



HAL
open science

Influence de la signalisation thyroïdienne et du métabolisme mitochondrial sur le choix de destin des cellules souches neurales de la zone sous-ventriculaire chez la souris adulte

Jean-David Gothie

► **To cite this version:**

Jean-David Gothie. Influence de la signalisation thyroïdienne et du métabolisme mitochondrial sur le choix de destin des cellules souches neurales de la zone sous-ventriculaire chez la souris adulte. Sciences agricoles. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS, 2017. Français. NNT : 2017MNHN0023 . tel-02892810

HAL Id: tel-02892810

<https://theses.hal.science/tel-02892810>

Submitted on 7 Jul 2020

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.



MUSÉUM
NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE



THÈSE de DOCTORAT

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR du MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

École Doctorale 227 – Sciences de la Nature et de l'Homme
Spécialité : Neuroendocrinologie

Présentée et soutenue publiquement par

Jean-David GOTHIE

Le 11 Octobre 2017

Influence de la signalisation thyroïdienne et du métabolisme mitochondrial sur le choix de destin des cellules souches neurales de la zone sous-ventriculaire chez la souris adulte

Sous la direction de :

Pr. Barbara DEMENEIX, Professeur MNHN

Dr. Sylvie REMAUD, Maître de conférences MNHN

Devant le jury composé de :

| | | |
|---|---|--------------|
| Pr. Marie-Stéphanie CLERGET-FROIDEVAUX | Professeur, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris | Présidente |
| Dr. Franck BOURRAT | Chargé de Recherches, Institut des Neurosciences Paris-Saclay | Rapporteur |
| Dr. Carlos PARRAS | Maître de Conférences, Université Pierre et Marie Curie, Paris | Rapporteur |
| Dr. Marie-Christine MIQUEL | Maître de Conférences CNRS, Université Paul Sabatier, Toulouse | Examinatrice |
| Dr. Frédéric FLAMANT | Directeur de Recherche, Institut de Génomique Fonctionnelle, Lyon | Examineur |
| Dr. Bernard ZALC | Directeur de Recherche, Université Pierre et Marie Curie, Paris | Examineur |

Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé au Muséum National d'Histoire Naturelle, dans le laboratoire CNRS UMR 7221 / MNHN USM 501 « Évolution des Régulations Endocriniennes » du département de recherche scientifique « Adaptations du Vivant ».

*Il a été rendu possible grâce au financement de la
Région Île-de-France (Domaine d'Intérêt Majeur « Cerveau & Pensée »)
et de la
Fondation pour la Recherche Médicale (FRM),*

ainsi que grâce aux subventions accordées par l'Agence Nationale de la Recherche dans le cadre des projets Thrast (ANR-11-BSV2-019-02) et OLGA (ANR-14-CE13-0022) et par l'Union Européenne dans le cadre du projet de recherche THYRAGE (programme Horizon 2020, subvention N° 666869).

Le travail réalisé à l'Université de Tokyo a été financé grâce à l'obtention d'une bourse de la Japan Society for the promotion of Science (JSPS), dans le cadre du JSPS Summer Program 2014.



CNRS UMR 7221 / MNHN USM501, "Évolution des Régulations Endocriniennes"
Muséum National d'Histoire Naturelle, Département "Adaptations du Vivant"
7 rue Cuvier, CP32
75231 Paris Cedex 5, FRANCE
<http://umr7221.mnhn.fr>

Résumé

Le cerveau adulte des mammifères conserve sa capacité à générer de nouvelles cellules cérébrales à partir de cellules souches neurales (CSNs), principalement localisées dans deux régions cérébrales spécifiques, l'hippocampe et la zone sous-ventriculaire (SVZ). Ce processus, appelé neurogenèse, permet la formation de nouveaux neurones et de nouvelles cellules gliales (astrocytes et oligodendrocytes). Différents signaux contrôlent la prolifération et la différenciation des CSNs. Parmi ces signaux, les hormones thyroïdiennes (HTs) sont impliquées dans la prolifération des CSNs de la SVZ et dans la différenciation neuronale. À l'inverse des cellules différenciées, telles que les neurones ou les glies, les CSNs ont un fonctionnement – ou métabolisme – principalement basé sur la glycolyse et sur une faible respiration mitochondriale. Or l'évolution du métabolisme des CSNs peut influencer leur choix de destin cellulaire. Les HTs jouant un rôle important dans l'activation du métabolisme mitochondrial, j'ai testé l'hypothèse selon laquelle le choix du destin des CSNs de la SVZ adulte se ferait grâce à l'influence de la signalisation thyroïdienne sur l'activité mitochondriale.

J'ai tout d'abord montré *in vivo* et *in vitro* que les HTs permettent la détermination des CSNs en précurseurs neuronaux dans la SVZ, tandis qu'une période d'hypothyroïdisme favorise la détermination gliale. La transthyréline, protéine de liaison des HTs, est spécifiquement présente dans les cellules de la SVZ ayant un destin neuronal, alors que la désiodase de type 3, inactivatrice des HTs, est exprimée par les précurseurs oligodendrocytaires (OPCs), indiquant une activation différentielle de la signalisation thyroïdienne dans les deux lignages cellulaires. Par ailleurs j'ai pu observer que les cellules s'engageant vers un destin neuronal possèdent une plus grande activité mitochondriale que les OPCs. La présence d'HTs favorise de plus la respiration mitochondriale, ainsi que la production de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) issus de l'activité des mitochondries, dans les cellules de la SVZ. Un blocage des protéines de la chaîne respiratoire empêche les HTs de promouvoir la détermination neuronale, montrant la nécessité de l'activation mitochondriale pour l'engagement des CSNs en précurseurs neuronaux. On sait d'autre part que les modifications morphologiques (ou dynamiques) mitochondriales sont nécessaires à l'augmentation de la respiration. La division (ou fission) des mitochondries est en particulier essentielle à une bonne répartition intracellulaire de la production de l'énergie issue de la respiration, ainsi qu'à la migration cellulaire. Dans les cellules de la SVZ, j'ai montré que l'action des HTs permet l'activation de la protéine DRP1, médiatrice de la fission mitochondriale, et ce principalement dans les cellules du lignage neuronal. Les HTs favorisent donc la détermination des CSNs de la SVZ vers un destin neuronal grâce à l'activation de la respiration et de la fission mitochondriales.

Mots-clés: Neurogenèse adulte, Métabolisme mitochondrial, Hormones thyroïdiennes, Cellules souches neurales, Mitochondries, Destin cellulaire

Summary

The adult mammalian brain maintains its capacity to generate new cells from neural stem cells (NSCs), mainly localized in two specific brain regions, the hippocampus and the sub-ventricular zone (SVZ). This process, named neurogenesis, results in the production of new neurons and new glial cells (astrocytes and oligodendrocytes). Several signals control NSCs proliferation and differentiation. Among those, thyroid hormones (THs) are involved in NSCs proliferation in the SVZ and in neuronal differentiation. NSC metabolism relies mainly on glycolysis associated with a low mitochondrial activity, whereas mature cells, like neurons and glia, preferentially use oxidative phosphorylation. Changes in NSC metabolism can impact cell fate. As THs play an important part in activating mitochondrial metabolism, I hypothesized that the influence of TH signaling on mitochondrial activity triggers NSC fate choice in the adult SVZ.

First, I showed *in vivo* and *in vitro* that THs allow NSC determination in neuronal precursors, whereas a short hypothyroidism favors glial determination. Transthyretine, a TH binding protein, is specifically present in the SVZ cells having a neuronal fate, while type 3 deiodinase, a TH inhibitor, is expressed by oligodendrocyte precursor cells (OPCs). These results indicate that THs signaling is differentially activated in neuronal and glial cell lineages. I observed that cells adopting a neuronal fate display a greater mitochondrial activity when compared to OPCs, and that TH signaling favors mitochondrial respiration and ROS production in the SVZ cells. Inhibiting the mitochondrial respiratory chain prevents TH-mediated promotion of neuronal determination, proving the need of mitochondrial activation for NSC commitment toward a neuronal phenotype. Besides, it is also known that modifications of mitochondrial morphology (or mitochondrial dynamics) are required for the respiration to increase. Among mitochondrial dynamics, fission is crucial for a good intracellular repartition of energy production, and for cell migration. In the SVZ cells, I showed that, DRP1, the main inducer of mitochondrial fission, is activated by THs mainly in cells adopting a neuronal fate. Thus, THs favor NSC fate choice toward a neuronal phenotype through the activation of mitochondrial metabolism and mitochondrial fission in the adult mouse SVZ.

Keywords: Adult neurogenesis, Mitochondrial metabolism, Thyroid hormones, Neural stem cells, Mitochondria, Cell fate

Remerciements

Le travail présenté dans cette thèse n'aurait pas été possible sans l'aide de nombreux collègues et amis qui m'ont soutenu durant ces quatre ans.

Je tiens tout d'abord à remercier le Professeur **Barbara Demeneix** pour m'avoir accueilli dans son équipe en tant qu'ingénieur d'étude, puis pour avoir accepté ma proposition de réaliser une thèse sous sa direction. Barbara m'a accordé une grande confiance tout au long de ma thèse, et est toujours parvenue à trouver du temps lorsque c'était nécessaire, malgré un planning surchargé. Merci pour son dynamisme, pour son exigence, et pour sa rigueur scientifique. Merci à elle de m'avoir soutenu et encouragé dans mon travail, comme dans mes initiatives de collaboration japonaise et de communications scientifiques. Merci enfin pour les bons moments de discussions, scientifiques ou autres, autour d'un ordinateur, d'une tasse de thé ou d'une coupe de champagne !

Un grand merci également à ma co-directrice de thèse, **Sylvie Remaud**. Sylvie a toujours su être à l'écoute et se rendre disponible pour répondre à mes questions et discuter de mon projet. Merci à elle de m'avoir soutenu, encouragé et rassuré quand c'était nécessaire. Merci pour sa patience et ses conseils. Merci enfin pour sa bonne humeur, et bien sûr de m'avoir supporté comme voisin de bureau depuis plus de cinq ans !

Je remercie **Franck Bourrat** et **Carlos Parras** d'avoir accepté d'être rapporteurs de mon manuscrit de thèse. Merci d'avoir pris le temps nécessaire et merci pour vos commentaires instructifs. Je remercie également **Frédéric Flamant** et **Bernard Zalc** pour leurs conseils en tant que membres de mon comité de thèse, et d'avoir accepté de faire partie des examinateurs de ma soutenance. Je remercie également chaleureusement **Marie-Christine Miquel** et **Marie-Stéphanie Clerget-Froidevaux** d'avoir accepté d'être examinatrices de ma thèse.

Pour son aide très précieuse durant toute la dernière partie de mon doctorat, je remercie très chaleureusement **Anthony Sébillot**. Anthony a commencé à travailler dans l'équipe début 2016, et il a rapidement su se rendre indispensable. J'ai beaucoup apprécié travailler et échanger avec lui, et j'ai toujours pu lui faire confiance quand il travaillait sur mon projet. Il ne recule jamais devant la perspective d'une soirée au confocal et est d'une patience à toute épreuve, un vrai japonais dans l'âme ! Dōmo arigatō gozaimashita Anthony-san.

Merci également à **Cristina Luongo**, qui nous a rejoint peu après Anthony, pour son aide tant au niveau technique que scientifique, mais aussi pour sa bonne humeur et son accent italien ! Je remercie **Karine Le Blay** pour son aide sur plusieurs expériences et analyses dans le cadre de mon projet. Merci pour sa sympathie et ses éclats de rire qu'on entend du bout du couloir !

J'ai eu l'opportunité durant mon doctorat d'encadrer successivement deux stagiaires de choc, **Marc Legendre** et **Chloé Nguyen Van**. Après son arrivée en novembre 2015, Marc a rapidement su devenir autonome et m'a été d'une grande aide sur différentes manips et analyses. Merci pour son application, et pour les bon moments de discussions et de rires qui ont fait passer le temps plus vite au confocal ! Quelques mois après le départ de Marc, Chloé nous a rejoint et s'est également très vite intégrée à l'équipe. Je la remercie pour son efficacité et sa motivation, ainsi que pour son esprit d'initiative et ses remarques pertinentes sur les expériences et analyses que je lui ai confiées. Je souhaite bonne continuation à ces deux étudiants très prometteurs !

Pour son amitié et tous les bons moments passés ensemble depuis mon arrivée au Muséum, je tiens aussi à remercier **Marine Perret-Jeanneret**. Merci pour ses rires, son petit grain de folie et même pour ses coups de gueule légendaires ! Son départ du labo début 2016 a fait un grand vide. J'espère qu'on arrivera à se revoir plus régulièrement que pendant la fin de ma thèse, à Lyon, à Paris ou à Outovstok... (à quand un nouveau voyage au Japon?)

Merci également à **Ghislaine Morvan**, grâce à qui j'ai pu intégrer le laboratoire en 2012, après une longue discussion lors de mon passage par le Muséum lors d'une fête de la Science. J'ai principalement travaillé avec Ghislaine avant le début de mon doctorat, et j'ai toujours apprécié sa capacité à réfléchir hors des sentiers battus et à avoir de nouvelles idées.

Je remercie **Stéphanie Dupuy**, avec qui j'ai travaillé à la plateforme de cytométrie en flux de l'Université Paris Descartes, pour son aide tant sur la mise au point du protocole que sur l'analyse des expériences de FACS. Merci pour sa disponibilité et son dynamisme. Merci aussi à **Marie-Stéphane Aigrot** pour ses conseils et son aide lorsque j'ai eu l'opportunité de travailler à l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière pour mes premiers tests de FACS.

Merci à tous les autres doctorants présents et passés du laboratoire avec qui j'ai partagé tant de bons moments, mais aussi les moments de doutes et les états d'âmes propres aux étudiants en thèse ! **Bilal Mughal** began his thesis shortly after me at the end of 2013, and did not stay shy very long. I'm glad we became close friends and I surely hope we'll keep in touch and see each other in the future in Paris, Washington, Montreal, Dubaï or elsewhere. (Can you believe you're having your PhD two weeks before I do?) **Lindsey Marshall** also began her PhD around the same time as me. Thanks for lots of good times and memories in Paris and when she came to visit in Japan! (I can't promise we'll try again pouring noodles in bamboos though!) **Michelle Leemans** joined the fun in 2015 and made the lab less lonely during the late working evenings. Many thanks for her concern about my well-being and her encouragements during the writing of this thesis. (How the mouse family in your office is doing lately by the way?) I don't forget **Petra Špirhanzlová**, that I thank for her good advices and her sympathy. I would also like to thank PhD students from BOREA, **Aurora Campo**, for nice talks, and **Mitch Fleming** for good times and discussions (careful of your head at your next birthday).

Parmi les anciens doctorants, je tiens à remercier **James Bowers**, qui a soutenu sa thèse peu après le début de mon doctorat. Merci à lui de m'avoir entraîné dans l'aventure du festival « Les Chercheurs font leur Cinéma » en 2015. Je n'avais pas idée de ce dans quoi je me laissais embarquer, mais je me

suis très vite laissé prendre au jeu, des formations à la réalisation de notre (très) court-métrage basé sur mon sujet de recherche. J'ai aussi particulièrement apprécié les échanges que j'ai pu avoir avec le public et les lycéens lors de la projection de notre film dans différentes salles et différents lycées d'Île-de-France. J'en profite pour remercier les organisateurs de la 9^e édition du festival, et toute l'équipe de tournage qui a travaillé avec nous sur notre film « Neurones de l'Avenir », notamment **Sébastien Avila** et **Benjamin Bollen**, qui a accepté de jouer mon propre rôle ! Je suis très fier que nous ayons pu gagner le prix des lycéens du festival, en premier lieu grâce à l'investissement de James dans ce projet.

Je remercie également **Céline Vivien**, désormais australienne d'adoption, pour sa bonne humeur communicative et son sourire à toute épreuve, **Laëtitia Préau**, maintenant en Allemagne, pour son rire caractéristique et son franc-parler, **Alexis Grimaldi** pour m'avoir fait découvrir sa philosophie végéta*ienne avant même que je ne m'y intéresse, **Marion Bougerol**, pour les bonnes soirées passées en sa compagnie, et **Brice Bellessort**, pour sa sympathie et nos échanges sur la protection de l'environnement. Enfin je souhaite bon courage à **Lamis Chamas** qui débute tout juste son doctorat !

Parmi les autres « anciens » du labo figurent plusieurs ex-collègues et (toujours) amis qui ont tous joué un rôle important pendant ma thèse. Merci à **Stéphanie Decherf**, jamais avare de compliments, pour sa capacité à rebooster ma self-esteem. Merci à elle pour tous les bons moments passés ensemble au labo et ailleurs, et d'avoir toujours été là pour me remonter le moral quand c'était nécessaire. (Le bureau est bien trop calme le soir maintenant !) Merci également à **Gweneg « Gwenney » Kerdivel** d'avoir été, et de continuer à être là dans les bons et les mauvais moments. Merci pour nos discussions sur la science et surtout sur tout le reste, avant comme après notre courte collocation. Une amitié qui durera bien au moins plusieurs « fragments d'éternité » ! Merci aussi à **Bolaj(i) Seffou**, arrivée au labo en tant que stagiaire avant même que je ne débute ma thèse, et repartie quelques années plus tard auréolée du titre de « reine des westerns ». Merci à elle pour tous les bons moments passés ensemble et pour sa personnalité attachante. (Bolaji a toujours la classe, c'est fou !) Je remercie aussi **Jérémy Terrien**, pour sa bonne volonté permanente, ses qualités scientifiques et ses bons conseils. J'ai beaucoup apprécié échanger et travailler à ses côtés quand nous partagions le même bureau.

Je remercie également **Hélène Bouche**, avec qui j'apprécie beaucoup de discuter lorsque je sors le nez de mon ordinateur (pardon pour les craquages de doigts !), et qui me fait rêver avec le récit de ses voyages aux quatre coins du monde... Merci également à **Sylvie Dufour**, directrice de l'UMR BOREA, dont j'ai la chance de travailler à quelques pas. Merci pour sa sympathie et sa bienveillance, que l'on se croise le matin, le soir ou le weekend ! Merci à **Marie-Noëlle Lombard** pour m'avoir donné l'occasion de rencontrer de nombreux chercheurs dans le cadre de l'organisation du module d'épigénétique, et merci bien sûr de me ravitailler en chocolat sans sucre... Un grand merci également à **Jean-Baptiste Fini**, **Fabrice Girardot** et **Louise Périscard**, avec qui j'apprécie toujours de discuter sciences, environnement et perturbateurs endocriniens... entre autres ! Merci aussi à **Isabelle Seugnet**, **Amaury Deluze**, **Marie-Steph Clerget-Froidevaux** pour leur sympathie et les échanges à la cafet' (et les œufs bio de Marie-Steph). Merci aussi à **Mélodie Lettmann** qui lors de ses deux stages au labo a rapidement su s'intégrer à l'équipe, et avec qui j'apprécie toujours

de discuter quand elle repasse nous voir (à quand le prochain festival de musique?). Enfin merci aux indispensables **Lanto Courcelaud** et **Aïcha Bennana** pour leur disponibilité et leur bonne humeur, à **Fabien Uridat** et **Stéphane Sosinski** pour les soins apportés aux animaux au quotidien, à **Giovanni Levi**, **Évelyne Duvernois**, **Nicolas Buisine**, **Laurent Coen**, **Laurent Sachs**, pour leur aide et leurs conseils, scientifiques ou autres, ainsi qu'à tous les autres membres présents et passés du laboratoire pour la bonne ambiance de travail qui y règne.

Je tiens aussi à remercier les autres doctorants de Sorbonne Universités qui ont participé avec moi à l'organisation de la 10^e édition du festival « Les Chercheurs font leur Cinéma » au sein de l'association Doc'Up en 2016. Je remercie tout particulièrement **Marie-P. Chartron**, doctorante en philosophie et également réalisatrice en 2015, avec qui j'ai partagé la casquette de porteur de projet du festival. Notre duo a parfaitement fonctionné, grâce à la bonne complémentarité de nos personnalités et de nos sensibilités. Un immense merci également à **Clément Courvoisier**, ancien président de Doc'Up et véritable bible vivante du festival, à **Florent Lepoivre**, roi des conversions de fichiers (et de la bicyclette), à **Aline Coulon**, webmaster touche-à-tout, à **Loïc Nicolas**, qui a repris le flambeau de porteur en 2017, et à tous les autres qui ont contribué au succès de la 10^e édition, et de la projection anniversaire qui s'en est suivie. Participer au festival en tant que réalisateur comme en tant qu'organisateur m'a permis des échanges passionnants avec les doctorants d'autres disciplines, et m'a donné goût à la communication scientifique (mais un peu moins aux tracasseries administratives de la gestion de projet !). Merci pour cette aventure hors-normes !

J'ai eu la chance d'être sélectionné pour participer en 2014 au *JSPS Summer Program*, et d'aller travailler plus de deux mois à l'Université de Tokyo. Je remercie le Professeur **Yukiko Gotoh** d'avoir accepté ma proposition de postuler ensemble à ce financement, et de m'avoir si bien accueilli dans son laboratoire. Un grand merci également à **Shohei Furutachi**, **Masafumi Tsuboi**, **Hiroaki Miya**, **Yasuhiro Itoh**, **Hiroki Kawai**, **Hiroshi Sakai**, **Darin Lanjakornsiripan** et tous les autres membres de l'équipe pour leur aide, leur bonne humeur et tous les bons moments passés ensemble. 皆ありがとうございます。 Je remercie également les autres participants au *JSPS Summer program*, **Capucine**, **Malick**, **Jonhatan**, **Giuseppe**, **Sylvaine**, **Sabine**, **Alexandre** et les autres pour tous les bons souvenirs de nos rencontres à intervalle régulier durant l'été 2014 au Japon, et la **famille Ōta** pour leur accueil chaleureux (et les cours de surf !).

Pour finir je tiens à remercier ma famille pour leur soutien dans ma volonté de réaliser une thèse, et tout au long de mon doctorat. Merci à mes parents, à mes trois sœurs préférées et à mes beaux-frères, et à mes six chers neveux et nièces, que j'aime fort et qui me portent.

