsies. *Seizure* 21 :79–86. 74, 75

[518] Yang Y, Pan C (2013) Role of metabotropic glutamate receptor 7 in autism spectrum disorders : A pilot study. *Life Sciences* 92 :149 – 153. 52, 115, 128, 137

[519] Young AB, Chu D (1990) Distribution of gabaa and gabab receptors in mammalian brain : potential targets for drug development. *Drug development research* 21 :161–167. 54

[520] Yu XJ, Xu XX, He S, He J (2009) Change detection by thalamic reticular neurons. *Nature neuroscience* 12 :1165–1170. 65

[521] Yuste R, Simons D (1997) Barrels in the desert : the sde boker workshop on neocortical circuits. *Neuron* 19 :231–237. 59

[522] Yuzaki M (2003) New insights into the structure and function of glutamate receptors : the orphan receptor delta2 reveals its family's secrets. *The Keio journal of medicine* 52 :92. 40

[523] Zeitz C, van Genderen M, Neidhardt J, Luhmann UF, Hoeben F, Forster U, Wycisk K, Mátyás G, Hoyng CB, Riemslag F et al. (2005) Mutations in grm6 cause autosomal recessive congenital stationary night blindness with a distinctive scotopic 15-hz flicker electroretinogram. *Investigative ophthalmology & visual science* 46 :4328–4335. 45

[524] Zhang CS, Bertaso F, Eulenburg V, Lerner-Natoli M, Herin GA, Bauer L, Bockaert J, Fagni L, Betz H, Scheschonka A (2008) Knock-in mice lacking the pdz-ligand motif of mglur7a show impaired pkc-dependent autoinhibition of glutamate release, spatial working memory deficits, and increased susceptibility to pentylenetetrazol. *The Journal of Neuroscience* 28 :8604–8614. 51, 53, 78, 82, 101, 115, 138

[525] Zhu JJ, Esteban JA, Hayashi Y, Malinow R (2000) Postnatal synaptic potentiation : delivery of glur4-containing ampa receptors by spontaneous activity. *Nature neuroscience* 3 :1098–1106. 37

[526] Žiak D, Chvatal A, Sykova E (1998) Glutamate-, kainate-and nmda-evoked membrane currents in identified glial cells in rat spinal cord slice. *Physiol Res* 47 :365–375. 35

[527] Ziskin JL, Nishiyama A, Rubio M, Fukaya M, Bergles DE (2007) Vesicular release of glutamate from unmyelinated axons in white matter. *Nature neuroscience* 10 :321–330. 35

[528] Zucker RS, Regehr WG (2002) Short-term synaptic plasticity. *Annual review of physiology* 64 :355–405. 32