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| Table des illustrations..... | 19 |
| Abréviations..... | 21 |
| Avant-propos..... | 25 |
| Introduction..... | 29 |
| I. La signalisation thyroïdienne..... | 31 |
| I.1. Production des hormones thyroïdiennes..... | 33 |
| I.1.1. Biosynthèse..... | 33 |
| I.1.2. Contrôle de la sécrétion des HTs par l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien..... | 35 |
| I.2. Régulations du transport et de la disponibilité en HTs..... | 35 |
| I.2.1. Transport sanguin et protéines de liaison..... | 36 |
| I.2.2. Régulation de la disponibilité cérébrale en HTs..... | 37 |
| I.2.2.1. Barrière hémato-encéphalique..... | 37 |
| I.2.2.2. Plexus choroïde et liquide céphalo-rachidien..... | 39 |
| I.2.3. Régulation de la disponibilité cellulaire en HTs..... | 40 |
| I.2.3.1. Transporteurs membranaires..... | 40 |
| I.2.3.2. Désiodases..... | 42 |
| I.2.4. Mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes..... | 44 |
| I.2.4.1. Actions génomiques..... | 45 |
| I.2.4.1.1. Récepteurs nucléaires..... | 45 |
| a. Structure..... | 45 |
| b. Isoformes..... | 46 |
| c. Dimérisation..... | 47 |
| d. Éléments de réponse aux HTs..... | 48 |
| I.2.4.1.2. Régulation positive..... | 49 |
| I.2.4.1.3. Régulation négative..... | 51 |
| I.2.4.2. Actions non-génomiques..... | 53 |
| I.2.4.2.1. Récepteurs membranaires..... | 54 |
| I.2.4.2.2. Régulations non-génomiques dépendantes des TRs..... | 56 |
| II. La neurogenèse adulte..... | 59 |
| II.1. Neurogenèse embryonnaire et origine des cellules souches neurales adultes..... | 59 |

| | |
|--|-----------|
| II.2. Niches neurogéniques du cerveau adulte..... | 61 |
| II.2.1. L'hippocampe..... | 63 |
| II.2.2. La zone sous-ventriculaire..... | 65 |
| II.2.3. Autres niches neurogéniques..... | 67 |
| II.2.3.1. L'hypothalamus..... | 67 |
| II.2.3.2. Les organes circumventriculaires..... | 69 |
| II.3. Différenciation des cellules souches neurales de la SVZ..... | 70 |
| II.3.1. CSNs quiescentes et activées..... | 71 |
| II.3.2. Prolifération, détermination et différenciation des CSNs de la SVZ adulte..... | 72 |
| II.3.2.1. Marqueurs de prolifération..... | 73 |
| II.3.2.2. Destin neuronal..... | 74 |
| II.3.2.3. Destin Glial..... | 76 |
| II.3.3. Facteurs extrinsèques et voies de signalisation impliqués dans la neurogenèse..... | 78 |
| II.3.3.1. Voie Wnt..... | 78 |
| II.3.3.2. Voie Notch..... | 79 |
| II.3.3.3. Voie Sonic Hedgehog..... | 81 |
| II.3.4. Régionalisation de la SVZ..... | 82 |
| II.3.5. Influences hormonales..... | 84 |
| II.4. Signalisation thyroïdienne au cours de la neurogenèse..... | 85 |
| II.4.1. Influence des HTs sur la neurogenèse embryonnaire et périnatale..... | 85 |
| II.4.2. Influence des HTs sur la neurogenèse adulte..... | 87 |
| II.4.3. HTs et neurogenèse dans le cerveau vieillissant..... | 90 |
| III. Le métabolisme mitochondrial..... | 93 |
| III.1. Généralités..... | 93 |
| III.2. Métabolisme du glucose et respiration mitochondriale..... | 95 |
| III.2.1. La glycolyse..... | 96 |
| III.2.2. Le cycle de Krebs..... | 101 |
| III.2.3. Phosphorylation oxydative et chaîne respiratoire..... | 101 |
| III.2.4. Bilan énergétique..... | 105 |
| III.2.5. Dérivés réactifs de l'oxygène (ROS)..... | 105 |
| III.2.6. Implications du calcium dans le métabolisme mitochondrial..... | 107 |
| III.3. Métabolisme des cellules souches et des progéniteurs..... | 108 |
| III.3.1. Métabolisme glycolytique..... | 108 |
| III.3.2. Rôle du métabolisme glycolytique..... | 112 |

| | |
|--|------------|
| III.4. Dynamiques mitochondriales..... | 113 |
| III.4.1. Biogenèse mitochondriale..... | 113 |
| III.4.1.1. PGC1 α et TFAM..... | 115 |
| III.4.1.2. SIRT1..... | 116 |
| III.4.2. Fusion mitochondriale..... | 118 |
| III.4.3. Fission mitochondriale..... | 119 |
| III.4.4. Mobilité mitochondriale..... | 121 |
| III.5. Métabolisme mitochondrial des cellules cérébrales..... | 122 |
| III.5.1. Métabolisme mitochondrial et différenciation des CSNs..... | 122 |
| III.5.2. Influence du métabolisme mitochondrial sur le choix de destin cellulaire..... | 125 |
| III.5.3. Métabolisme mitochondrial dans les neurones matures..... | 127 |
| III.5.4. Métabolisme mitochondrial oligodendrocytaire..... | 128 |
| III.5.5. Interactions métaboliques des neurones, oligodendrocytes et astrocytes matures. | 131 |
| III.5.6. Implications du métabolisme mitochondrial dans les maladies neurodéveloppementales et neurodégénératives..... | 132 |
| III.5.6.1. Maladies neurodéveloppementales..... | 132 |
| III.5.6.2. Maladies neurodégénératives..... | 133 |
| III.6. Rôles de la signalisation thyroïdienne..... | 136 |
| III.6.1. Effets précoces..... | 137 |
| III.6.2. Effets tardifs..... | 139 |
| IV. Problématique de recherche..... | 145 |
| IV.1. Influence croisée de l'activité mitochondriale et des HTs sur le choix de destin des CSNs au sein de la SVZ adulte..... | 145 |
| IV.2. Effets combinés de l'activité physique et de l'hypothyroïdisme sur l'activation des CSNs au sein de la SVZ adulte..... | 147 |
| Matériels et méthodes..... | 149 |
| I. Études <i>in vivo</i>..... | 151 |
| I.1. Choix de destin des CNSs de la SVZ adulte..... | 151 |
| I.1.1. Étude de l'influence du statut thyroïdien sur le choix de destin des CSNs..... | 151 |
| I.1.2. Étude du métabolisme mitochondrial dans les cellules de la SVZ..... | 152 |
| I.1.2.1. Utilisation du colorant JC-1 par stéréotaxie..... | 152 |
| I.1.2.2. Immuno-histochimies..... | 153 |
| I.2. Activation des cellules souches neurales de la SVZ adulte..... | 154 |

| | |
|--|------------|
| II. Études <i>in vitro</i> | 155 |
| II.1. Cultures primaires de neurosphères à partir de CSNs de la SVZ adulte..... | 155 |
| II.2. Principe de la culture primaire de CSNs adultes..... | 155 |
| II.3. Étude de la production de ROS..... | 156 |
| II.4. Inhibition de la chaîne respiratoire..... | 157 |
| II.5. Immuno-cytochimies..... | 158 |
| II.6. Transfections de plasmides CMV-H1-shDRP1..... | 158 |
| II.7. Cytométrie en flux (FACS)..... | 159 |
| II.7.1. Principe général..... | 160 |
| II.7.2. Choix des fluorochromes..... | 160 |
| II.7.3. Protocole expérimental..... | 162 |
| Résultats | 165 |
| I. La signalisation thyroïdienne détermine le choix de destin des cellules souches neurales de la SVZ adulte par l'activation du métabolisme mitochondrial | 167 |
| I.1. Introduction à l'article..... | 167 |
| I.2. Article : <i>Adult neural stem cell fate is determined by thyroid hormone activation of mitochondrial metabolism</i> | 169 |
| I.3. Résultats complémentaires..... | 191 |
| I.3.1. Dosages des HTs sériques..... | 192 |
| I.3.2. Influence de l'hyperthyroïdie sur le destin des CSNs..... | 192 |
| I.3.3. Influence de la disponibilité en HTs sur la prolifération dans la SVZ adulte..... | 194 |
| I.3.4. La transthyrétine est présente dans les cellules engagées vers la voie neuronale.... | 196 |
| I.3.5. Expression de HIF1 α dans les cellules SOX2 ⁺ de la SVZ adulte..... | 196 |
| I.3.6. Expression de PGC1 α dans les cellules issues de la différenciation de CSNs de la SVZ adulte <i>in vitro</i> | 198 |
| I.3.7. Rôle de DRP1 dans le choix du destin cellulaire <i>in vitro</i> | 200 |
| I.3.8. Influence de l'activité mitochondriale et de la disponibilité en T ₃ sur le destin des CSNs adultes <i>in vitro</i> : analyse par FACS..... | 201 |
| I.3.9. Visualisation de la morphologie mitochondriale dans les cellules OLIG2 ⁺ et DCX ⁺ après 24 heures de différenciation dans différentes conditions de disponibilité en T ₃ | 205 |
| I.4. Discussion..... | 207 |
| II. Influence des hormones thyroïdiennes et de l'activité physique sur l'activation des cellules souches neurales de la SVZ adulte | 211 |

| | |
|---|------------|
| II.1. Contrôle du statut thyroïdien..... | 212 |
| II.2. Analyse de l'influence du statut thyroïdien et de l'activité physique sur la prolifération cellulaire dans la SVZ adulte..... | 213 |
| II.3. Analyse de l'influence du statut thyroïdien et de l'activité physique sur l'activation et la différenciation des CSNs dans la SVZ adulte..... | 214 |
| II.4. Discussion..... | 216 |
| Discussion générale..... | 219 |
| Annexes..... | 237 |
| <i>Annexe I : Transient hypothyroidism favors oligodendrocyte generation providing functional remyelination in the adult mouse brain.....</i> | <i>239</i> |
| <i>Annexe II : Comparative approaches to understanding thyroid hormone regulation of neurogenesis.....</i> | <i>271</i> |
| <i>Annexe III : Thyroid hormone signaling and adult neurogenesis in mammals.....</i> | <i>287</i> |
| <i>Annexe IV : Poster : Impact of thyroid status on radial glial to neural stem cell transition in the developing brain and on p57kip2 in adult neurogenesis.....</i> | <i>297</i> |
| <i>Annexe V : Poster : Thyroid hormones and cell metabolism cooperate in determining adult neural stem cell fate.....</i> | <i>301</i> |
| <i>Annexe VI : Curriculum Vitae.....</i> | <i>305</i> |
| Références..... | 309 |

Table des illustrations

| | |
|---|-----|
| Figure 1: Structure chimique de la tyrosine et des principales hormones thyroïdiennes..... | 31 |
| Figure 2: Biosynthèse des hormones thyroïdiennes..... | 32 |
| Figure 3: Axe hypothalamo-hypophysaire-thyroïdien..... | 34 |
| Figure 4: La barrière hémato-encéphalique..... | 38 |
| Figure 5: Les ventricules cérébraux et le plexus choroïde..... | 39 |
| Figure 6: Les transporteurs membranaires des hormones thyroïdiennes dans les cellules du cerveau murin adulte..... | 41 |
| Figure 7: Désiodation des hormones thyroïdiennes..... | 43 |
| Figure 8: Domaines fonctionnels des différents récepteurs aux hormones thyroïdiennes..... | 46 |
| Figure 9: Les éléments de réponse aux hormones thyroïdiennes..... | 48 |
| Figure 10: Activation de la transcription par la T ₃ | 50 |
| Figure 11: Régulation négative de la transcription par la T ₃ | 52 |
| Figure 12: Actions non-génomiques des HTs via les récepteurs membranaires..... | 54 |
| Figure 13: Étapes de la neurogenèse embryonnaire..... | 60 |
| Figure 14: Neurogenèse hippocampale et sous-ventriculaire chez la souris adulte..... | 64 |
| Figure 15: Niches neurogéniques adultes secondaires : hypothalamus et organes circumventriculaires..... | 68 |
| Figure 16: Spécificité des marqueurs des cellules de la SVZ adulte..... | 75 |
| Figure 17: Voie Notch dans les cellules de la SVZ..... | 80 |
| Figure 18: Organisation des bulbes olfactifs..... | 83 |
| Figure 19: Vue d'ensemble du métabolisme intermédiaire..... | 94 |
| Figure 20: Structure et respiration mitochondriale..... | 96 |
| Figure 21: Les hexoses..... | 97 |
| Figure 22: La glycolyse..... | 98 |
| Figure 23: Le cycle de Krebs..... | 100 |
| Figure 24: La chaîne respiratoire..... | 102 |
| Figure 25: Structure moléculaire de l'ADP et de l'ATP..... | 105 |
| Figure 26: Switch métabolique de la neurogenèse adulte..... | 108 |
| Figure 27: Métabolisme glycolytique..... | 110 |
| Figure 28: Dynamiques mitochondriales..... | 114 |
| Figure 29: Cycles du glutamate et du N-acétylaspartate dans les astrocytes, les neurones et les oligodendrocytes..... | 130 |
| Figure 30: Problématique de recherche..... | 146 |

| | |
|---|-----|
| Figure 31: Protocole d'induction de l'hypothyroïdie ou de l'hyperthyroïdie chez la souris adulte..... | 151 |
| Figure 32: Injection de JC-1 et principe du colorant..... | 152 |
| Figure 33: Protocole d'induction de la neurogenèse chez l'adulte euthyroïdien et hypothyroïdien..... | 154 |
| Figure 34: Protocole de culture primaire de CSNs adultes <i>in vitro</i> | 156 |
| Figure 35: Principe de l'hydroéthidine, du mitoTEMPO et de l'oligomycine..... | 157 |
| Figure 36: Principe de la cytométrie en flux et combinaison de fluorochromes utilisée..... | 161 |
| Figure 37: Concentrations en T ₃ et T ₄ sériques totales..... | 193 |
| Figure 38: Quantifications des cellules DCX ⁺ et OLIG2 ⁺ de la SVZ d'animaux eu-, hypo- et hyperthyroïdiens..... | 194 |
| Figure 39: Quantification des cellules PH3 ⁺ dans la SVZ d'animaux eu-, hypo- et hyperthyroïdiens..... | 195 |
| Figure 40: Présence de la transthyrétine dans les cellules de la SVZ..... | 197 |
| Figure 41: L'expression nucléaire de SOX2 et HIF1 α est corrélée dans la SVZ..... | 198 |
| Figure 42: Expression nucléaire de PGC1 α dans les cellules issues de la différenciation de CSNs <i>in vitro</i> | 199 |
| Figure 43: Proportion de cellules OLIG2 ⁺ parmi les cellules transfectées avec un plasmide codant un shARN contrôle (shCTRL) ou dirigé contre DRP1 (shDRP1), dans différentes conditions de disponibilité en T ₃ | 201 |
| Figure 44: Analyse de l'influence de l'activité mitochondriale et de la présence de T ₃ sur la détermination des CSNs adultes par cytométrie en flux..... | 202 |
| Figure 45: Quantification du volume mitochondrial dans les cellules OLIG2 ⁺ et DCX ⁺ après 24h de différenciation <i>in vitro</i> | 204 |
| Figure 46: Concentrations sériques en T ₄ total des animaux euthyroïdiens et hypothyroïdiens élevés en conditions contrôle ou avec enrichissement du milieu (roues)..... | 212 |
| Figure 47: Prolifération cellulaire dans la SVZ de souris eu- et hypothyroïdiennes adultes en conditions contrôle ou d'induction de la neurogenèse par l'activité physique..... | 213 |
| Figure 48: Quantification des cellules quiescentes et des neuroblastes présents dans la SVZ de souris eu- et hypothyroïdiennes adultes en conditions contrôle ou d'induction de la neurogenèse par l'activité physique..... | 215 |
| Figure 49: Modèle proposé de l'influence de la signalisation thyroïdienne et du métabolisme mitochondrial sur le choix de destin des CSNs de la SVZ adulte | 222 |
| Figure 50: Processus potentiellement impliqués dans l'activation du métabolisme mitochondrial par les HTs lors de la détermination neuronale..... | 234 |

Abréviations

| | |
|---------------------------|--|
| ^{14}C | Carbone 14 |
| ACC | Acetyl-CoA carboxylase |
| ADHD | Déficits de l'attention et désordres hyperactifs |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| ADP | Adénosine diphosphate |
| AF2 | Domaine de fonction d'activation 2 |
| AMPc | Adénosine monophosphate cyclique |
| ANT | Adénine nucléotide translocase |
| APC | Allophycocyanine |
| AraC | Cytosine β -D-arabinofuranoside |
| ARN | Acide ribonucléique |
| ARN pol II | ARN polymérase de type II |
| ARNm | Acide ribonucléique messager |
| ATP | Adénosine triphosphate |
| BDNF | <i>Brain-derived neurotrophic factor</i> |
| BHE | Barrière hémato-encéphalique |
| BrdU | 5-bromo-2-desoxyuridine |
| BSA | <i>Bovine serum albumin</i> , albumine de sérum bovin |
| BV421 | Brilliant violet 421 TM |
| Ca^{2+} | Calcium |
| Ca^{2+} -ATPases | Pompes calciques |
| $[\text{Ca}^{2+}]_c$ | Concentration cytoplasmique en Ca^{2+} |
| $[\text{Ca}^{2+}]_m$ | Concentration mitochondriale en Ca^{2+} |
| CD24 | <i>Cluster of differentiation 24</i> |
| CDK1 | <i>Cyclin-dependent kinase 1</i> |
| CMV-H1 | Hybride cytomegalovirus amplificateur H1 |
| CNE | Cellules neuroépithéliales |
| CO_2 | Dioxyde de carbone |
| CoAs | Complexe de coactivateurs |
| CoRs | Corépresseurs |
| CSN | Cellule souche neurale |
| CSNa | Cellule souche neurale activée |
| CSNq | Cellule souche neurale quiescente |
| DBD | <i>DNA-binding domain</i> , domaine de liaison à l'ADN DBD |
| DCLK1 ou DCAMKL1 | <i>Doublecortin-like kinase 1</i> , ou <i>doublecortin and calmodulin kinase-like 1</i> |
| DCX | <i>Doublecortin</i> |
| DHAP | Dihydroxyacétone phosphate |
| DIO1 ou D1 | Désiodase de type 1 |
| DIO2 ou D2 | Désiodase de type 2 |
| DIO3 ou D3 | Désiodase de type 3 |
| DIT | Di-iodotyrosine |
| DLL1 | <i>Delta-like protein 1</i> |
| DLP | <i>Dynamin-like proteins</i> |
| DLX2 | <i>Distal-Less Homeobox 2</i> |
| DMSO | Diméthylsulfoxyde |
| DRIP/TRAP | <i>Vitamin D receptor interacting protein/TR associated protein</i> |
| DRP1 | <i>Dynamin-related protein 1</i> |
| EB | Éthidium bromide |
| EGF | <i>Epidermal growth factor</i> , facteur de croissance épidermique |
| eGFP | <i>Enhanced green fluorescent protein</i> , protéine de fluorescence verte améliorée |
| EGFR | <i>Epidermal growth factor receptor</i> , récepteur au facteur de croissance épidermique |

| | |
|-------------------------------|---|
| FACS | <i>Fluorescent-assay cell sorting</i> , cytométrie en flux |
| FAD | Flavine adenine dinucléotide |
| FASN | <i>Fatty acid synthase</i> |
| FGF2 | <i>Fibroblast growth factor 2</i> , facteur de croissance des fibroblastes 2 |
| FIS1 | <i>Mitochondrial fission 1</i> |
| FITC | <i>Fluorescein isothiocyanate</i> , isothiocyanate de fluorescéine |
| FSC | <i>Forward scattered light</i> |
| G6P | Glucose-6-phosphate |
| GADP | Glycéraldéhyde-3-phosphate |
| GCL | <i>Granule cell layer</i> , couche de cellules granulaires |
| GDP | Guanosine diphosphate |
| GFAP | <i>Glial fibrillary acidic protein</i> , protéine acide fibrillaire gliale |
| GLUT | <i>Glucose transporter</i> |
| GPDH | Glycérol-3P déshydrogénase |
| GR | Glie radiaire |
| GRb | Glie radiaire basale |
| GTP | Guanosine triphosphate |
| H ₂ O ₂ | Peroxyde d'hydrogène |
| HDACs | Histones déacetylases |
| HES | <i>Hairy and enhancer of split</i> |
| HEt | Hydroéthidine |
| HIF1 α | <i>Hypoxia inducible factor alpha</i> , facteur induit par l'hypoxie alpha |
| HIF1 β | <i>Hypoxia inducible factor beta</i> , facteur induit par l'hypoxie beta |
| HIGD1a | <i>Hypoxia-induced gene domain protein-1a</i> |
| HT | Hormone thyroïdienne |
| HTT | Huntingtine |
| I ₂ | Diode |
| ICV | Injections intra cérébro-ventriculaires |
| IGF | <i>Insulin-like growth factors</i> , facteurs de croissance de type insuline |
| INF2 | <i>Inverted formin 2</i> |
| iPSC | <i>Induced pluripotent stem cell</i> , cellule souche pluripotente induite |
| LATs | Transporteurs d'acides aminés de type L |
| LBD | <i>Ligand-binding domain</i> , domaine de liaison au ligand |
| LDH | Lactate déshydrogénase |
| LDL | <i>Low density lipoproteins</i> , lipoprotéines a faible densité |
| LRP | <i>LDL receptor-related protein</i> |
| LRRK2 | <i>Leucine-rich repeat kinase 2</i> |
| LXR | <i>Liver X receptor</i> |
| MAPK ou ERK | <i>Mitogen-activated protein kinases</i> |
| MAPL | <i>Mitochondria-anchored protein ligase</i> |
| MARCH5 | <i>Membrane associated ring-CH-type finger</i> |
| Mash1 | <i>Mammalian achaete-scute homolog 1</i> |
| MBP | <i>Myelin basic protein</i> |
| MCD | Malonyl-CoA décarboxylase |
| MCT1, MCT2 | <i>Monocarboxylate transporter 1, 2</i> |
| MCT10 | <i>Monocarboxylate transporter 10</i> |
| MCT8 | <i>Monocarboxylate transporter 8</i> |
| MCTs | <i>Monocarboxylate transporters</i> , transporteurs de l'acide monocarboxylique |
| MFF | <i>Mitochondrial fission factor</i> |
| MFN1, MFN2 | Mitofusine 1, 2 |
| mGPDH | Glycérol-3P déshydrogénase mitochondriale |
| MiD49, 51 | <i>Mitochondrial dynamics proteins, 49 / 51 kDa</i> |
| MIG12 | <i>MID-1 interacting protein</i> |
| MIRO | <i>Mitochondrial Rho-GTPase</i> |
| MIT | Mono-iodotyrosine |
| MITOL | <i>Mitochondrial ubiquitin ligase</i> |

| | |
|-----------------------------------|---|
| MOG | <i>Myelin oligodendrocyte protein</i> |
| mTOR | <i>Mammalian target of rapamycin</i> |
| MTP18 | <i>Mitochondrial protein 18kDa</i> |
| Na,K-ATPases | Pompes sodium-potassium |
| NAA | N-acétyl-aspartate |
| NAD | Nicotinamide adénine dinucléotide |
| NADP | Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate |
| NCoR ou NCoR1 | <i>Nuclear corepressor</i> , corépresseur nucléaire des TRs |
| NG2 | <i>Chondroitin sulfate proteoglycan neuron-glia antigen 2</i> |
| NGN2 | <i>Neurogenin-2 mammalian achaetescute</i> |
| NICD | <i>Notch intracellular domain</i> , domaine intracellulaire de Notch |
| NIR | <i>Near infrared</i> , proche infra-rouge |
| nM | Nanomolaire |
| NOX | NADPH oxydase |
| NPC | <i>Neural precursor cell</i> , précurseur neuronal |
| NRF1, NRF2 | <i>Nuclear respiratory factors 1, 2</i> |
| O ₂ | Oxygène |
| O ₂ ⁻ | Anion superoxyde |
| OATP1C1 | <i>Organic-anion transporter polypeptide 1C1</i> |
| OATP | <i>Organic-anion transporter polypeptide</i> , transporteurs des anions organiques |
| OCT | <i>Optimal cutting temperature compound</i> |
| OCT4 | <i>Octamer-binding transcription factor 4</i> |
| OCVs | Organes circumventriculaires |
| OH | Groupement hydroxyle |
| OLIG2 | <i>Oligodendrocyte transcription factor 2</i> |
| OPA1 | <i>Optic atrophy 1</i> |
| OPC | <i>Oligodendrocyte precursor cell</i> , précurseur oligodendrocytaire |
| p300/CBP ou pCIP | <i>p300 cAMP response element binding (CREB) binding protein</i> |
| PBS | <i>Phosphate-buffered saline</i> , tampon phosphate salin |
| pCAF | <i>p300/CBP associated factor</i> |
| PDGFR α | <i>Platelet-derived growth factor receptor alpha</i> |
| PDH | Pyruvate déshydrogénase |
| PDK | Pyruvate déshydrogénase kinase |
| pDRP1 ^{S616} | <i>Dynamin-related protein 1</i> , phosphorylée sur le résidu sérine 616 |
| PFA | Paraformaldéhyde |
| PGC | <i>PGC related coactivator</i> |
| PGC1 α ou PPARGC1 α | <i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1α</i> |
| PGC1 β | <i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1β</i> |
| PH3 | Phospho-histone H3 |
| PHD | Prolyl hydroxylase |
| PI3K | Phosphoinositide 3-kinase |
| PKA | Protéine kinase A dépendante de l'AMPc |
| PLP | <i>Myelin proteolipid protein</i> |
| PPAR | <i>Peroxisome proliferator-activated receptor</i> |
| PSA-NCAM | <i>Neural cell adhesion molecule</i> , post-traductionnellement modifié avec des polymères d'acide sialique |
| PTP | Pore de transition de perméabilité |
| PTU | Propylthiouracile |
| Q ₁₀ | Ubiquinone |
| QH ₂ | Ubiquinol |
| qPCR | <i>Quantitative polymerase chain reaction</i> , réaction en chaîne par polymérase quantitative |
| R5P | Ribose-5-phosphate |
| RBPj | <i>Recombining binding protein suppressor of hairless</i> |
| RIA | <i>Radioimmunoassay</i> , dosage radio-immunologique |
| RMS | <i>Rostral migratory stream</i> , flux de migration rostral |

| | |
|-----------------|--|
| ROS | <i>Reactive oxygen species</i> , dérivés réactifs de l'oxygène |
| rT ₃ | <i>Reverse T₃</i> , T ₃ inversée |
| RXR | <i>Retinoid X receptor</i> , récepteur rétinol X |
| SEM | <i>Standard error of the mean</i> , erreur-type de la moyenne |
| SEN5P | <i>SUMO1/sentrin specific peptidase 5</i> |
| SGZ | <i>Sub-granular zone</i> , zone sous-granulaire de l'hippocampe |
| shARN | <i>Short hairpin ARN</i> , acide ribonucléique en épingle à cheveux |
| shDRP1 | shARN spécifique de DRP1 |
| SHH | Voie Sonic hedgehog |
| siRNA | <i>Small interfering RNA</i> , petit ARN interférent |
| SIRT1 | Sirtuine 1 |
| SMRT ou NCoR2 | <i>Silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptors</i> , corépresseur nucléaire des TRs |
| SNC | Système nerveux central |
| SOD | Superoxyde dismutase |
| SOX10 | <i>SRY-related HMG-box 10</i> |
| SOX2 | SRY-box 2 |
| SPOT14 ou THRSP | <i>Thyroid hormone responsive protein</i> |
| SRC | <i>Steroid receptor coactivator</i> |
| SRY | <i>Sex determining region Y</i> |
| SSC | <i>Side scattered light</i> |
| SVZ | <i>Subventricular zone</i> , zone sous-ventriculaire |
| T ₂ | Diiodothyronine |
| T ₃ | Triiodothyronine |
| T ₄ | Tétraiodothyronine ou thyroxine |
| TAF | <i>TATA binding protein (TBP) associated factor</i> , facteur associé aux protéines de liaison à la TATA box |
| TAP | <i>Transit amplifying progenitor</i> , progéniteur |
| TBG | <i>Thyroxine binding globulin</i> , globuline liant la thyroxine |
| TFAM | <i>Mitochondrial transcription factor A</i> |
| TIM | <i>Translocase of inner mitochondrial membrane</i> , transporteur de la membrane mitochondriale interne |
| TOM | <i>Translocase of outer mitochondrial membrane</i> , transporteur de la membrane mitochondriale externe |
| TOM20 ou TOMM20 | <i>Translocase of outer (mitochondrial) membrane 20</i> |
| TPO | Thyroperoxydase |
| TR | <i>Thyroid receptor</i> , récepteur aux HTs |
| TRE | <i>Thyroid response elements</i> , éléments de réponse aux HTs |
| TRH | <i>Thyrotropin-releasing hormone</i> , hormone thyrotrope |
| TTR | Transthyrétine |
| UCP1, 2, 3, 4 | <i>Uncoupling protein</i> , protéine découplante |
| VDAC | <i>Voltage-dependent anion channel</i> |
| VDR | <i>Vitamin D receptor</i> , récepteur à la vitamine D |
| VL | Ventricule latéral |
| VLDL | <i>Very low-density lipoproteins</i> , lipoprotéines à très faible densité |
| ΔΨ | Potentiel membranaire mitochondrial |
| μM | Micromolaire |

Avant-propos

Avant-propos

Les hormones thyroïdiennes jouent un rôle majeur dans le développement et la croissance de nombreux tissus aux stades fœtal et post-natal, et tout au long de la vie adulte. En effet, elles participent à la régulation de nombreux processus physiologiques, tels que les fonctions cardiaques, digestives, musculaires ou nerveuses, et plus globalement à l'équilibre métabolique au sein de l'organisme. Un manque en hormones thyroïdiennes lors du développement fœtal et post-natal précoce peut avoir de lourdes conséquences, allant jusqu'à un hypothyroïdisme congénital voir un « crétinisme » (Cao *et al.*, 1994). Cette maladie se caractérise notamment par un important retard mental, illustrant l'importance des hormones thyroïdiennes pour le développement cérébral. Le statut thyroïdien des femmes enceintes nécessite ainsi d'être étroitement surveillé pour pallier à ces problèmes neuro-développementaux. De nos jours, la supplémentation systématique en iode, nécessaire à la formation des hormones thyroïdiennes, a permis d'éradiquer en grande partie le crétinisme des pays développés. Les recommandations officielles de l'Union Européenne conseillent l'utilisation de sel complétement en iode depuis les années 1970 afin d'éviter les carences.

Pendant longtemps il a été admis que le cerveau, une fois sa formation et sa maturation achevée à la fin de l'adolescence, n'était plus en capacité de renouveler ses cellules à l'âge adulte. Cette idée est encore largement répandue dans la croyance populaire. Cependant, la formation de nouvelles cellules cérébrales a été mise en évidence dès la fin des années 1950 chez la souris adulte (Messier *et al.*, 1958), et dans les années 1960 dans l'hippocampe du rat adulte (Altman, 1962, Altman et Das, 1965a). La formation de nouveaux neurones chez l'adulte fut confirmée 20 ans plus tard chez le canari (Nottebohm, 1985), puis dans les années 1990 et 2000 chez le mammifère (Reynolds et Weiss, 1992, Palmer *et al.*, 1997, Doetsch *et al.*, 1999b, Doetsch *et al.*, 2002). On sait aujourd'hui que les hormones thyroïdiennes jouent un rôle primordial dans la formation et la croissance des cellules neurales adultes (Barres *et al.*, 1994, Lemkine *et al.*, 2005, López-Juárez *et al.*, 2012). Par ailleurs, de nombreuses études tendent à montrer que les perturbations du taux d'hormones thyroïdiennes, qui augmentent avec l'âge, sont associées avec le déclin cognitif et les maladies neurodégénératives associés au vieillissement (Remaud *et al.*, 2014). Ainsi, l'étude des mécanismes par lesquels les hormones thyroïdiennes contrôlent la neurogenèse chez l'adulte apparaît primordiale pour mieux appréhender les mécanismes assurant la réparation des lésions (pertes de neurones et/ou de cellules gliales), ceux-ci n'étant pas, ou pas assez, performants chez les patients atteints de ces maladies, et développer des traitements appropriés. Cela passe notamment par la prise en compte des effets que les hormones thyroïdiennes ont, non-seulement directement au niveau de la

régulation génique, mais aussi plus globalement sur le métabolisme cellulaire, qui change radicalement durant la différenciation et la maturation des cellules neurales.

Introduction

I. La signalisation thyroïdienne

L'ensemble des organismes pluricellulaires produisent des molécules jouant un rôle de messagers chimique dans l'organisme : les hormones. Chez les animaux, elles sont produites par différentes glandes, dites glandes endocrines, et transportées par la circulation sanguine jusqu'aux organes cibles, où elles agissent en tant que régulateurs physiologiques. Pour cela elles se fixent sur des récepteurs membranaires ou intracellulaires, activant ainsi des cascades de signalisation (suites d'activations ou d'inhibitions moléculaires) ou régulant directement l'expression de gènes spécifiques. On distingue trois grandes classes d'hormones : les eicosanoïdes dérivées des acides gras, comme la prostaglandine ; les stéroïdes, tels que les œstrogènes ou la testostérone ; et enfin les dérivés d'acides aminés, comprenant les hormones peptidiques comme l'hormone thyroïdienne (*thyrotropin-releasing hormone*, TRH), et les hormones dérivées d'un seul acide aminé modifié, telles que la thyroxine.

Les hormones thyroïdiennes (HTs) jouent un rôle majeur dans de nombreux processus physiologiques chez les vertébrés, tout au long de la vie, de l'embryon en cours de développement à l'adulte vieillissant. Elles interviennent notamment au cours du développement et de la fonction cérébrales, de la régulation du métabolisme ou encore du contrôle des systèmes cardiaque et pulmonaire. La thyroxine, ou tétra-iodothyronine (T_4), est la principale HT circulante. Elle est produite par la glande thyroïde, située à la base du cou chez les mammifères et formant deux lobes de part et d'autre de la trachée (Figure 2A). La thyroïde produit également la triiodothyronine (T_3), en plus petite quantité. La T_3 et la T_4 sont constituées du couplage de deux acides aminés de type tyrosine, formant la thyronine, et de trois (pour la T_3) ou quatre (pour la T_4) atomes d'iode, couplés aux noyaux aromatiques (Figure 1). La T_3 est considérée comme la principale forme active des HTs,

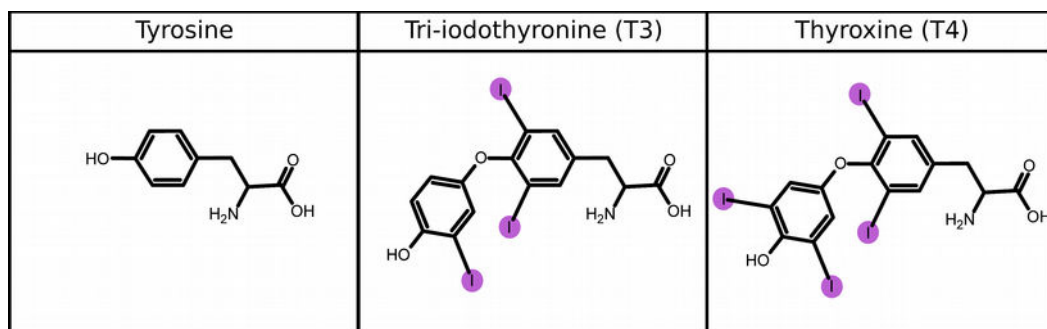


Figure 1: Structure chimique de la tyrosine et des principales hormones thyroïdiennes. Les HTs résultent de la condensation de deux acides aminés tyrosine. Le nombre et la position des atomes d'iode joue un rôle majeur dans l'activité des différentes formes. Ainsi la T_3 est la principale forme active.

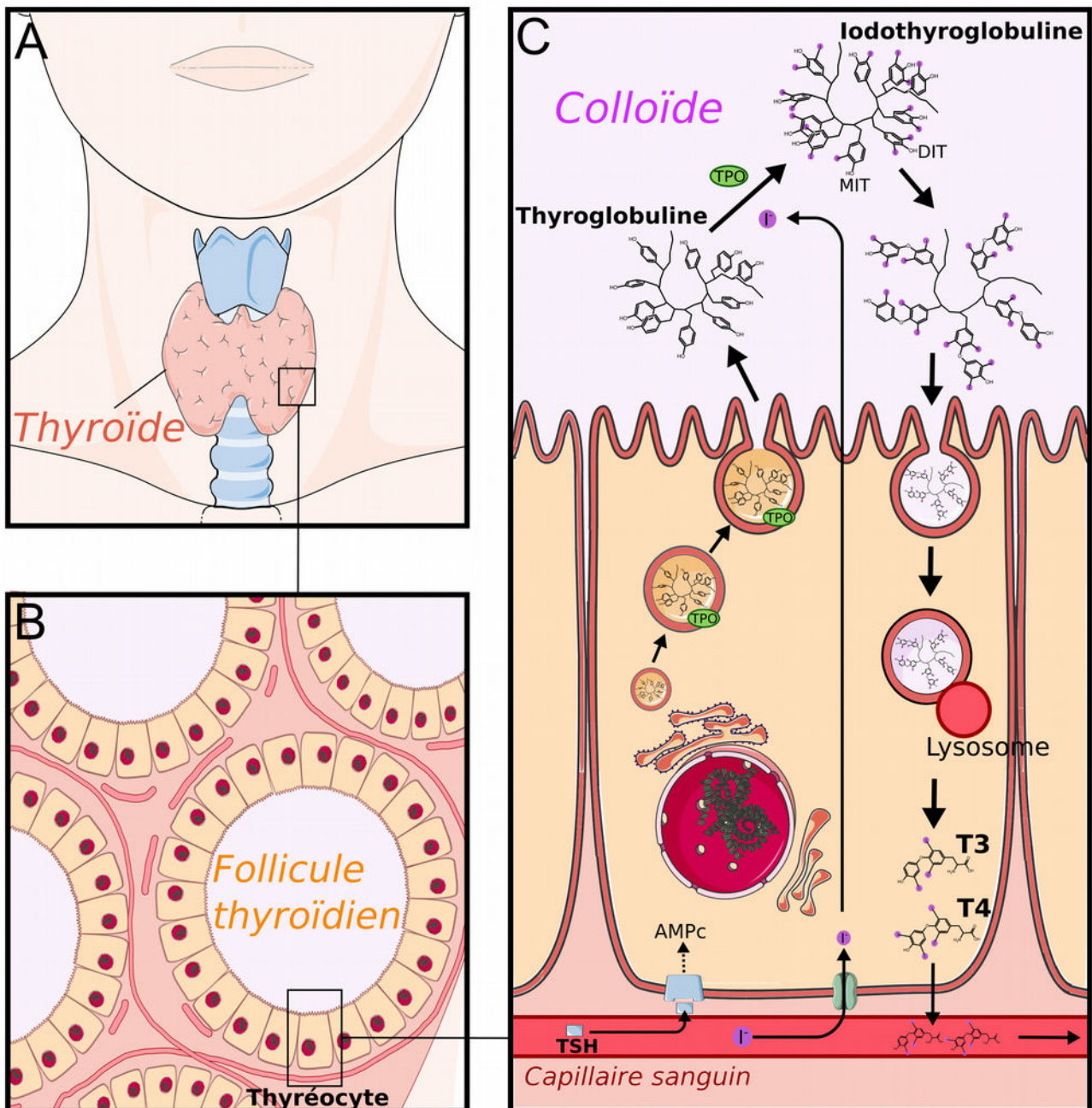


Figure 2: Biosynthèse des hormones thyroïdiennes. (A) Localisation de la thyroïde chez l'humain. (B) La thyroïde est constituée de cellules épithéliales, les thyrocytes, en contact avec des capillaires sanguins au niveau de leur pôle basal, et arrangés en follicules autour du colloïde. (C) Les ions iodure (I^-) présents dans la circulation sanguine pénètrent dans les thyrocytes par l'intermédiaire des symports sodium/iodure, et sortent par le pôle apical dans le colloïde par diffusion. La glycoprotéine thyroglobuline et l'enzyme thyroperoxydase (TPO) sont produites par les thyrocytes et sécrétées dans le colloïde. Là, la TPO catalyse l'iodation de la thyroglobuline au niveau de ses noyaux aromatiques, formant alors des résidus mono-iodotyrosine (MIT) et di-iodotyrosine (DIT). La TPO catalyse également le couplage des MITs et DITs en T4 (composé de deux DITs) et en T3 (composé d'un DIT et un MIT). La molécule de thyroglobuline iodée (iodothyroglobuline) est stockée dans le colloïde jusqu'à endocytose par un thyrocyte, où la fusion de la vésicule d'endocytose avec un lysosome permet la libération de T3 et T4. Les HTs traversent ensuite la membrane au niveau du pôle basal par diffusion ou via des transporteurs membranaires, et sont transportées dans la circulation sanguine. L'activité des thyrocytes est stimulée par la TSH sécrétée par l'hypophyse, qui se fixe à des récepteurs membranaires spécifiques au niveau du pôle apical. La TSH induit ainsi la production d'AMP cyclique (AMPc) par les thyrocytes, nécessaire notamment au fonctionnement des symports sodium/iodure. Le processus de biosynthèse des HTs est identique chez l'humain et chez la souris.

du fait de sa plus grande capacité à agir au niveau génomique via les récepteurs nucléaires aux HTs (*thyroid receptors*, TR).

I.1. Production des hormones thyroïdiennes

I.1.1. Biosynthèse

Les HTs sont produites par la glande thyroïde au niveau de structures spécifiques, les follicules thyroïdiens (Figure 2B). Ces follicules sont constitués de cellules épithéliales, appelées cellules folliculaires ou thyrocytes, et arrangées autour d'un compartiment extracellulaire riche en protéines, le colloïde. La base des thyrocytes est en contact avec des capillaires sanguins, tandis que leur pôle apical est orienté vers le colloïde (Figure 2C). La circulation sanguine apporte des ions iodures (I^-), nécessaires à la formation des HTs. Ceux-ci pénètrent dans les thyrocytes via des transporteurs spécifiques, les symports sodium/iodure, puis traversent le pôle apical jusqu'au colloïde par diffusion (Eskandari *et al.*, 1997).

Les thyrocytes produisent en grande quantité une glycoprotéine riche en acides aminés de type tyrosine, la thyroglobuline, précurseur des HTs. Après synthèse et glycosylation dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, la thyroglobuline est transportée par des vésicules sécrétoires jusqu'au pôle apical, où elle est libérée dans le colloïde par exocytose. Les vésicules sécrètent dans le même temps une enzyme, la thyroperoxydase (TPO) qui, une fois libérée dans la lumière colloïdale, va permettre l'oxydation des ions I^- en diiode (I_2), puis l'iodation des résidus tyrosine de la thyroglobuline. Ces réactions aboutissent à la formation de résidus mono-iodotyrosine (MIT) et di-iodotyrosine (DIT) (Figure 2C). La TPO catalyse ensuite le couplage oxydatif des MITs et des DITs : deux résidus DITs formeront une molécule de T_4 , et un résidu DIT couplé à un résidu MIT formeront une molécule de T_3 . La thyroglobuline iodée, composée de MITs, DITs, T_3 et T_4 , est stockée dans le colloïde jusqu'à son endocytose par une cellule folliculaire. La gouttelette de colloïde internalisée fusionne alors avec un lysosome, dont les enzymes hydrolysent la thyroglobuline iodée, permettant la libération de T_3 et T_4 dans le cytoplasme. Les MITs et DITs résiduels sont dégradés et l'iodure libéré. Le T_3 et le T_4 traversent ensuite la membrane basale des cellules folliculaires vers les capillaires sanguins, par diffusion (Abraham et Laura, 2015) ou à l'aide de transporteurs membranaires (Friesema *et al.*, 2008, Brix *et al.*, 2011). Une fois dans la circulation sanguine, les HTs sont transportées jusqu'aux organes cibles par des protéines de liaison (voir partie I.2.1). En plus de la T_4 et de la T_3 , une faible proportion d'HTs circulantes peut être présente sous d'autres formes. Citons les formes T_3 inversée (*reverse T_3* , rT_3), $3,5-T_2$ et $3,3'-T_2$, qui sont pour la

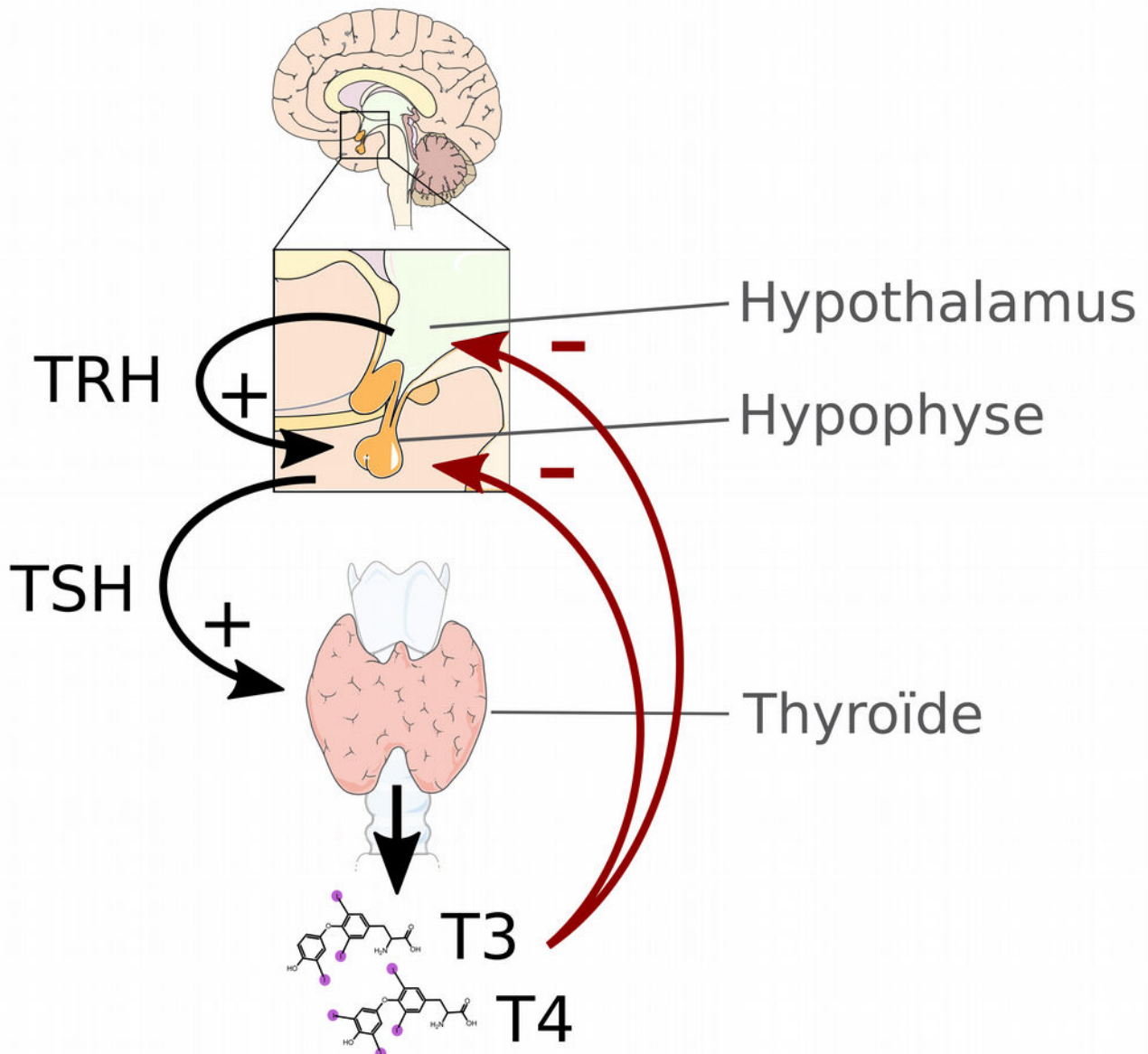


Figure 3: Axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien. La sécrétion des hormones thyroïdiennes est contrôlée au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse. L'hypothalamus produit l'hormone thyrotrope (thyrotropin-releasing hormone, TRH), une hormone peptidique qui stimule la production de l'hormone thyroïdostimulante (thyroid-stimulating hormone, TSH) par l'hypophyse. La TSH atteint la thyroïde par la circulation sanguine, où elle stimule la production des HTs. Au-delà d'une certaine concentration en HTs dans le sang, les HTs inhibent la production de TRH et de TSH, notamment via un TRE négatif sur la séquence promotrice du gène codant pour la TRH. Cette boucle de rétrocontrôle est identique chez l'humain et chez la souris.

plupart issues de réactions catalysées par des désiodases au niveau des tissus périphériques (voir [partie I.2.3.2](#)). Ces formes sont globalement pas ou peu actives, à l'exception de la 3,5-T₂ qui peut activer l'un des récepteurs aux HTs, TR β (Mendoza *et al.*, 2013, Goglia *et al.*, 2014, Lombardi *et al.*, 2015), et même activer la respiration mitochondriale de manière efficace (Lombardi *et al.*, 1998) (voir [partie III.6.1](#)).

I.1.2. Contrôle de la sécrétion des HTs par l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien

Les HTs jouant un rôle majeur pour le maintien de l'homéostasie générale de l'organisme, il est indispensable que leur synthèse et leur sécrétion soient finement régulées. Le système neuroendocrinien permet la régulation de la production des HTs par la thyroïde au niveau de deux régions cérébrales, l'hypothalamus et l'hypophyse. Les actions des trois organes forment ainsi une boucle de régulation, appelée axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien (Figure 3). Ainsi, l'hypothalamus produit une hormone peptidique, appelée hormone thyroïdienne ou thyrolibérine (*thyrotropin-releasing hormone*, TRH), qui va stimuler les cellules de l'hypophyse par l'intermédiaire d'un récepteur membranaire spécifique, et entraîner la production d'une autre hormone, la thyroïdostimuline ou thyrotropine (*thyroid-stimulating hormone*, TSH). La TSH est transportée par la circulation sanguine jusqu'aux cellules folliculaires de la thyroïde, où se trouvent les principaux récepteurs membranaires de la TSH. En se fixant à son récepteur, la TSH induit une cascade de signalisation qui aboutit à une augmentation des niveaux d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) (Figure 2C). La production d'AMPc par les cellules folliculaires stimule alors la formation d'HTs, notamment par une induction des symports sodium/iodure entraînant une augmentation de l'entrée d'ions I⁻. Les HTs exercent elles-mêmes un rétro-contrôle négatif sur leur production en inhibant la formation de TSH (Larsen, 1982) et de TRH (Koller *et al.*, 1987) lorsque leur concentration sanguine dépasse un certain seuil. À l'inverse, une faible concentration en HTs circulante stimule la production de TRH et de TSH. Au niveau de l'hypothalamus, la T₃ inhibe en effet directement la transcription du gène codant pour la TRH en agissant sur son promoteur (Lezoualc'h *et al.*, 1992, Guissouma *et al.*, 1998). La T₃ inhibe également plusieurs protéines impliquées dans la maturation de la TRH, régulant ainsi la production de l'hormone de manière indirecte (Perello *et al.*, 2006).

I.2. Régulations du transport et de la disponibilité en HTs

La T₃ est sécrétée en moins grande quantité que la T₄ par les follicules thyroïdiens (ratio 1:4 à 1:10 estimés). La demi-vie de la T₃ est estimée à moins de 24 heures, là où celle de la T₄ est de 5 à 7 jours. Or la T₃ possède une plus grande affinité pour les récepteurs nucléaires aux HTs. La T₄ est généralement considérée comme une pro-hormone qui nécessite d'être activée en T₃. Ainsi, la

disponibilité périphérique et l'activation des HTs au niveau local doivent être finement régulées pour assurer l'efficacité de la signalisation thyroïdienne.

I.2.1. Transport sanguin et protéines de liaison

Moins de 1 % des HTs circulantes se trouvent sous leur forme libre et sont directement disponibles pour agir au sein des tissus cibles. La grande majorité est ainsi transportée par des protéines plasmatiques. Les variations de concentration en HTs totale observées dans le sang sont largement dépendantes de changements dans la quantité de ces protéines de liaison. Cependant, les différences observées dans la concentration de ces protéines entre différents individus ne se traduisent pas par des changements au niveau métabolique (Refetoff, 1989, Pappa *et al.*, 2015). Dans les cas pathologiques d'insuffisance ou de mutation en protéines de liaison aux HTs, on peut mesurer un impact important sur la concentration de T₃ et T₄ circulantes totales, mais les concentrations de T₃ et T₄ libres restent en revanche normales (Stockigt, 1983, Refetoff *et al.*, 1996). On estime donc que leur fonction principale est de maintenir un pool assez important d'HTs circulantes pour que la quantité de T₄ et de T₃ libres disponibles puisse rester constante (Sunthornthepvarakul *et al.*, 1998).

Il existe trois protéines de liaison aux HTs principales : la globuline liant la thyroxine (*thyroxine-binding globulin*, TBG), l'albumine, et la transthyretine (TTR). L'albumine est de loin la plus abondante des trois, mais son affinité pour les HTs est la plus basse. À l'inverse, la TBG est présente en bien moins grande quantité dans le sang mais a une affinité très importante pour la T₃ et la T₄. Son affinité pour la T₄ est en effet environ 50 fois inférieure à celle de la TTR, et 7000 fois inférieure à celle de l'albumine (Voir [Table 1](#)). La TBG lie ainsi environ 75 % des HTs présentes dans le sérum. La TTR et l'albumine transportent l'essentiel des HTs circulantes restantes, la TTR liant principalement la T₄ et l'albumine majoritairement la T₃. En plus de leur rôle de tampon pour le maintien d'un taux constant en HTs libres, elles peuvent également avoir un rôle plus direct dans le transfert des hormones dans les cellules cibles. Cette fonction a en particulier été montrée pour la TTR, qui possède des récepteurs membranaires et peut être ainsi internalisée (Divino et Schussler, 1990a, Divino et Schussler, 1990b, Kuchler-Bopp *et al.*, 2000). Les LRP (*LDL receptor-related protein*) font par exemple partie de ces récepteurs pouvant internaliser la TTR, comme cela a été montré sur des trophoblastes humains *in vitro* (Landers *et al.*, 2013). Alors que l'albumine, la TBG et la TTR sont synthétisées toutes les trois dans le foie, la TTR est la seule à être également produite dans le cerveau, au niveau des plexus choroïdes (Stauder *et al.*, 1986) (voir [partie I.2.2.2](#)).

Une plus faible proportion des HTs peut également être transportée par des lipoprotéines (Benvenega *et al.*, 1988), et principalement par les lipoprotéines à haute densité (*high-density lipoprotein*,

HDL), qui lient 3 à 6 % des HTs circulantes (Table 1). Les lipoprotéines à faible et très faible densité (*low-density lipoproteins*, LDL et *very low-density lipoproteins*, VLDL), nommées ainsi pour leur ratio protéines/lipides plus faible, en lient moins de 0.2 % (Benvenga et Robbins, 1993). Certaines lipoprotéines peuvent également faciliter l'entrée et la sortie d'HTs des cellules, comme cela a été montré *in vitro* (Benvenga et Robbins, 1990, Benvenga et Robbins, 1998).

| | TBG | TTR | Albumine | HDL |
|--|--------------------|-------------------|---------------------|----------------------------------|
| Poids moléculaire (kDa) | 54 | 55 | 66.5 | 3000 à 5000 |
| Structure | Monomère | Tétramère | Monomère | Particules de 80 à 100 protéines |
| Nombre de sites de liaison aux HTs | 1 | 2 | 4 | - |
| Concentration sérique (mg/L) | 16 | 250 | 40000 | 400 à 600 |
| Constante d'association à la T ₄ (M ⁻¹) | 1x10 ¹⁰ | 2x10 ⁸ | 1.5x10 ⁶ | 1x10 ⁶ |
| Constante d'association à la T ₃ (M ⁻¹) | 1x10 ⁹ | 1x10 ⁶ | 2x10 ⁵ | <1x10 ⁵ |
| Demi-vie (jours) | 5 | 2 | 15 | - |
| Proportion approx. de T ₄ liée | 74% | 19% | 4% | 3% |
| Proportion approx. de T ₃ liée | 73% | <3% | 18% | 6% |

Table 1 : Propriétés des principales protéines liant les HTs. Paramètres déterminés chez l'homme. (Refetoff, 2000-2015, Benvenga *et al.*, 1988)

I.2.2. Régulation de la disponibilité cérébrale en HTs

I.2.2.1. Barrière hémato-encéphalique

Les fonctions cérébrales sont dépendantes d'un contrôle particulièrement strict de l'homéostasie locale. Les oscillations du pH sanguin, la présence éventuelle d'agents pathogènes ou de xénobiotiques, ou encore les variations de la disponibilité de certains nutriments tels que le potassium, peuvent perturber le fonctionnement normal des cellules du système nerveux central (SNC). La barrière hémato-encéphalique (BHE) constitue l'une des deux principales zones d'échanges moléculaires entre la circulation et les cellules cérébrales. Elle assure une régulation fine de l'entrée des nutriments et des hormones, dont les HTs, ainsi que l'évacuation des déchets métaboliques ou des neurotransmetteurs en excès (Redzic, 2011).

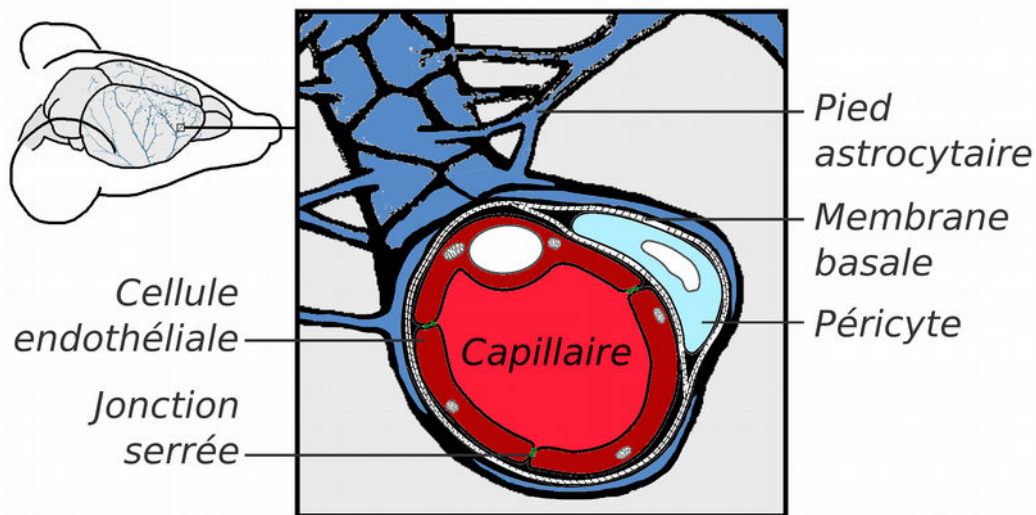


Figure 4: La barrière hémato-encéphalique. La barrière hémato-encéphalique (BHE) correspond aux cellules séparant la circulation sanguine des autres cellules cérébrales au niveau des capillaires sanguins. Elle est constituée de cellules endothéliales, directement en contact avec le sang, liées entre elles par des jonctions serrées et adhérentes et ne possédant pas de pores cytoplasmiques, limitant fortement le passage de molécules circulantes. Des péricytes permettent une protection supplémentaire grâce à leur activité de phagocytose. Les nutriments traversant la couche de cellules épithéliales et la membrane basale l'entourant pénètrent dans les pieds astrocytaires, constituant la dernière couche de la BHE. Les astrocytes peuvent alors les transmettre aux autres cellules du SNC.

La BHE est constituée des cellules endothéliales formant les capillaires sanguins, d'une membrane basale, de cellules de type péricycte, et des extrémités des prolongements des astrocytes, les pieds astrocytaires (Figure 4). Contrairement à la plupart des capillaires sanguins en périphérie, les capillaires de la BHE sont non-fenêtrés, c'est-à-dire que les cellules endothéliales qui les constituent ne possèdent pas de pores cytoplasmiques ni d'espaces intercellulaires. Ces dernières sont à l'inverse reliées par des jonctions serrées et des jonctions adhérentes qui restreignent très fortement la diffusion de molécules circulantes vers les tissus cérébraux. Les péricytes permettent une régulation supplémentaire de l'étanchéité des capillaires grâce à leur capacité de phagocytose, permettant l'élimination de molécules neurotoxiques qui auraient passé la couche endothéliale. Enfin, les pieds astrocytaires, en contact étroit avec la membrane basale qui entoure les cellules endothéliales, récupèrent les nutriments et permettent leur distribution aux autres cellules du SNC. Les HTs peuvent ainsi atteindre les cellules cérébrales via les astrocytes, en traversant le cytoplasme des cellules endothéliales de la BHE.

I.2.2.2. Plexus choroïde et liquide céphalo-rachidien

Les HTs peuvent également atteindre les cellules cérébrales via le liquide céphalo-rachidien (LCR), sécrété par des structures appelées « plexus choroïdes ». Les plexus choroïdes sont formés d'un feuillet de cellules épithéliales liées par des jonctions serrées, de capillaires sanguins et de tissu conjonctif (Figure 5). Ils sont situés dans chacun des quatre ventricules cérébraux et constituent avec le LCR une deuxième voie d'échanges moléculaires entre la circulation et les tissus cérébraux. Les cellules du plexus choroïde expriment fortement la TTR, et la sécrètent dans le LCR, permettant le transport des HTs vers les cellules bordant les ventricules (Schreiber *et al.*, 1990, Southwell *et al.*, 1993). La TTR constitue jusqu'à 25 % des protéines présentes dans le liquide céphalo-rachidien ventriculaire, où elle lie 80 % de la T_4 (Herbert *et al.*, 1986). L'invalidation du gène codant la TTR chez la souris entraîne une baisse très importante du taux de T_4 dans le LCR, à 14 % de la concentration constatée dans les souris contrôle (Palha *et al.*, 2000, Episkopou *et al.*, 1993).

Deux des ventricules cérébraux, les ventricules latéraux, sont bordés par une région cérébrale où la neurogenèse se maintient à l'âge adulte : la zone sous-ventriculaire (SVZ) (voir partie II). Richardson *et al.* ont montré que l'absence de TTR entraîne une diminution de l'apoptose dans la zone sous-ventriculaire de la souris adulte, de façon comparable à ce qui est observé chez des animaux hypothyroïdiens (Richardson *et al.*, 2007). Étant donné qu'une partie importante des cellules post-mitotiques de la SVZ adulte entre habituellement en apoptose chez l'adulte en conditions contrôles (Morshead et van der Kooy, 1992), les auteurs interprètent cette diminution de la mort cellulaire comme pouvant être la conséquence d'un défaut de prolifération des cellules de la

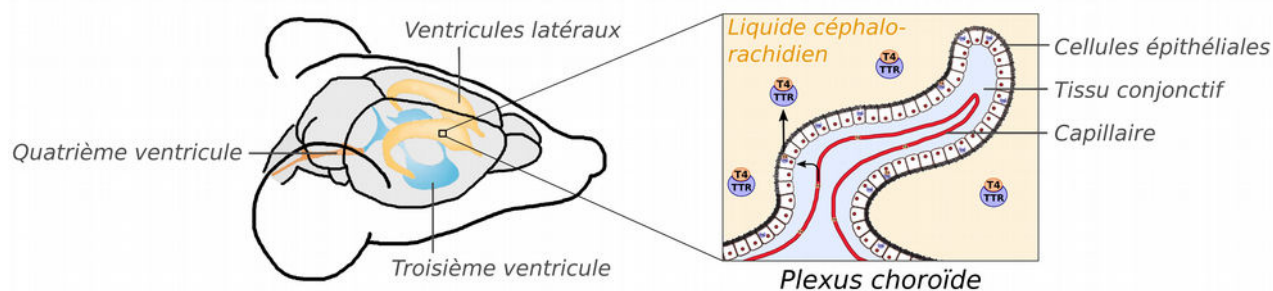


Figure 5: Les ventricules cérébraux et le plexus choroïde. Quatre ventricules cérébraux sont présents dans le cerveau des mammifères : les deux ventricules latéraux, en bordure desquels se trouvent les cellules de la niche neurogénique appelée zone sous-ventriculaire ; le troisième ventricule, au niveau duquel se situe l'hypothalamus ; et le quatrième ventricule, situé entre le cervelet et le tronc cérébral. Les ventricules cérébraux sont remplis de liquide céphalo-rachidien, sécrété au niveau de structures cellulaires appelées plexus choroïdes. Les plexus choroïdes sont constitués d'un feuillet de cellules épithéliales liées entre elles par des jonctions serrées, de tissu conjonctif et de capillaires sanguins. La T_4 circulante se fixe sur les protéines de liaison transthyréline (TTR), fortement exprimées par les cellules des plexus choroïdes, et peut ainsi pénétrer dans le liquide céphalo-rachidien. La TTR est ainsi essentielle à la disponibilité en HTs au niveau ces cellules bordant les ventricules cérébraux.

niche neurogénique. La TTR a donc une importance toute particulière dans le LCR où elle garantit une bonne disponibilité en HTs aux cellules bordant les ventricules, et notamment aux cellules de la SVZ impliquées dans la neurogenèse adulte. Cependant, l'implication de la TTR dans la différenciation des cellules de la SVZ n'est pas encore connue ; il pourrait notamment être intéressant d'étudier le profil d'expression de la TTR dans les cellules de cette zone.

I.2.3. Régulation de la disponibilité cellulaire en HTs

I.2.3.1. Transporteurs membranaires

On a longtemps cru que l'entrée des HTs dans le cytoplasme s'effectuait uniquement par diffusion passive au travers des membranes. Mais plusieurs études ont démontré l'importance de l'ATP pour le transport intracellulaire des HTs, prouvant l'existence de mécanismes de transport actif des hormones (Rao *et al.*, 1976, Krenning *et al.*, 1978). Des protéines spécifiques du transport membranaire des HTs ont par la suite été découvertes. Elles appartiennent principalement à la famille des transporteurs de l'acide monocarboxylique (*Monocarboxylate transporters*, MCTs) et à celle des transporteurs des anions organiques (*Organic-anion transporting polypeptides*, OATPs). Au sein de la première famille, MCT10 possède une forte affinité pour la T₃ et est très largement distribué dans les tissus de l'organisme (Friesema *et al.*, 2008). Il peut également transporter la T₄, avec une affinité moindre (Friesema *et al.*, 2008). Cependant aucune mutation de ce gène n'a été liée à une pathologie liée au métabolisme thyroïdien, et son rôle physiologique reste encore à déterminer (Müller *et al.*, 2014). Il est de plus peu exprimé au niveau cérébral (Müller et Heuer, 2014).

Dans la même famille de transporteurs, MCT8 est le transporteur des HTs le mieux caractérisé. Il est synthétisé dans le foie, le rein, le cœur et le cerveau, où il est présent au niveau des plexus choroïdes, de la barrière hémato-encéphalique et des neurones (Heuer *et al.*, 2005, Ceballos *et al.*, 2009, Friesema *et al.*, 2006, Braun *et al.*, 2011). Il a été montré *in vitro* que MCT8 permet le transport de la forme T₃ et de la forme T₄ avec une affinité similaire (Friesema *et al.*, 2003). Mais au niveau cérébral il semble que sa fonction soit principalement impliquée dans le transport de la T₃, en tout cas chez la souris (Trajkovic *et al.*, 2007, Ceballos *et al.*, 2009). Certaines mutations du gène *MCT8* chez l'homme sont à l'origine du syndrome d'Allan-Herndon-Dudley, qui se caractérise par de graves retards psychomoteurs dus à une entrée insuffisante de T₃ dans les neurones, et par une forte concentration plasmatique de T₃ (Dumitrescu *et al.*, 2004, Friesema *et al.*, 2004). De façon surprenante, aucun phénotype neurologique particulier n'a en revanche été observé chez des souris

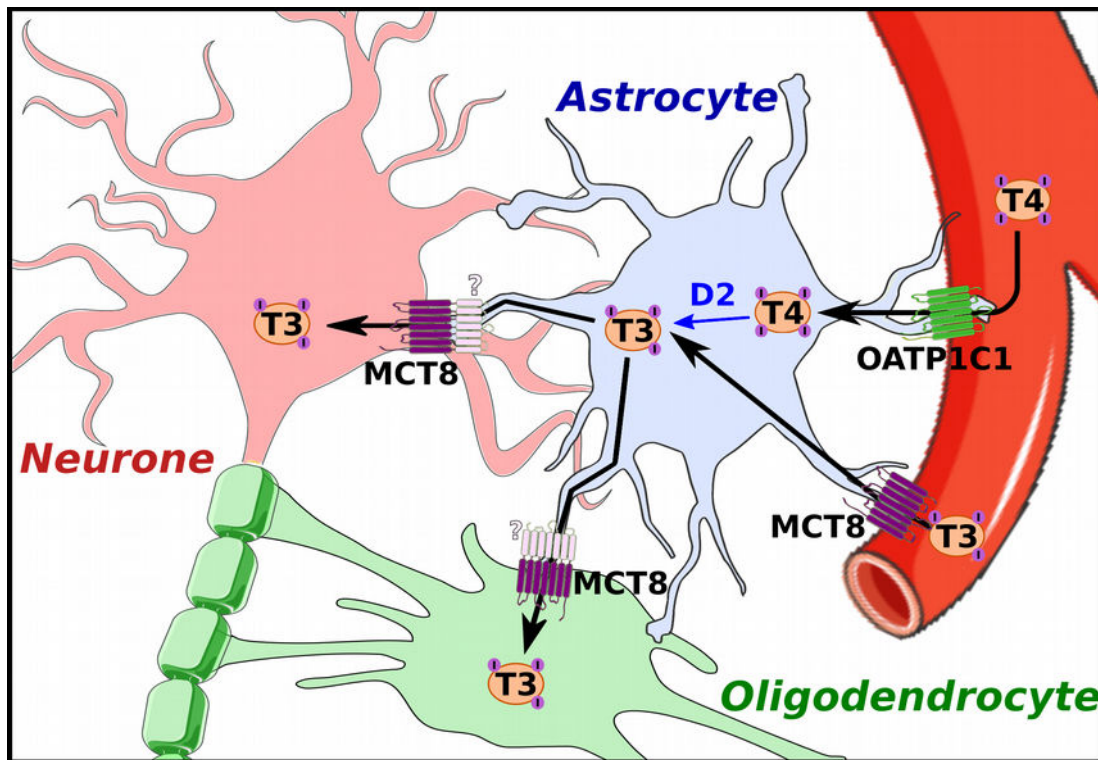


Figure 6: Les transporteurs membranaires des hormones thyroïdiennes dans les cellules du cerveau murin adulte. Les cellules de la barrière hémato-encéphalique expriment les transporteurs OATP1C1 et MCT8. OATP1C1 permet l'entrée de la T₄ circulante dans les astrocytes, tandis que MCT8 permet principalement le transfert de la T₃. Les astrocytes expriment la désiodase de type 2 (DIO2 ou D2), qui permet l'activation de la T₄ en T₃. La D2 n'est pas exprimée par les neurones ou par les oligodendrocytes. Les astrocytes peuvent ensuite transmettre la T₃ aux neurones et aux astrocytes, où elle pourra activer ses gènes cibles. L'entrée de la T₃ dans les neurones et les oligodendrocytes se fait notamment via MCT8, cependant d'autres transporteurs tels que LAT2 pourraient être impliqués. Les transporteurs permettant la sortie de la T₃ des astrocytes n'ont pas encore été identifiés.

dont le gène *Mct8* a été invalidé (Roberts *et al.*, 2008, Wirth *et al.*, 2009). Ces souris *Mct8 knock-out* (*Mct8* KO) présentent pourtant une diminution très substantielle de l'entrée de T₃ dans le système nerveux central (SNC) (Trajkovic *et al.*, 2007, Ceballos *et al.*, 2009). Mais l'entrée de T₄ au niveau cérébral est en revanche peu impactée, et la concentration de T₃ cérébrale n'est que légèrement réduite chez ces animaux. Un transporteur autre que MCT8 permet donc nécessairement le passage de la T₄ à travers la BHE ou le LCR chez la souris, expliquant, grâce à une conversion locale de T₄ en T₃, l'absence de symptômes neurologiques chez les *Mct8* KO.

Plusieurs transporteurs de la famille des OATPs peuvent prendre en charge les HTs. Parmi ceux-ci, OATP1C1, qui possède une haute affinité pour la T₄ et la rT₃, est exprimé presque exclusivement dans le cerveau chez la souris, au niveau des pieds astrocytaires de la BHE et au niveau des cellules du plexus choroïde (Müller et Heuer, 2014). Il n'est en revanche pas détecté, ou détecté de façon très faible, au niveau des cellules de la BHE chez le singe (Ito *et al.*, 2011) et chez l'homme (Roberts *et*

al., 2008). Cette observation a permis d'émettre l'hypothèse selon laquelle la T₄ peut être transportée dans les astrocytes du cerveau murin grâce à OATP1C1, permettant ainsi de compenser l'absence de MCT8 quand celui-ci est inactivé, ce qui n'est pas le cas chez l'homme. Cette hypothèse a été confirmée par l'étude de souris doublement KO pour *Mct8* et pour *Oatp1c1*, ces dernières présentant une forte réduction de l'entrée de T₃ comme de T₄ dans le CNS, associée à des troubles cérébraux et locomoteurs similaires à ceux observés chez les patients atteints du syndrome d'Allan-Herndon-Dudley (Mayerl *et al.*, 2014). Ainsi, chez la souris, la T₄ peut être transportée via OATP1C1 dans les astrocytes, où elle peut par la suite être activée en T₃ grâce à l'expression de la désiodase de type 2 (Guadaño-Ferraz *et al.*, 1997, Tu *et al.*, 1999, Bárrez-López *et al.*, 2017) (Figure 6). Cette activation de la T₄ en T₃ au niveau astrocytaire permet par la suite une distribution de la T₃ vers les cellules environnantes, les neurones et les oligodendrocytes, notamment via MCT8 (Gereben *et al.*, 2008, Morte et Bernal, 2014) (Figure 6). OATP1A2 pourrait également jouer un rôle dans le transport de la T₃ et de la T₄ au travers de la barrière hémato-encéphalique (van der Deure *et al.*, 2010).

Certains transporteurs d'acides aminés de type L peuvent également participer au transport des HTs. Parmi eux citons LAT2, qui est exprimé au niveau du plexus choroïde chez la souris au stade post-natal (Núñez *et al.*, 2014), et au niveau des astrocytes (Blondeau *et al.*, 1993) et des neurones (Chantoux *et al.*, 1995) chez le rat, également en post-natal. LAT2 permet un transport préférentiel de la T₂ et dans une moindre mesure de la T₃, mais pas de la T₄ (Kinne *et al.*, 2015). Il pourrait participer au transport de la T₃ dans les neurones en complément de MCT8 durant le développement embryonnaire murin (Braun *et al.*, 2010). Cependant les données manquent à l'heure actuelle pour conclure sur un éventuel rôle de LAT2 chez l'adulte.

I.2.3.2. Désiodases

L'activation ou l'inactivation des HTs a lieu en majeure partie au niveau cellulaire grâce à l'action d'enzymes spécifiques qui catalysent la suppression d'atomes d'iode. Il existe trois désiodases chez les vertébrés, nommées DIO1, DIO2 et DIO3 (ou D1, D2 et D3). Chacune catalyse la désiodation à des positions précises des cycles aromatiques des HTs. Ainsi la DIO2 permet la désiodation de l'anneau externe des HTs, métabolisant principalement la T₄ en T₃, ce qui correspond à la principale réaction d'activation des HTs. Elle permet aussi la transformation de la rT₃ en 3,3'-T₂ et celle de la T₃ en 3,5-T₂, composés souvent considérés comme pas ou peu actifs (Bianco, 2011) (Figure 7). La DIO3 est, elle, spécifique de l'anneau interne, métabolisant la T₄ en rT₃ et la T₃ en 3,3'-T₂, deux réactions d'inactivation des HTs (Bianco, 2011). Enfin la DIO1 permet la suppression des atomes d'iodes présents sur les deux anneaux. Elle est en conséquence considérée comme une enzyme

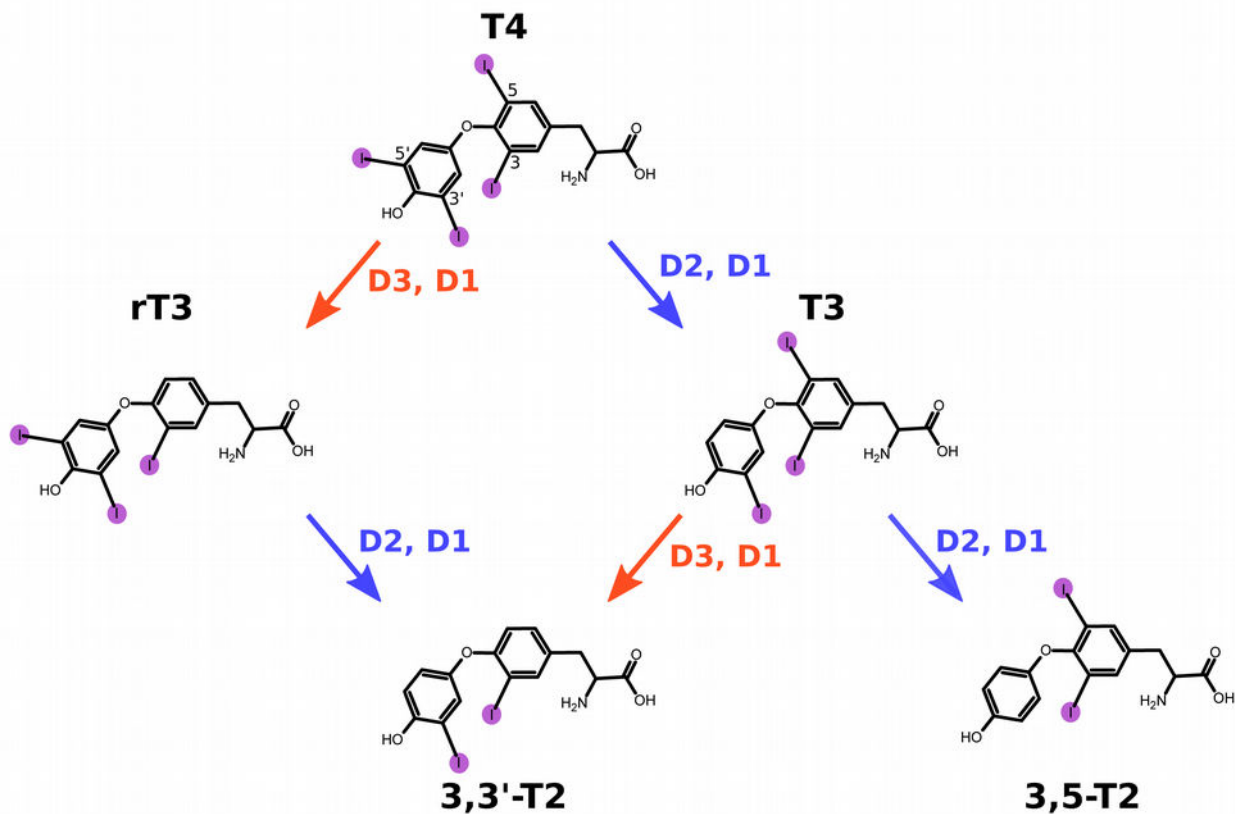


Figure 7: Désiodation des hormones thyroïdiennes. La désiodase de type 2 (DIO2 ou D2) catalyse la suppression des atomes d'iode présents sur les anneaux externes des HTs. Elle permet ainsi l'activation de la T4 en T3, ainsi que la transformation de la T3 en 3,5-T2 et de la rT3 en 3,3'-T2. La désiodase de type 3 (DIO3 ou D3) n'agit en revanche que sur l'anneau interne, permettant l'inactivation de la T4 en rT3 et de la T3 en 3,3'-T2. Enfin la désiodase de type 1 (DIO1 ou D1) catalyse la suppression des atomes d'iodes des deux anneaux. Aucune activité de la D1 n'a jusqu'à présent été détectée au niveau cérébral.

principalement impliquée dans les réactions de dégradation des HTs, permettant aux atomes d'iode libérés d'être à nouveau utilisés (Darras *et al.*, 2015).

L'expression différentielle des désiodases en fonction des tissus et des types cellulaires est un rouage essentiel de la signalisation thyroïdienne. Ainsi la DIO1 fournit la principale activité de désiodation au niveau du foie et du rein (Bates *et al.*, 1999, Wassen *et al.*, 2004), mais aucune activité de l'enzyme n'a jusqu'à présent été détectée au niveau cérébral, et ce malgré la présence de son ARN messager dans le cerveau de certains mammifères (Bates *et al.*, 1999, Chan *et al.*, 2002). A l'inverse, la DIO2 et la DIO3 sont largement exprimées et actives dans le cerveau. La production de T₃ dans le cerveau des mammifères est en majeure partie déterminée par l'activité de la DIO2, alors que l'expression de la DIO3 protège le cerveau d'un excès de T₃ (Guadaño-Ferraz *et al.*, 1997, Tu *et al.*, 1999). L'expression des deux désiodases peut ainsi varier d'un type cellulaire à l'autre, et en fonction de la période de développement de l'organisme. Il a par exemple été montré que le

cervelet exprime fortement la DIO3 et faiblement la DIO2 en fin de gestation et jusqu'au jour post-natal P5, moment à partir duquel le taux d'expression des deux désiodases s'inverse (Peeters *et al.*, 2013) (voir II.4.1.).

L'expression de la DIO2 a principalement lieu dans les astrocytes, comme montré chez les rats nouveau-nés (Guadaño-Ferraz *et al.*, 1997, Riskind *et al.*, 1987). Il est généralement admis que cette prédominance de l'expression de la DIO2 au niveau astrocytaire est maintenue à l'âge adulte (Morte et Bernal, 2014), permettant aux astrocytes de produire de la T₃ qu'ils transmettent par la suite aux neurones. Cela a notamment été montré *in vitro* grâce à des expériences de co-cultures de neurones et d'astrocytes issus de gliome et de neuroblastome humains : en présence de T₄, les auteurs ont montré une augmentation de l'activité de la DIO2 et de la production de T₃ dans les astrocytes, entraînant par la suite une augmentation de la transcription de gènes cibles des HTs dans les neurones (Freitas, 2000). Mais de façon surprenante, des souris *Dio2* KO ne présentent que de légères altérations neurologiques, suggérant l'existence de mécanismes compensatoires (Galton *et al.*, 2007). DIO3 est à l'inverse exprimé dans la membrane des neurones chez le rat nouveau-né (Escámez *et al.*, 1999) et adulte (Tu *et al.*, 1999). Les neurones semblent donc au moins en partie dépendants de l'activation de la T₄ en T₃ par les astrocytes, et du transfert de la T₃ via les transporteurs membranaires (Rodriguez *et al.*, 2005, Guadaño-Ferraz *et al.*, 1999) (Figure 6). Au niveau neuronal, la T₃ pourra alors activer la transcription des gènes cibles de HTs, et sera dégradée en cas d'excès grâce à l'expression de la DIO3.

I.2.4. Mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes

La signalisation thyroïdienne peut influencer le fonctionnement cellulaire à différents niveaux. L'activation et l'inhibition de gènes cibles grâce à l'interaction des HTs avec leurs récepteurs nucléaires constitue leur mode d'action le mieux décrit. Si ces modulations géniques ont principalement lieu au niveau du génome nucléaire, cela a également été décrit au niveau du génome mitochondrial, où les HTs interagissent avec des récepteurs spécifiques. Enfin, les HTs peuvent aussi agir par des voies de régulation non-génomiques, notamment par l'intermédiaire de récepteurs membranaires.

I.2.4.1. Actions génomiques

I.2.4.1.1. Récepteurs nucléaires

Les actions génomiques des HTs ont lieu grâce à leur interaction avec les récepteurs nucléaires aux HTs (*thyroid hormones receptors*, TRs). L'existence de protéines liant la T₃ au niveau du noyau a été démontrée dès les années 1970 (Samuels *et al.*, 1974), et leur capacité à moduler l'expression de gènes cibles a été mise en évidence une dizaine d'années plus tard (Oppenheimer, 1985). Deux isoformes des TRs ont par la suite rapidement été identifiés : TR α (Sap *et al.*, 1986, Weinberger *et al.*, 1986), puis TR β l'année suivante (Thompson *et al.*, 1987, Sato *et al.*, 1987).

a. Structure

Comme tous les membres de la super-famille des récepteurs nucléaires, les TRs sont constitués d'une chaîne polypeptidique organisée en 5 domaines fonctionnels (Ribeiro *et al.*, 1995) (Figure 8). Le domaine N-terminal (domaine A/B) est un domaine variable en termes de taille et de séquence, qui donne leur spécificité aux isoformes TR α et TR β . Il contient plusieurs domaines d'activation, permettant la liaison avec des protéines corégulatrices de l'activité du récepteur. Il est suivi du domaine de liaison à l'ADN (*DNA-binding domain*, DBD, ou domaine C), hautement conservé entre les isoformes. Ce dernier est constitué de deux structures en doigts de zinc, qui permettent au TR de se lier à l'ADN au niveau de séquences spécifiques appelées « éléments de réponse aux HTs » (*Thyroid response elements*, TRE). Le DBD permet également la dimérisation du TR avec un co-récepteur (Glass, 1994). Le domaine D, ou domaine charnière, donne une certaine flexibilité au récepteur, et peut également jouer un rôle dans la dimérisation. Le domaine de liaison au ligand (*ligand-binding domain*, LBD, ou domaine E), situé avant la région C-terminale (domaine F), est un domaine très conservé qui permet non seulement la fixation du ligand, mais est aussi essentiel à la dimérisation et au recrutement de coactivateurs ou corépresseurs de la transcription grâce à un domaine spécifique, dit de fonction d'activation 2 (AF2). Dans les cas d'activation de la transcription par la T₃, la fixation du ligand sur le TR entraîne le repliement de la région C-terminale, permettant le recrutement de coactivateurs (Wagner *et al.*, 1995). À l'inverse, lorsque la T₃ n'est pas liée au récepteur (on parle alors d'apo-récepteur, ici d'apo-TR), la partie C-terminale laisse le site de liaison ouvert, et cette conformation permet le recrutement de corépresseurs.

b. Isoformes

Les deux isoformes des TRs, TR α et TR β , sont issus de la transcription de deux gènes différents, *Thra* et *Thrb*, respectivement. Chacun de ces gènes peut générer plusieurs isotopes par épissage alternatif (Figure 8) : TR α 1, TR α 2, TR α 3, TR $\Delta\alpha$ 1 et TR $\Delta\alpha$ 2 pour *Thra*, et TR β 1, TR β 2, TR β 3 et TR $\Delta\beta$ 3 pour *Thrb*. Parmi les isotopes de TR α , seul TR α 1 est un récepteur fonctionnel capable de fixer la T₃, régulant l'expression de nombreux gènes. TR α 2 et TR α 3 sont deux variants d'épissage

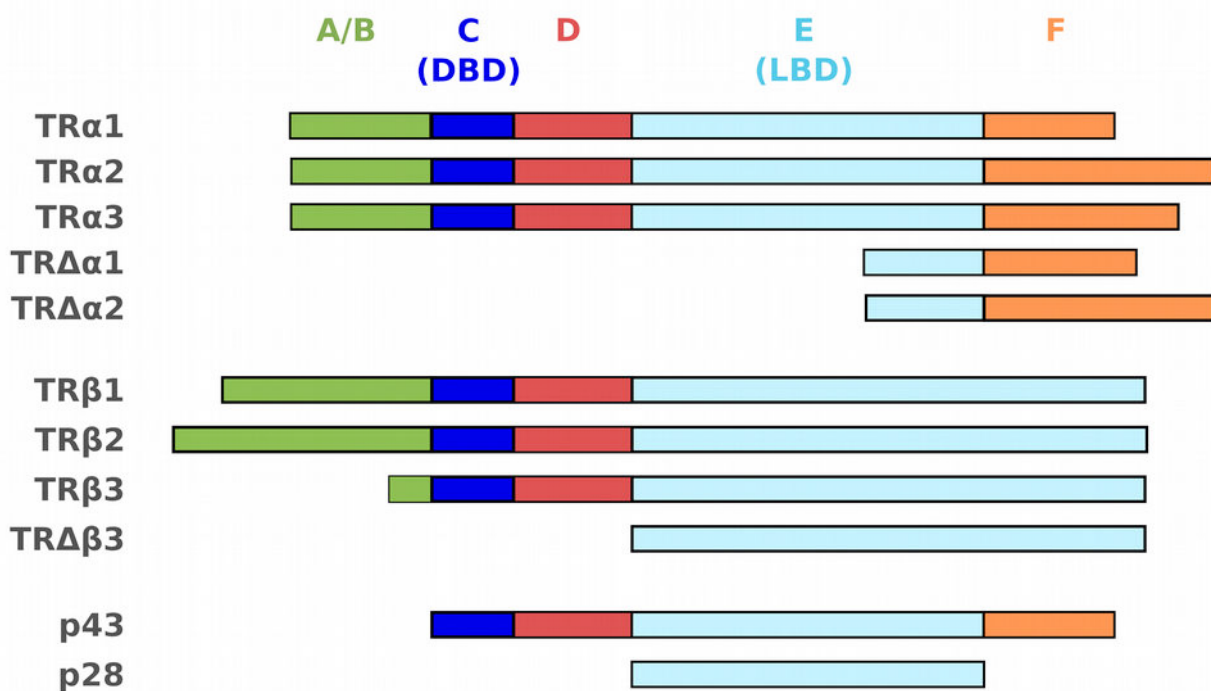


Figure 8: Domaines fonctionnels des différents récepteurs aux hormones thyroïdiennes. Les récepteurs aux HTs (thyroid receptors, RTs) peuvent comprendre jusqu'à cinq domaines. Le domaine N-terminal (A/B) permet la liaison avec des corégulateurs, le domaine C ou DBD (DNA binding domain) permet la liaison à la séquence cible d'ADN, appelée élément de réponse aux HTs (thyroid response element, TRE), et le domaine E ou LBD (ligand binding domain) permet la liaison du ligand (T₃), ainsi que la dimérisation et le recrutement de corégulateurs. Les domaines C et E ont une séquence en acides aminés très conservée entre les différents TRs. La liaison de la T₃ entraîne un changement de conformation du TR, avec un repliement du domaine F permettant le recrutement de coactivateurs. La conformation ouverte du domaine F permet en revanche le recrutement de corépresseurs. Tous les isoformes TR β peuvent lier la T₃, mais TR $\Delta\beta$ 3 ne peut pas se fixer à l'ADN. TR α 1 est le seul isotype α actif au niveau nucléaire, TR α 2 et 3 ne lient pas la T₃ et les formes tronquées TR $\Delta\alpha$ 1 et 2 lient la T₃ mais pas l'ADN. P43 et p28 sont également des variants d'épissage de TR α , présents au niveau mitochondrial. p43 lie la T₃ et permet l'activation de gènes cibles mitochondriaux p28 lie également la T₃ mais pas les TREs, et sa fonction reste encore largement à élucider.

qui ne lient pas la T₃ et ne régulent pas l'expression de gènes (Mitsubishi *et al.*, 1988). Les deux formes tronquées de TR α , TR $\Delta\alpha$ 1 et TR $\Delta\alpha$ 2, sont transcrites à partir d'un promoteur alternatif interne à *Thra* (Chassande *et al.*, 1997). Elles ne possèdent pas de domaine N-terminal ni de DBD, mais peuvent lier certaines formes d'HTs et agir en tant que régulateurs négatifs des HTs (Plateroti *et al.*, 2001, Davis *et al.*, 2015). Les isoformes TR β ont des tailles et séquences différentes au niveau de leur extrémité N-terminale, mais peuvent toutes lier la T₃ (Williams, 2000). La forme tronquée TR $\Delta\beta$ 3 n'a pas de domaine N-terminal ni de DBD, mais possède toujours une activité T₃-dépendante (Williams, 2000, Harvey *et al.*, 2007).

Deux autres formes tronquées de TR α sont présentes dans les mitochondries, p43 et p28 (Wrutniak *et al.*, 1995, Wrutniak-Cabello *et al.*, 2001), nommées ainsi en raison de leur poids moléculaire de

43 et 28 kDa, respectivement. p43 ne possède pas de domaine N-terminal A/B, mais contient bien un domaine de liaison à l'ADN et un domaine de liaison au ligand (Carazo *et al.*, 2012, Mavinakere *et al.*, 2012) (Figure 8). Il reconnaît de manière spécifique les séquences TRE (Wrutniak *et al.*, 1995), et lie la T₃ avec une affinité comparable à celle du récepteur TRα1 (Casas *et al.*, 1999), permettant la synthèse de protéines mitochondriales et une augmentation de la biogenèse mitochondriale (Wrutniak *et al.*, 1995, Casas *et al.*, 1999, Rochard *et al.*, 2000, Grandemange *et al.*, 2005, Seyer *et al.*, 2011) (voir partie III.6.1.). p28 en revanche ne possède ni domaine A/B ni domaine de liaison à l'ADN, mais contient un domaine de liaison au ligand (Wrutniak-Cabello *et al.*, 2001). Son affinité pour la T₃ est plus importante que celle de p43 ou de TRα1 (Pessemesse *et al.*, 2014), mais l'influence de p28 au niveau mitochondrial reste pour l'heure mal connue.

c. Dimérisation

Les TRs peuvent se lier à l'ADN sous forme de monomères, d'homodimères ou d'hétérodimères (Lazar *et al.*, 1991). L'hétérodimérisation des TRs avec le récepteur rétinoloïde X (*retinoid X receptor*, RXR) semble être la combinaison la plus fréquente (Chatonnet *et al.*, 2012, Ramadoss *et al.*, 2014, Grøtved *et al.*, 2015). Cette dimérisation permet une stabilisation de la liaison du complexe TR/RXR sur les TREs en absence ou en présence de T₃, tandis que les homodimères de TRs sont déstabilisés en présence de T₃ (Yen *et al.*, 1992, Zhang *et al.*, 1992, Wong and Shi, 1995). RXR est également le partenaire d'hétérodimérisation de nombreux autres récepteurs nucléaires, tels que le récepteur à la vitamine D (*vitamin D receptor*, VDR), PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*) ou encore LXR (*liver X receptor*). Les TRs et les autres partenaires de RXR peuvent ainsi entrer en compétition, permettant des phénomènes de régulations croisées entre les voies de signalisation des différents récepteurs (Hashimoto *et al.*, 2006, Araki *et al.*, 2005). Une partie des hétérodimères que forme RXR sont dits « permissifs », c'est-à-dire qu'ils permettent aux ligands des deux partenaires de se fixer (Shulman *et al.*, 2004, Kojetin *et al.*, 2015). Dans ce cas, un ligand spécifique de RXR peut activer l'hétérodimère même en absence du ligand de son partenaire, et la liaison du ligand de chaque récepteur provoque une réponse amplifiée (Shulman *et al.*, 2004). À l'inverse, les hétérodimères TR/RXR sont généralement considérés comme « non-permissifs », seul le ligand du TR pouvant se fixer (Forman *et al.*, 1995). Certaines études ont cependant montré une permissivité partielle du complexe TR/RXR dans certains types cellulaires tels des lignées de cellules hypophysaires ou des cellules cancéreuses (Castillo *et al.*, 2004, Mengeling et Furlow, 2015, Li *et al.*, 2002).

d. Éléments de réponse aux HTs

Les éléments de réponse aux hormones sont le plus souvent constitués de deux motifs de six nucléotides, situés directement l'un à la suite de l'autre ou séparés de quelques nucléotides. Les motifs peuvent être configurés en répétition directe (*direct repeat*, DR), en palindrome inversé (*inverted palindrome*, IP) ou en palindrome (Pal). Les séquences nucléotidiques cibles des TRs (TRE) sont généralement composées de deux demi-sites de séquence consensus A(/G)GGTC(/T/A)A arrangés en tandem (Williams *et al.*, 1994, Yen, 2001) (Figure 9), et sont habituellement situées dans les régions régulatrices en 5' des gènes cibles des HTs. La configuration en répétition directe séparée de quatre nucléotides (DR4) permet la liaison la plus stable des hétérodimères TR/RXR (Brent *et al.*, 1992). Dans cette configuration, RXR est positionné en 5' du TR, ce qui permet au DBD du TR d'interagir avec la séquence cible (Zechel *et al.*, 1994). Les TREs peuvent parfois être configurés en palindrome inversé avec séparation des deux demi-sites par six nucléotides (IP6) (Williams *et al.*, 1994), ou en palindrome de demi-sites non-séparés de nucléotides (Pal0) (Glass *et al.*, 1988), fixant préférentiellement les homodimères et les monomères de TR, respectivement (Velasco *et al.*, 2007).

Demi-site consensus des TREs:

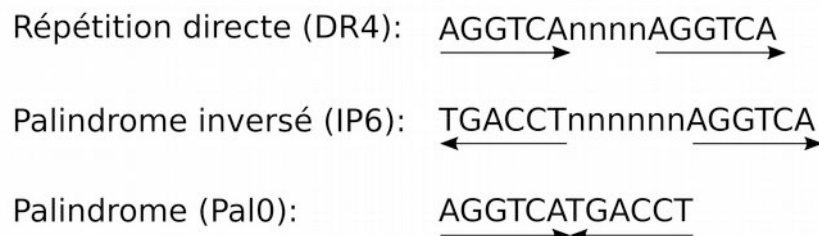
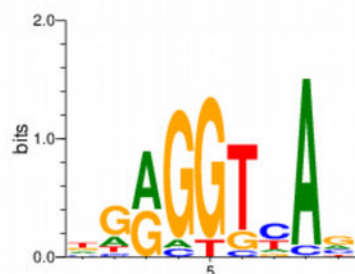


Figure 9: Les éléments de réponse aux hormones thyroïdiennes. Les éléments de réponse aux HTs, ou TREs, correspondent à la séquence d'ADN permettant la fixation des TRs. Ils consistent en une séquence consensus de 6 nucléotides A(/G)GGTC(/T/A)A, que l'on simplifie généralement à la séquence AGGTCA par praticité. Les TREs sont généralement constitués de deux demi-sites, disposés en répétition directe et séparés de 4 nucléotides (DR4), permettant la fixation de l'hétérodimère TR/RXR ; en palindrome inversé avec séparation par 6 nucléotides (IP6), permettant la fixation d'homodimères TR/TR ; ou de palindrome (Pal0), permettant la fixation de monomères. La représentation graphique du demi-site consensus indique la fréquence relative de chaque nucléotide du TRE, et la hauteur totale à chaque position correspond au degré de conservation (obtenu sur Genomatix Genome Analyzer).

1.2.4.1.2. Régulation positive

Les gènes dont la transcription est activée par la liaison de la T_3 sur un TR contiennent dans leur région régulatrice un ou plusieurs TRE, que l'on nomme alors « TRE positifs ». Lorsque le TR est lié au TRE en absence d'hormone, il interagit également avec plusieurs protéines, les corépresseurs, empêchant ainsi la transcription. En revanche, la fixation de la T_3 sur son LBD change la conformation du TR, libérant de nouveaux sites d'interaction protéique et permettant la fixation de coactivateurs nécessaires à la transcription (Figure 10). La fixation de la T_3 permet ainsi au TR de passer d'une fonction répressive à une fonction activatrice de la transcription. L'absence de TR sur un TRE positif peut en revanche permettre une expression basale du gène (Havis *et al.*, 2006).

Les corépresseurs (CoRs) de TR sont nommés NCoR (*nuclear corepressor*, ou NCoR1) et SMRT (*silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptors*, ou NCoR2). La partie N-terminale de NCoR et de SMRT permet le recrutement d'un complexe protéique comprenant entre autres la protéine Sin3 et des histones déacétylases (HDACs), dont l'activité enzymatique est activée par leur liaison aux NCoRs (Guenther *et al.*, 2001) (Figure 10). Les HDACs vont ainsi induire une déacétylation des histones situés en aval du TRE, entraînant un maintien de la chromatine dans une conformation fermée. La machinerie transcriptionnelle n'a ainsi plus accès à la chromatine et ne peut pas induire l'expression génique.

Lorsque la T_3 se lie au TR, le complexe CoR ne peut plus interagir de façon optimale avec le récepteur nucléaire et s'en détache, tandis qu'un complexe de coactivateurs (CoAs) peut être recruté au niveau du domaine AF2 du TR. Un nombre important de protéines pouvant agir en tant que coactivateurs a été décrit. Parmi celles-ci, deux complexes protéiques apparaissent essentiels à l'activation transcriptionnelle : le complexe SRC (*steroid receptor coactivator*) et le complexe DRIP/TRAP (*vitamin D receptor interacting protein/TR associated protein*). Le premier complexe protéique comprend la protéine SRC1, qui interagit avec le complexe p300/CBP ou pCIP (*p300 cAMP response element binding (CREB) binding protein*) et le complexe pCAF (*p300/CBP associated factor*). pCAF a une activité d'histone acétyltransférase, permettant l'acétylation des queues des histones, neutralisant leurs charges positives et diminuant ainsi leur affinité pour l'ADN. Les queues des histones s'écartent alors, ce qui facilite l'ouverture de la chromatine et l'initiation de la transcription. De plus, pCAF et pCIP interagissent tous les deux avec les facteurs associés aux protéines de liaison à la TATA box (*TATA binding protein (TBP) associated factors*, TAFs) et l'ARN polymérase de type II (ARN pol II), qui composent la machinerie transcriptionnelle. Le complexe DRIP/TRAP est également recruté au niveau du TR liant la T_3 . Il est composé de différentes protéines permettant également le recrutement et/ou la stabilisation de l'ARN pol II.

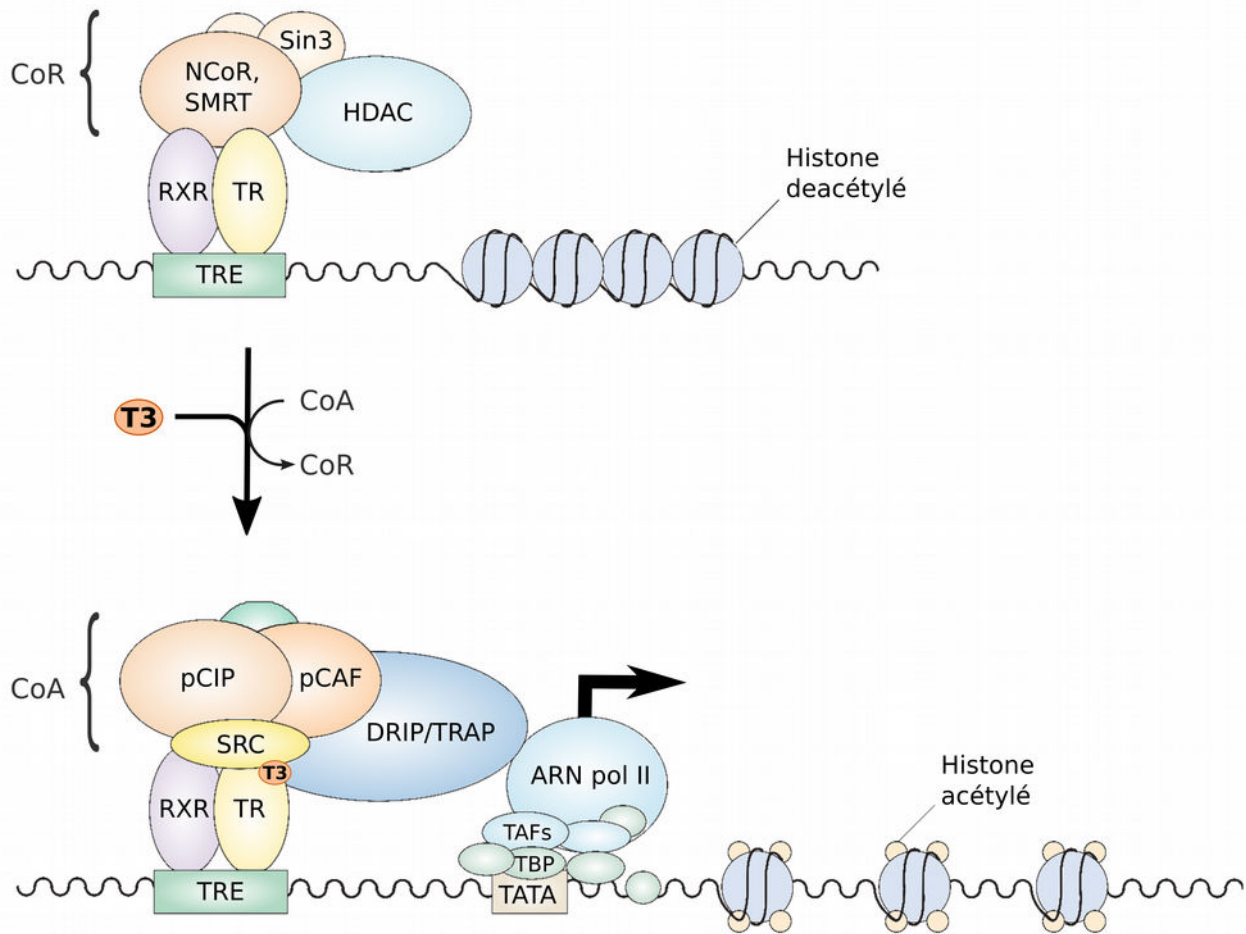


Figure 10: Activation de la transcription par la T3. En absence de T3, un complexe protéique inhibiteur de la transcription se fixe sur le dimère RXR/TR localisé sur le TRE : c'est le complexe corépresseur (CoR), composé notamment de NcoR, SMRT, Sin3 et d'histones déacétylases (HDAC). Les histones déacétylés situés en aval du TRE sont dans une conformation resserrée, qui ne permet pas à la machinerie transcriptionnelle d'agir au niveau de la séquence d'ADN pour faire s'exprimer les gènes cibles. La liaison de T3 au TR induit un changement conformationnel entraînant le relargage du CoR, et permet la fixation de protéines constituant un complexe coactivateur de la transcription (CoA). Il est en particulier composé du complexe SRC, qui interagit avec pCIP et pCAF, et du complexe DRIP/TRAP. PCAF, pCIP et DRIP/TRAP permettent le recrutement et la stabilisation des protéines de la machinerie transcriptionnelle au niveau de la TATA box, et notamment de l'ARN polymérase II (ARN pol II). PCAF agit également en tant qu'histone acétyltransférase. L'acétylation des histones facilite l'ouverture de la chromatine et permet la transcription génique par la machinerie transcriptionnelle.

Parmi les autres protéines pouvant agir en tant que coactivateur, l'histone déacétylase SIRT1 a été décrite comme pouvant participer à l'activation de la transcription par TR α et TR β (Suh *et al.*, 2013, Thakran *et al.*, 2013). Il a en effet été montré que SIRT1 peut être recrutée au niveau de certains gènes après ajout de T₃, et qu'une surexpression de SIRT1 dans des cellules de foie humaines permettait une augmentation de l'activation de plusieurs gènes par la T₃ (Thakran *et al.*, 2013). À l'inverse, une invalidation du gène codant pour SIRT1 entraîne une réduction de l'activation d'un de ces gènes T₃-dépendant, *Cpt1a* (*carnitine palmitoyltransferase*), *in vitro* et *in vivo* dans des hépatocytes de rat (Thakran *et al.*, 2013). Des cellules transfectées avec un plasmide rapporteur DR4-luciférase et co-transfectées avec un vecteur d'expression de TR α ou de TR β montrent de plus une augmentation significative d'activité luciférase en présence de T₃ lorsque SIRT1 est également exprimé par le vecteur, confirmant le rôle de co-activateur de SIRT1 (Suh *et al.*, 2013).

Au niveau des TREs localisés en amont de gènes mitochondriaux, il a été démontré l'existence de formes tronquées des récepteurs RXR et PPAR (mtRXR et mtPPAR) pouvant interagir avec p43, induisant ainsi la transcription de gènes cibles sur le génome mitochondrial (Casas *et al.*, 2000, Casas *et al.*, 2003). Mais les complexes protéiques impliqués restent encore à déterminer.

1.2.4.1.3. Régulation négative

Les HTs peuvent également inhiber l'expression de gènes cibles par fixation au TR : on parle alors de TREs négatifs. Ce processus est particulièrement important dans le cadre du rétrocontrôle de la sécrétion des HTs au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien, puisque c'est par ce biais que les gènes codant la TRH et la TSH sont réprimés (Bodenner *et al.*, 1991, Hollenberg *et al.*, 1995). Le principe général des TREs négatifs repose sur une activation de la transcription par la fixation de l'apo-TR sur le TRE, tandis que la liaison de la T₃ entraîne son inhibition. Cependant les mécanismes régissant l'inhibition génique via des TREs négatifs sont moins faciles à appréhender que ceux des TREs positifs, et restent encore mal compris. Plusieurs mécanismes différents ont ainsi été décrits.

Plusieurs études suggèrent que les protéines des complexes NcoR et SMRT, ainsi que l'activité de déacétylation des HDACs, constituants du complexe activateur au niveau des TREs positifs, pourraient également être impliqués dans l'activation de gènes cibles en absence de ligand au niveau des TREs négatifs, et dans leur régulation négative en présence de T₃ (Tagami *et al.*, 1999, Sasaki *et al.*, 1999, Satoh *et al.*, 1999, Berghagen *et al.*, 2002) (Figure 11A). D'autres corépresseurs interagissent spécifiquement avec le complexe TR-ligand, recrutant eux-mêmes d'autres protéines, telles que des HDACs, pour inhiber la transcription (Guissouma *et al.*, 2002, Shibusawa *et al.*,

2003) (Figure 11B). La régulation négative peut aussi provenir d'un TRE chevauchant un site de liaison d'un autre facteur de transcription. Les deux facteurs entrent alors en compétition : la fixation du complexe T₃-TR peut empêcher la liaison du facteur activateur d'un gène et recruter des corépresseurs (Villa *et al.*, 2004) (Figure 11C). C'est par exemple par un mécanisme de ce type que la présence de T₃ peut inhiber l'expression d'EGFR, comme cela a été montré dans une lignée de cellules embryonnaires de drosophile (Xu *et al.*, 1993). Il a en effet été montré dans ce modèle que le TRE situé en amont du gène *Egfr* chevauche un site de fixation du facteur de transcription Sp1, et que la transcription du gène est fortement diminuée en présence de TR et de T₃ (Xu *et al.*, 1993). Un

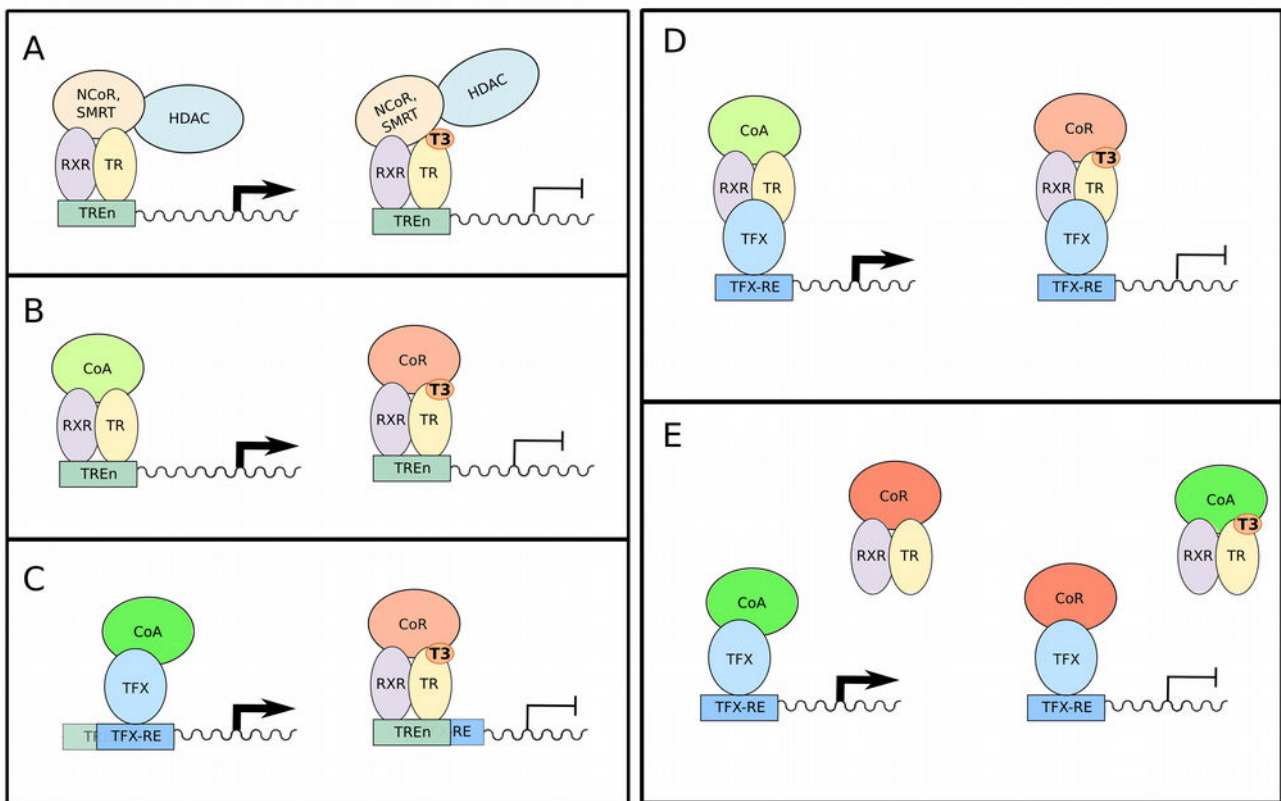


Figure 11: Régulation négative de la transcription par la T₃. (A) Les complexes NcoR et SMRT et les HDAC peuvent promouvoir la transcription en se fixant sur RXR/TR en absence de ligand au niveau des TRE négatifs (TREn). En présence de T₃, la conformation protéique et le positionnement des complexes change et pourrait ainsi permettre l'inhibition du gène cible du TREn. (B) Certains complexes coactivateurs (CoA) interagissent spécifiquement avec le dimère RXR/TR au niveau de TREn, permettant l'expression du gène cible, alors que la liaison du ligand promeut au contraire la liaison d'un complexe corépresseur (CoR). (C) Certains TRE peuvent être superposés à un élément de réponse spécifique d'un autre facteur de transcription (TFX-RE). Ainsi l'absence de T₃ permet l'interaction du facteur de transcription TFX et l'expression de son gène cible, tandis que la liaison du complexe RXR/TR-T₃ sur le TRE inhibe l'expression du gène en empêchant la liaison du TFX. (D) Le dimère RXR/TR peut également se fixer au niveau d'un autre facteur de transcription. Il peut alors recruter un complexe CoA en absence de T₃, et un complexe CoR en présence de T₃. (E) Un dernier modèle suggère que le dimère RXR/TR peut lier un complexe CoR sans être lié à un TRE, empêchant celui-ci d'inhiber l'expression de gènes en amont d'un TFX-RE. En présence de ligand, RXR/TR-T₃ recrute le complexe CoA grâce à une plus forte affinité en comparaison de la liaison TFX-CoA, et libère le CoR. Le gène cible du TFX est alors inhibé.

phénomène similaire peut également avoir lieu lorsque le TRE est très proche de la TATA box : la fixation du TR empêche alors le recrutement de la TBP, nécessaire au fonctionnement de la machinerie transcriptionnelle (Meyer *et al.*, 1997, Kim *et al.*, 1996).

Le TR peut également moduler indirectement la transcription sans se fixer sur un TRE. Dans ce cas, le TR se fixe sur un autre facteur de transcription, lui-même fixé sur l'ADN. La configuration protéique résultante permet alors le recrutement de coactivateurs en absence de ligand, et de corépresseurs en présence de T₃ (Rogatsky *et al.*, 2001, Méndez-Pertuz *et al.*, 2003, Sasaki *et al.*, 1999) (Figure 11D). Enfin, un dernier modèle suggère la séquestration de corépresseurs par le TR non lié à l'ADN, empêchant ces derniers de réprimer d'autres gènes (Figure 11E). Cet effet est alors inversé en présence de T₃, qui libérerait les corépresseurs pouvant alors se fixer sur d'autres facteurs de transcriptions liés à l'ADN (Tagami *et al.*, 1999, Wulf *et al.*, 2008). Mais ce modèle pose un problème de spécificité de l'action des HTs et reste controversé.

I.2.4.2. Actions non-génomiques

En dehors des actions génomiques des HTs via leurs récepteurs nucléaires, il existe d'autres voies par lesquelles les HTs agissent sur le fonctionnement cellulaire. Ces actions sont généralement plus rapides à être mises en place et engendrent ainsi les effets les plus précoces de la signalisation thyroïdienne. Ils peuvent en effet être observés dès les premières minutes ou les premières heures après exposition des cellules aux HTs (Siegrist-Kaiser *et al.*, 1990). Ces effets sont indépendants de l'entrée des HTs dans le noyau cellulaire et ont lieu par l'intermédiaire de récepteurs non-nucléaires aux HTs. Il a notamment été montré leur importance pour l'activation de voies de signalisation cellulaire impliquées dans la prolifération et plus généralement la survie cellulaire (Davis *et al.*, 2015).

I.2.4.2.1. Récepteurs membranaires

La capacité des HTs à se lier à la membrane cellulaire est connue depuis les années 1960 : on savait alors évaluer l'état thyroïdien des patients en mesurant la quantité de T₃ liée aux globules rouges (WALFISH *et al.*, 1961, GOOLDEN *et al.*, 1962). Par la suite a été démontrée la capacité qu'ont la T₄ et la T₃ à augmenter l'activité des pompes calciques (Ca²⁺-ATPases) situées sur la membrane des érythrocytes (Davis *et al.*, 1983, Mylotte *et al.*, 1985, Davis *et al.*, 1989), action ne pouvant par définition pas être imputée à une activité nucléaire des HTs, ce type cellulaire étant énucléé. Des expériences *in vitro* réalisées avec de la T₄-agarose, qui ne peut pas traverser la membrane

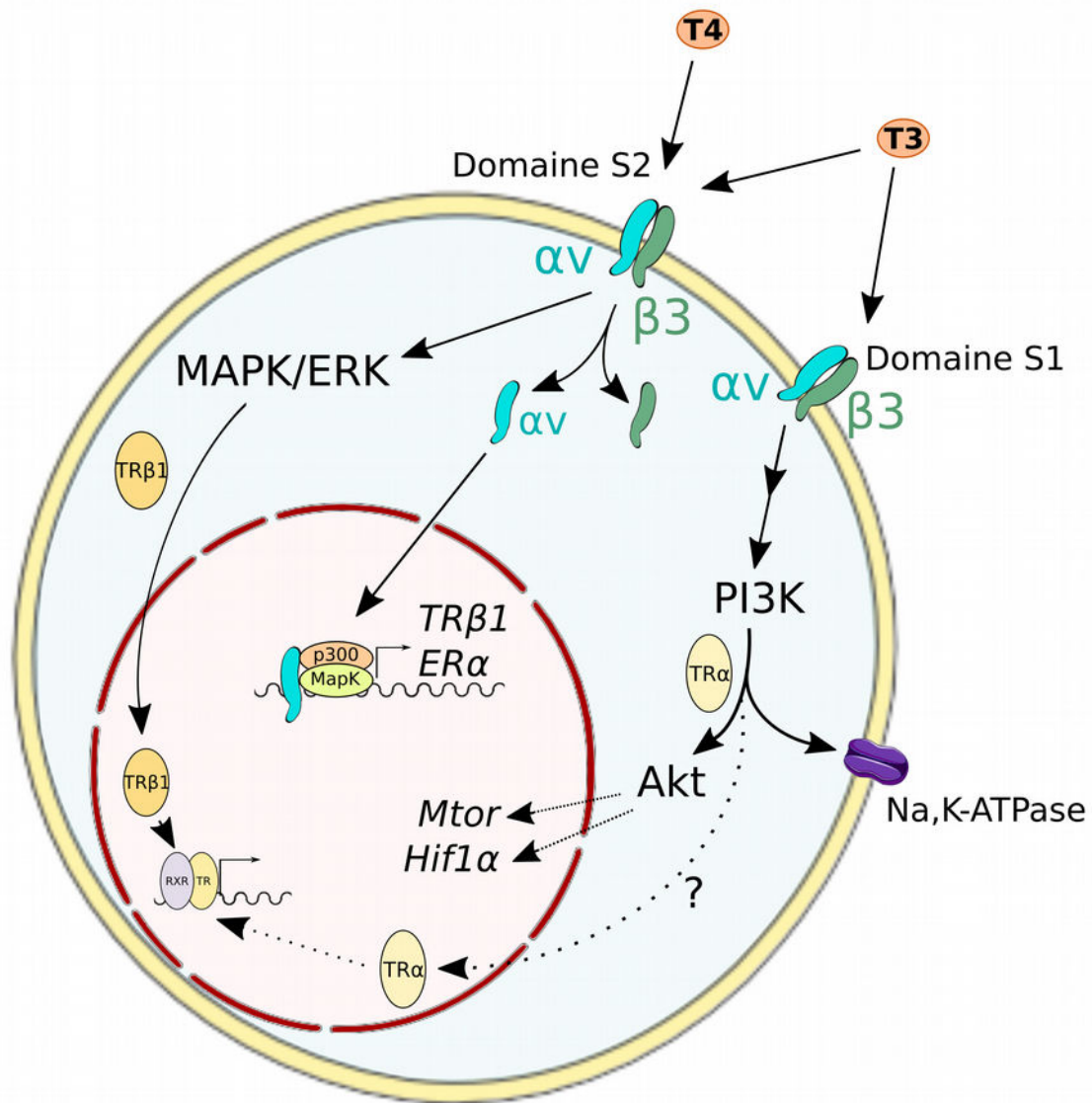


Figure 12: Actions non-génomiques des HTs via les récepteurs membranaires. Les intégrines $\alpha\beta3$ situées dans la membrane cellulaire possèdent deux domaines de liaison aux HTs. Le domaine S1 lie spécifiquement la T3, et le domaine S2 peut lier la T3 ou la T4. La liaison de la T3 à S1 entraîne l'activation de PI3K, permettant l'activation de pompes sodium-potassium (Na,K-ATPases) membranaires. PI3K activée peut également interagir avec TR α , favorisant l'activation de l'Akt et la transcription de gènes cibles tels que Mtor ou Hif1 α . L'interaction PI3K-TR α pourrait également permettant son transport depuis le cytoplasme vers le noyau

cellulaire, ont également permis de mettre en évidence l'activation des protéines intracellulaires de la voie MAP kinase (*mitogen-activated protein kinases*, MAPK, également nommée ERK), notamment impliquée dans la régulation de la prolifération, via des récepteurs membranaires aux HTs (Lin *et al.*, 1999a, Lin *et al.*, 1999b).

Parmi les protéines membranaires pouvant lier les HTs, la mieux caractérisée à ce jour est l'intégrine $\alpha\beta3$ (composée des sous-unités αv et $\beta3$). Comme les autres intégrines, $\alpha\beta3$ possède des sites de liaison spécifiques à plusieurs protéines de la matrice extracellulaire, permettant l'activation de

différentes voies de signalisation intracellulaires (Plow *et al.*, 2000). Bergh *et al.* ont démontré l'existence d'un site de liaison aux HTs présent spécifiquement sur l'intégrine $\alpha\beta3$ (Bergh *et al.*, 2005). Ce site de liaison aux HTs n'a cependant pas d'homologie ni avec les TRs (Hoffman *et al.*, 2002, Lin *et al.*, 2011), ni avec les transporteurs membranaires MCT8 et OATP1C1 (Schweizer *et al.*, 2014, Fu *et al.*, 2013). L'intégrine $\alpha\beta3$ contient en réalité deux domaines de liaison aux HTs, S1 et S2, l'interaction avec chacun des domaines ayant des effets spécifiques. $\alpha\beta3/S1$ reconnaît exclusivement la T_3 , dont la fixation permet l'activation de la phosphoinositide 3-kinase (PI3K), qui peut s'associer avec $TR\alpha$ dans le cytoplasme (Hiroi *et al.*, 2006) (Figure 12). Cette interaction peut favoriser la phosphorylation de la protéine Akt, qui en conséquence peut notamment entraîner l'expression de gènes tels que *Mtor* (*mammalian target of rapamycin*) (Cao *et al.*, 2005) ou *Hif1a* (*hypoxia-inducible factor 1*), comme montré dans des fibroblastes et des cellules de glioblastome humains (Moeller *et al.*, 2005, Lin *et al.*, 2009). L'activation de PI3K peut également entraîner l'activation des pompes sodium-potassium (Na,K-ATPases) membranaires (Lei *et al.*, 2009, Lei *et al.*, 2004). Enfin, l'association de PI3K avec $TR\alpha$ pourrait également jouer un rôle dans le transport du récepteur depuis le cytoplasme vers le noyau (Lin *et al.*, 2009). $\alpha\beta3/S2$ lie quant à lui préférentiellement la T_4 , mais peut également lier la T_3 (Bergh *et al.*, 2005, Lin *et al.*, 2009, Davis *et al.*, 2015) (Figure 12). Son interaction avec les deux HTs entraîne l'activation de la voie MAPK/ERK, ce qui permet entre autres le transfert de $TR\beta1$ depuis le cytoplasme vers le noyau (Lin *et al.*, 2009). Par ailleurs, l'interaction de la T_4 avec $\alpha\beta3/S2$ provoque l'internalisation de l'intégrine, sans pour autant internaliser la T_4 (Lin *et al.*, 2007). Une fois dans le cytoplasme, le monomère $\alpha\beta$ pénètre dans le noyau après liaison à un complexe formé de MAPK et p300. Le complexe $\alpha\beta$ /MAPK/p300 peut alors se lier à la région promotrice de plusieurs gènes cibles, activant ainsi l'expression de $TR\beta1$ ou du récepteur aux œstrogènes $ER\alpha$ (*Estrogen receptor alpha*), entre autres (Lin *et al.*, 2013) (Figure 12). Ainsi, de nombreuses voies de signalisation et expression de gènes peuvent être modulés par la T_4 et la T_3 via le récepteur membranaire $\alpha\beta3$, y compris pour favoriser dans un deuxième temps les actions génomiques grâce aux TRs.

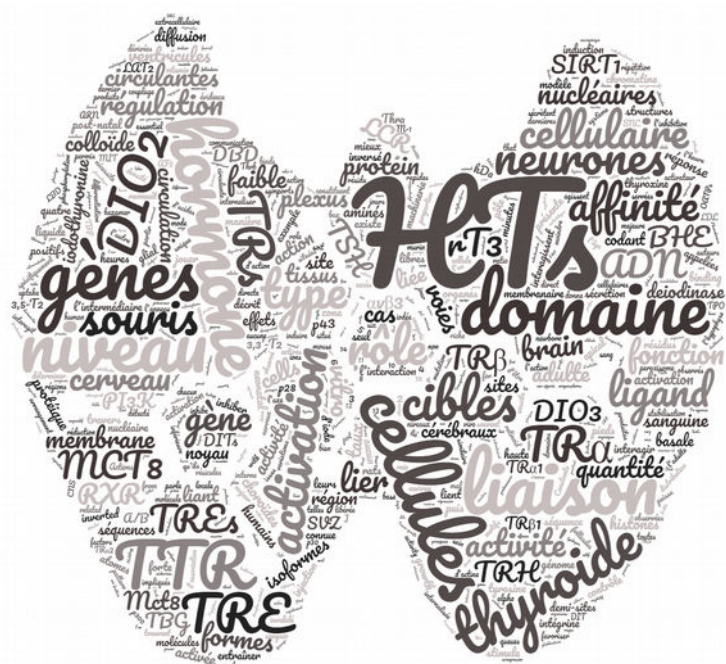
I.2.4.2.2. Régulations non-génomiques dépendantes des TRs

Les actions non-génomiques des HTs peuvent également avoir lieu par l'intermédiaire de TRs, intacts ou tronqués, situés au niveau cytoplasmique. Kalyanaraman *et al.* ont ainsi démontré l'existence d'une forme tronquée de $TR\alpha$ de 30kDa, p30, localisée au niveau des radeaux lipidiques dans les cellules osseuses, *in vitro* dans des ostéoblastes humains et murins, et *in vivo* chez la souris (Kalyanaraman *et al.*, 2014). La fixation de la T_3 sur p30 stimule l'entrée de calcium dans la cellule

dès 10 minutes d'exposition, et active une voie de signalisation menant à l'induction des voies MAPK/ERK et PI3K/Akt (Kalyanaraman *et al.*, 2014). La T_4 permet également cette induction, mais nécessite une concentration 100 à 1000 fois plus élevée que la T_3 pour provoquer des effets comparables (Kalyanaraman *et al.*, 2014).

Dans des cultures d'astrocytes et de neurones de rats, il a été montré que la T_4 et la rT_3 induisent la polymérisation et l'assemblage des filaments d'actine dès 20 minutes d'exposition, la T_3 n'ayant en revanche aucun effet (Farwell *et al.*, 2005, Siegrist-Kaiser *et al.*, 1990, Leonard et Farwell, 1997, Farwell *et al.*, 2006). Les actions non-génomiques de la T_4 et de la rT_3 peuvent également réguler l'activité de la DIO2 (Leonard *et al.*, 1981, Visser *et al.*, 1982, Farwell *et al.*, 2006) : dès la première heure suivant une injection intra-péritonéale de T_4 ou de rT_3 , l'activité de la DIO2 diminue en effet dans le cerveau de rats (P14) hypothyroïdiens (Farwell *et al.*, 2006). Le taux de DIO2 est naturellement plus élevé chez les animaux hypothyroïdiens, et ce traitement permet un retour à un taux équivalent à celui d'animaux euthyroïdiens. En revanche, une injection de T_3 ne provoque aucun changement dans l'activité de la DIO2, même 6 heures après injection (Farwell *et al.*, 2006). Ces deux actions rapides, sur les filaments d'actine et sur la DIO2, suggèrent l'implication d'un récepteur non-génomique capable de lier la T_4 ou la rT_3 , mais pas la T_3 . Il a été suggéré que $TR\Delta\alpha 1$, une autre forme tronquée de $TR\alpha$, puisse remplir ce rôle : $TR\Delta\alpha 1$ serait en effet présente dans le cytoplasme des astrocytes et des neurones, et interagirait avec la T_4 et la rT_3 avec une haute affinité, mais pas avec la T_3 (Senese *et al.*, 2014, Cheng *et al.*, 2010).

Lorsque le récepteur $TR\beta 1$ est présent dans le cytoplasme et lie la T_3 , il peut interagir avec PI3K, et ainsi initier la voie de signalisation permettant notamment l'expression de HIF1 α ou mTOR (Cao *et al.*, 2005, Moeller *et al.*, 2006). Martin *et al.* ont plus récemment montré que l'activation de PI3K issue de la liaison cytoplasmique entre la T_3 et $TR\beta$ joue un rôle important dans la maturation et la plasticité synaptiques des neurones de l'hippocampe chez le souriceau (P12-P18) (Martin *et al.*, 2014a). Cependant les gènes régulés dans ces processus et leur mode précis d'activation restent à découvrir.



II. La neurogenèse adulte

La neurogenèse désigne l'ensemble des processus menant à la formation de nouvelles cellules fonctionnelles du système nerveux central à partir de cellules souches neurales. Le terme de neurogenèse peut parfois être utilisé pour désigner spécifiquement la formation de neurones, en opposition à la gliogenèse, qui correspond à la génération de cellules gliales. Ici nous utiliserons ce terme dans son sens plus général, englobant les différentes voies de différenciation des CSNs, vers un phénotype neuronal ou vers un phénotype glial.

La neurogenèse est particulièrement importante durant les phases de développement cérébral embryonnaire et post-natal, mais persiste également à l'âge adulte chez différentes espèces, dont les espèces de mammifères. Mais les mécanismes régissant la neurogenèse chez l'adulte, notamment concernant le choix du destin des CSNs, ne sont encore que partiellement compris. Si l'on sait que les hormones thyroïdiennes jouent un rôle important dans la prolifération et la différenciation des CSNs, leur implication dans la détermination du phénotype cellulaire reste par exemple peu étudiée. Après avoir évoqué l'origine embryonnaire des CSNs, nous détaillerons ici les processus impliqués dans la neurogenèse adulte et les mécanismes de régulation connus qui y sont associés.

II.1. Neurogenèse embryonnaire et origine des cellules souches neurales adultes

La neurogenèse embryonnaire comprend les phénomènes de prolifération, de détermination (engagement vers un destin neuronal ou glial), de différenciation, de maturation et de migration cellulaires permettant la formation du système nerveux au cours du développement. Chez l'ensemble de Chordés, un épaissement cellulaire d'origine ectodermique se forme durant le développement embryonnaire, constituant la plaque neurale. Au cours de l'étape de neurulation, la plaque neurale se replie sur elle-même pour former le tube neural, préfigurant le futur système nerveux central (SNC). Celui-ci n'est alors composé que d'une seule couche de cellules neuroépithéliales (CNEs). Lorsque la neurogenèse débute, entre les jours embryonnaires E9 et E10 chez la souris et aux environs de la huitième semaine de gestation chez l'homme, les CNEs deviennent des glies radiaires (GRs), cellules vouées à générer directement ou indirectement l'ensemble des neurones et des cellules gliales du cerveau. Contrairement aux CNEs, les GRs se divisent de façon asymétrique, chacune générant une GR fille et une cellule à destinée neuronale

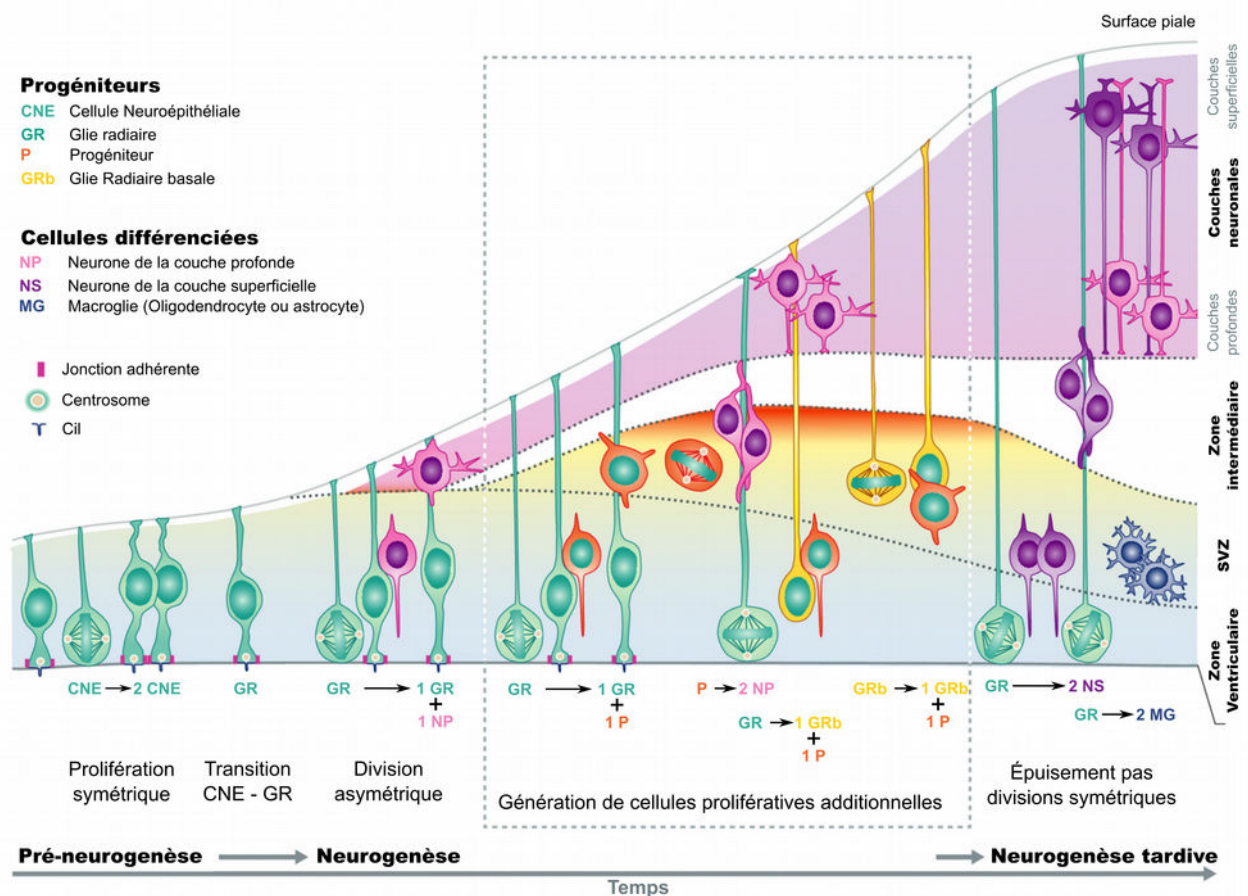


Figure 13: Étapes de la neurogenèse embryonnaire. Lors de sa formation, le tube neural est uniquement composé de cellules neuroépithéliales (CNÉs) proliférants de façon symétrique. Elles deviennent par la suite des glies radiaires (GRs) qui ont la capacité de se diviser de façon asymétrique en une GR fille et une cellule migrant vers la surface piaie pour se différencier en neurone de la couche profonde (NP). Les GRs peuvent également générer des progéniteurs (P) migrant au niveau de la SVZ avant de générer à leur tour des neurones par divisions symétriques. Certaines GRs peuvent donner naissance à des GRs basales qui migrent dans la SVZ et effectuent des division asymétriques. Les neurones générés le plus tardivement migreront à leur tour vers la surface piaie, constituant la couche superficielle. Après cette phase neurogénique a lieu la phase gliogénique, où les GRs génèrent des macroglies (MG). Traduit de Paridaen *et al.*, 2014.

(Figure 13). Ces dernières migrent le long des prolongements des GRs, depuis le ventricule vers la surface externe du cerveau (ou surface piaie), et se différencient en neurones. Les divisions asymétriques des GRs vont également donner naissance à des cellules de type progéniteur, qui prolifèrent dans une région adjacente aux ventricules, la zone sous-ventriculaire (*sub-ventricular zone*, SVZ) (Noctor *et al.*, 2004) (Figure 13). Les progéniteurs se divisent alors symétriquement et génèrent des neurones, qui migrent également vers la surface piaie, le long des prolongements des GRs. Ils peuvent ainsi eux aussi donner naissance à des neurones au niveau de la surface piaie. Comme présenté dans la Figure 13, les neurones générés au cours du développement embryonnaire migrent toujours plus loin que les neurones déjà en place : les premiers neurones formés sont ainsi voués à constituer les couches neuronales les plus profondes, et les neurones générés dans les

phases plus tardives constitueront les couches plus superficielles (Farkas et Huttner, 2008). Les prolongements des GRs s'étendent dans le même temps, permettant aux cellules nouvellement générées de migrer jusqu'à la surface piale. Certaines GRs vont générer des cellules de type glie radiaire basales (GRbs), qui présentent les mêmes caractéristiques que les GRs à l'exception de leur localisation : les GRbs sont concentrées au niveau de la SVZ, et non de la zone ventriculaire (Figure 13). La présence de GRbs semble cependant moins fréquente chez la souris que chez le primate (Hansen *et al.*, 2010, Betizeau *et al.*, 2013, Shitamukai *et al.*, 2011). Après cette phase, dite neurogénique, du développement cérébral, les divisions des GRs produisent majoritairement des cellules de type macroglie (oligodendrocytes et astrocytes) : c'est la phase gliogénique.

Plus le développement du SNC progresse, plus les GRs ont tendance à effectuer des divisions symétriques, générant deux cellules filles identiques, et réduisant ainsi le pool de cellules prolifératives non-engagées. Quelques GRs embryonnaires donnent naissance aux cellules souches neurales (CSNs) encore présentes dans le cerveau à l'âge adulte (Merkle *et al.*, 2004, Bowman *et al.*, 2013, Konno *et al.*, 2008, Noctor *et al.*, 2008), en particulier au niveau de l'hippocampe et de la SVZ chez les mammifères (Altman et Das, 1965b, Doetsch *et al.*, 1999b). Furutachi *et al.* ont montré que les CSNs adultes proviennent en grande partie de GRs et CNEs embryonnaires à division lente, tandis que celles à division rapide perdent leur capacité proliférative en se différenciant avant l'âge adulte (Furutachi *et al.*, 2015).

Si l'importance d'une disponibilité adéquate en hormones thyroïdiennes lors de la neurogenèse embryonnaire est connue depuis longtemps (Williams, 2008), les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués sont encore en cours d'étude, comme nous le détaillerons dans la **partie II.4.1**. On sait en particulier que l'expression des désiodases joue un rôle capital dans la régulation de la prolifération cellulaire dans la SVZ au cours du développement cérébral, comme cela a été montré chez le xénope (Fini *et al.*, 2012, Préau *et al.*, 2016). L'importance des HTs sur l'activation de la prolifération des cellules de la SVZ embryonnaire a également été montrée chez la souris (Stenzel *et al.*, 2014).

II.2. Niches neurogéniques du cerveau adulte

La persistance d'une neurogenèse dans le cerveau adulte était jugée inexistante durant une grande partie du XXe siècle. Son existence fut cependant prouvée chez les oiseaux dans les années 1980, où elle fut associée à la capacité qu'ont les canaris mâles adultes à modifier leur chant au printemps, au contraire de nombreux autres oiseaux qui gardent leur chant inchangé après la maturité sexuelle

(Nottebohm, 1985). Cette étude a notamment mis en lumière un contrôle hormonal saisonnier de la prolifération et de la différenciation neuronale chez cette espèce. Chez les mammifères, Altman avait observé l'apparition de nouvelles cellules dans l'hippocampe et les bulbes olfactifs du cerveau de rat adulte dès les années 1960 (Altman et Das, 1965a) ; cependant il n'avait pas pu établir leur identité neuronale. Il a fallu attendre les années 1980, 1990 et 2000 pour que le maintien d'une neurogenèse dans le cerveau murin adulte soit décrite dans l'hippocampe (Bayer, 1980, Bayer, 1983), puis dans la SVZ, depuis laquelle les cellules à destin neuronal migrent vers les bulbes olfactifs (Lois et Alvarez-Buylla, 1993, Doetsch *et al.*, 1999a, Doetsch *et al.*, 2002).

Chez l'homme, l'existence de neurones produits à l'âge adulte dans l'hippocampe a été montrée pour la première fois par Ericksson *et al.*, qui ont tiré parti de l'injection à des fins diagnostiques d'une substance marquant les cellules en prolifération, le 5-bromo-2-désoxyuridine (BrdU), à des patients atteints de cancer (Eriksson *et al.*, 1998). La présence de BrdU a été observée dans des cellules de l'hippocampe des patients décédés, identifiées en tant que neurones et cellules gliales grâce à des marqueurs spécifiques. Cependant, cette étude n'a pas permis de caractériser la neurogenèse adulte humaine de façon précise, le nombre de cellules ayant incorporé le BrdU s'étant révélé très variable d'un patient à l'autre. Cela était notamment dû au fait que l'intervalle de temps entre l'injection du BrdU et le décès du patient ne puisse pas être standardisé : le BrdU, s'incorporant dans l'ADN lors de la prolifération et se transmettant aux cellules filles, émet un signal dont la détection se dilue au cours des divisions successives. Ainsi, plus le décès du patient intervient longtemps après l'injection, plus le nombre de cellules BrdU+ est important, mais moins il est facilement détectable. L'âge des sujets s'est également révélé un facteur de variabilité, indiquant une évolution de la capacité neurogénique de l'hippocampe au cours du vieillissement. Depuis, un groupe de recherche a eu l'idée de tirer profit d'un pic de carbone 14 (^{14}C) atmosphérique généré au niveau mondial durant la guerre froide par les essais nucléaires, dans les années 1950 et 1960. En effet, toutes les plantes présentes à l'époque ayant absorbé le ^{14}C atmosphérique par photosynthèse (absorption de CO_2), celui-ci fut ensuite transmis à toute la chaîne alimentaire, s'intégrant à l'ADN des cellules nouvellement formées dans l'organisme. Depuis l'arrêt des tests nucléaires, le taux de ^{14}C atmosphérique a chuté de moitié, revenant à un niveau normal. Une comparaison de la concentration en ^{14}C présent dans l'ADN des cellules cérébrales de différents patients a ainsi permis de différencier post-mortem les cellules formées à l'époque de la naissance de l'individu de celles générées plus tardivement (Spalding *et al.*, 2005). Grâce à cette technique, le groupe a montré la quasi absence de neurones formés à l'âge adulte dans les bulbes olfactifs humains (Bergmann *et al.*, 2012), contrairement à ce qui est observé chez la souris. Les neurones formés à partir de la SVZ chez l'homme pourraient en revanche migrer vers le striatum (Ernst *et al.*, 2014), mais cette

question est encore débattue. On estime généralement que la production de neurones originaires de la SVZ chez l'homme décroît fortement après 18 mois, jusqu'à une disparition presque totale chez l'adulte (Sanai *et al.*, 2011). Cependant, les limites méthodologiques de l'étude de la neurogenèse chez l'humain rendent difficile toute conclusion définitive sur le sujet. Bergmann *et al.* ont en revanche confirmé l'existence d'une neurogenèse hippocampale importante chez l'homme, même chez les sujets âgés (Bergmann *et al.*, 2012), contrastant avec la proportion plus faible de nouveaux neurones formés dans l'hippocampe murin (Imayoshi *et al.*, 2008).

Ainsi, l'hippocampe et la SVZ sont généralement considérés comme les deux principales zones – ou niches – neurogéniques présentes chez les mammifères adultes. Elles peuvent produire à la fois des neurones et des cellules gliales en conditions physiologiques. En conditions pathologiques, par exemple suite à une lésion cérébrale, la neurogenèse au niveau de ces deux zones peut être mise à contribution chez les individus atteints. Le ratio neurones/glies des cellules nouvellement formées peut ainsi être modifié, par exemple en cas de destruction de la myéline (formée par les cellules gliales de type oligodendrocyte). Les voies de migration sont alors adaptées pour recoloniser la région lésée (Nait-Oumesmar *et al.*, 2007, Stidworthy *et al.*, 2003, Patrikios *et al.*, 2006). Enfin, il est à noter que si la production de neurones chez l'adulte est restreinte aux zones neurogéniques, la gliogenèse peut aussi avoir lieu dans d'autres régions du cerveau. En effet, des précurseurs gliaux à grandes capacités prolifératives migrent en fin d'embryogenèse dans les différentes couches cérébrales, et peuvent générer de nouveaux astrocytes et de nouveaux oligodendrocytes, qui vont persister à l'âge adulte. Ce sont des précurseurs oligodendrocytaires (OPCs, *oligodendrocyte precursor cells*) dits « résidents », par opposition aux OPCs nouvellement générés à partir des zones neurogéniques chez l'adulte (Ge *et al.*, 2012, Richardson *et al.*, 2011).

II.2.1. L'hippocampe

L'hippocampe joue un rôle central dans les processus de mémoire à court et à long terme, associés à l'apprentissage, à la formation des souvenirs ou encore à la mémoire spatiale. Cette structure est particulièrement atteinte dans la maladie d'Alzheimer, connue comme étant associée à une perturbation de la neurogenèse (Demars *et al.*, 2010, Lazarov *et Marr*, 2010).

L'hippocampe se forme au niveau embryonnaire à partir d'un repliement de la zone ventriculaire. Il est composé de deux structures, la corne d'Ammon et le gyrus denté, où des cellules souches neurales (CSNs, ou cellules de type 1), présentes dans une couche cellulaire nommée zone sous-granulaire (*subgranular zone*, SGZ), permettent la formation de nouveaux neurones (Figure 14A). Une fois passées du stade quiescent au stade activé (c'est-à-dire prolifératif), les CSNs deviennent

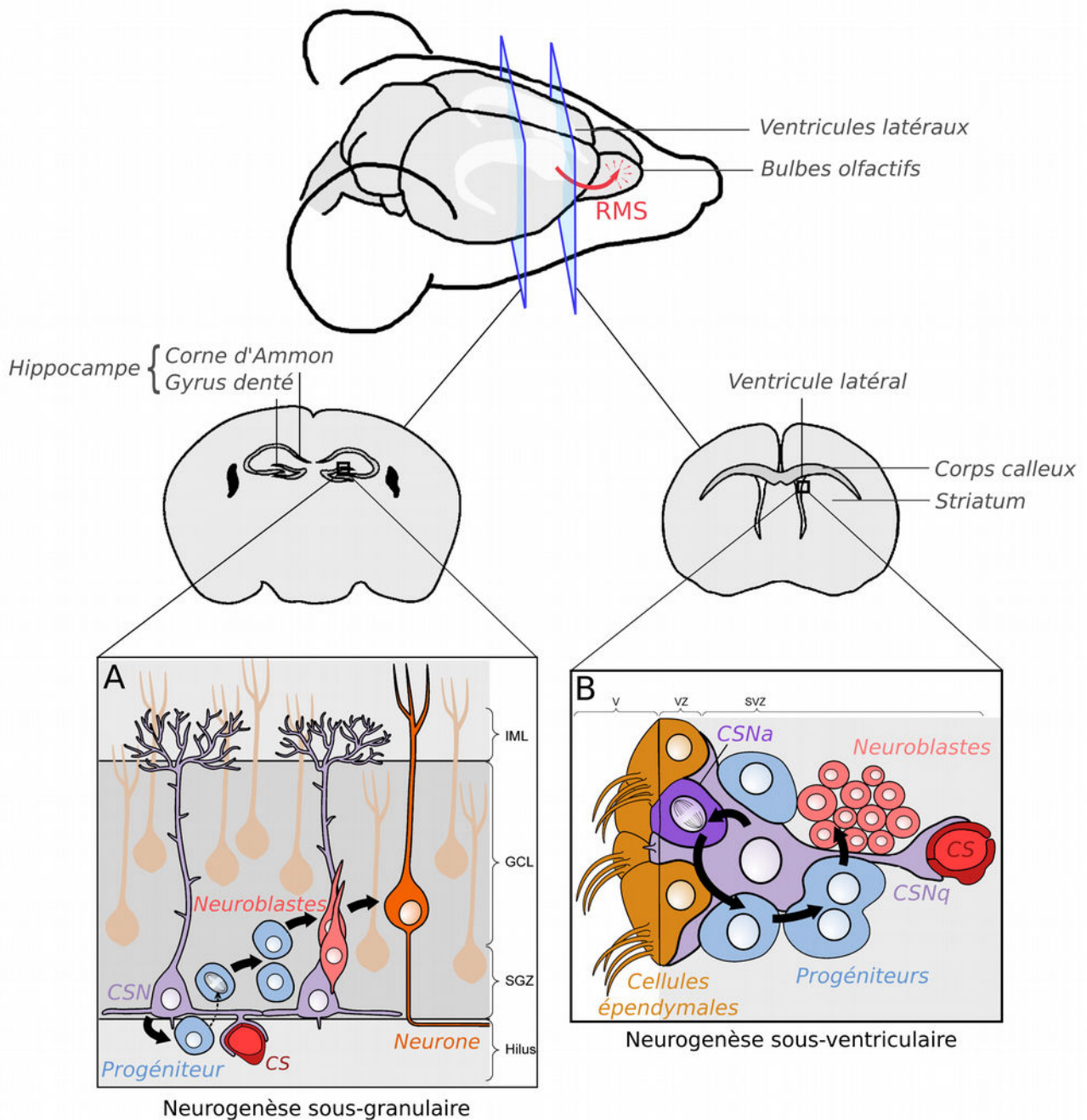


Figure 14: Neurogenèse hippocampale et sous-ventriculaire chez la souris adulte. La neurogenèse chez l'adulte a principalement lieu dans deux niches neurogéniques: le gyrus denté de l'hippocampe et la zone sous-ventriculaire (SVZ). (A) La neurogenèse hippocampale a lieu à partir des cellules souches neurales (CSNs) présentes dans la zone sous-granulaire (SGZ) du gyrus denté. Elles génèrent des progéniteurs par division asymétrique. Les progéniteurs s'engagent principalement vers la voie neuronale. Également par divisions asymétriques, ils produisent des neuroblastes qui migrent le long des prolongements des CSNs et se différencient en neurones au niveau de la couche des cellules granulaires (GCL). Moins de 10 % des CSNs se différencient en astrocytes (non-représentés). (B) Les CSNs de la SVZ sont en contact avec le liquide céphalo-rachidien des ventricules latéraux et avec les capillaires sanguins. Une fois activées, elles prolifèrent lentement puis génèrent des progéniteurs à prolifération rapide par division asymétrique. Les progéniteurs vont principalement se déterminer en neuroblastes, qui migrent depuis la SVZ vers les bulbes olfactifs le long de la voie de migration rostrale (RMS). Environ 10 % des CSNs de la SVZ s'engagent vers la voie gliale. CS : capillaire sanguin ; CSNq : cellules souche neurale quiescente ; CSNa : cellules souche neurale activée ; IML : couche moléculaire interne (inner molecular layer) ; V : ventricule ; VZ : zone ventriculaire.

des progéniteurs (*transit amplifying progenitors*, TAPs, ou cellules de type 2), qui se différencient le plus souvent en neuroblastes (ou cellules de type 3), puis mûrissent en neurones excitateurs. Durant la différenciation, les cellules migrent depuis la SGZ vers la couche de cellules granulaires (*granule cell layer*, GCL), où la maturation a lieu. Les neurones granulaires projettent alors une large arborescence dendritique vers l'extérieur du gyrus denté, et étendent leur axone vers les neurones pyramidaux présents dans la corne d'Ammon, avec lesquels ils établissent des connexions synaptiques. Une petite partie des progéniteurs de la SGZ (moins de 10%) se différencie par ailleurs en astrocytes (Suh *et al.*, 2007), ce qui confirme leur nature multipotente.

Une régulation fine de la neurogenèse hippocampale est nécessaire afin de trouver un équilibre entre la production de neurones et le maintien du pool de cellules souches. Plusieurs voies de signalisation moléculaires sont impliquées dans cette régulation. Parmi elles, les voies Wnt, Notch et sonic hedgehog (Shh) sont essentielles à la prolifération des CSNs et des progéniteurs de la SGZ (Qu *et al.*, 2010, Imayoshi *et al.*, 2010, Lai *et al.*, 2003, Ferri *et al.*, 2004). Le facteur de transcription SOX2 est essentiel dans ces processus : il active directement la voie Shh (Favaro *et al.*, 2009), et est surexprimé par la voie Notch dans les CSNs (Ehm *et al.*, 2010). À l'inverse, la doublecortin (DCX) est exprimée spécifiquement dans les neuroblastes (Rao *et Shetty*, 2004), tandis que PROX1, NeuroD ou encore KLF9 sont nécessaires à la maturation et à la survie neuronales (Lavado *et al.*, 2010, Gao *et al.*, 2009, Kuwabara *et al.*, 2009, Scobie *et al.*, 2009).

Les niveaux de prolifération et de différenciation des neurones de l'hippocampe peuvent de plus être modulés par différents stimuli physiologiques. Ainsi la neurogenèse hippocampale sera augmentée par l'activité physique (van Praag *et al.*, 1999, Li *et al.*, 2008), par l'apprentissage (Döbrössy *et al.*, 2003, Drapeau *et al.*, 2007), par la restriction calorique (Lee *et al.*, 2000, Lee *et al.*, 2002), ou encore par l'exposition à un environnement enrichi chez les rongeurs (Kempermann *et al.*, 1997). À l'inverse, elle sera diminuée suite au stress (Gould *et al.*, 1998), ou dans les cas de dépression (Santarelli *et al.*, 2003, Malberg *et Duman*, 2003). L'hypothyroïdisme régule également la neurogenèse hippocampale de façon négative : elle provoque une diminution de la survie des progéniteurs et de la différenciation neuronale (Desouza *et al.*, 2005, Montero-Pedrazuela *et al.*, 2006). L'hypothyroïdisme et les symptômes dépressifs sont d'ailleurs connus pour être souvent liés (Duntas *et Maillis*, 2013).

II.2.2. La zone sous-ventriculaire

La zone sous-ventriculaire ou SVZ conserve également un pool de cellules prolifératives chez l'adulte. Située en bordure des deux ventricules latéraux, elle est composée de CSNs multipotentes

qui, en conditions physiologiques, génèrent principalement des neurones, mais également des oligodendrocytes en moindre proportion (Menn *et al.*, 2006). Les CSNs de la SVZ (ou cellules de type B), d'abord quiescentes, entrent en prolifération lente une fois activées, puis deviennent des progéniteurs (*transit amplifying cells*, TAPs, ou cellules de type C) à prolifération rapide. Les progéniteurs s'engagent ensuite vers la détermination neuronale ou vers la détermination gliale. En conditions physiologiques, la plus grande partie des progéniteurs s'engage vers une détermination en neuroblaste (ou cellules de type A), qui chez la souris migrent le long d'un réseau cellulaire, appelé flux de migration rostral (*rostral migratory stream*, RMS), jusqu'aux bulbes olfactifs où ils achèvent leur différenciation en neurones (Doetsch *et al.*, 1999a) (Figure 14). Les progéniteurs s'engageant vers la voie gliale deviennent quant à eux des précurseurs oligodendrocytaires (OPCs). Ces derniers migrent sur de courtes distances, principalement vers le corps calleux, qui surplombe les ventricules latéraux, ou vers le striatum, adjacent à la SVZ, et se différencient alors en oligodendrocytes myélinisants (Nait-Oumesmar *et al.*, 1999, Menn *et al.*, 2006).

Si les cellules de la SVZ du cerveau humain ont une organisation structurée en couches cellulaires bien distinctes les unes des autres (Quiñones-Hinojosa et Chaichana, 2007), ce n'est pas le cas chez la souris ; mais les différents types cellulaires composant la SVZ murine peuvent malgré tout se distinguer par leur positionnement au sein de la niche et par leur morphologie (Figure 14B). Une première couche cellulaire est constituée de cellules épendymales, qui bordent directement les ventricules. Les CSNs sont situées juste en-dessous, et possèdent des prolongements leur permettant d'être au contact des vaisseaux sanguins cérébraux (Shen *et al.*, 2008). Elles sont également en contact avec le liquide céphalo-rachidien des ventricules latéraux grâce à la présence d'un cil primaire, sortant au centre de groupes de cellules épendymales (disposition en « rosace ») (Tavazoie *et al.*, 2008, Mirzadeh *et al.*, 2008). Les CSNs possèdent les caractéristiques typiques des astrocytes, à savoir, en plus de leurs prolongements connectés aux capillaires sanguins, un cytoplasme peu abondant, la présence de grains de glycogène, et la présence de la protéine GFAP (*glial fibrillary acidic protein*), un des composants des filaments intermédiaires de leur cytosquelette. Elles se distinguent cependant des astrocytes matures par leur capacité à proliférer et à se différencier (Doetsch *et al.*, 1999a). Les progéniteurs, issus de divisions asymétriques des CSNs, ne possèdent plus de prolongements et ont une activité proliférative plus importante que les CSNs activées. Elles se divisent de manière asymétrique, créant des précurseurs neuronaux (*neural precursor cells*, NPCs), des OPCs, et de nouveaux progéniteurs. Les neuroblastes nouvellement générés ont des noyaux plus petits, et migrent le long de la RMS, délimitée par des astrocytes. Ils gardent une capacité à proliférer faiblement, au contraire des neurones matures.

Contrairement aux neurones formés dans l'hippocampe, les neurones des bulbes olfactifs provenant de la SVZ sont de type interneurons inhibiteurs, et permettent une régulation précise des messages provenant des neurones sensoriels (Lledo *et al.*, 2004). Ils participent ainsi à la mémoire olfactive chez la souris, notamment importante pour les interactions sociales. La quasi-absence de production de nouveaux neurones dans les bulbes olfactifs humains à l'âge adulte (Bergmann *et al.*, 2012) laisse supposer de moins grandes capacités olfactives que chez les rongeurs, ce qui est fréquemment admis, même si cette théorie a récemment été remise en cause (McGann, 2017).

Au contraire de la neurogenèse hippocampale, une activation de la neurogenèse sous-ventriculaire par l'activité physique est longtemps restée controversée, plusieurs études présentant des résultats contradictoires (Brown *et al.*, 2003a, Blackmore *et al.*, 2012). Cependant, plusieurs études récentes confirment l'activation de la prolifération et l'augmentation de la génération de neuroblastes au niveau de la SVZ de souris et de rat adultes ayant eu accès à une roue (Lee *et al.*, 2016, Mastroilli *et al.*, 2017).

II.2.3. Autres niches neurogéniques

Alors que de nombreuses zones neurogéniques sont présentes dans le cerveau de certains vertébrés, comme par exemple le poisson-zèbre qui en possède plus d'une dizaine (Zupanc *et al.*, 2005, Alunni *et Bally-Cuif*, 2016), seules les niches neurogéniques de la SGZ et de la SVZ sont clairement caractérisées chez les mammifères à ce jour. Cependant différentes équipes ont montré que d'autres régions du cerveau murin adulte pouvaient également avoir une activité de neurogenèse.

II.2.3.1. L'hypothalamus

La formation de nouveaux neurones dans l'hypothalamus du cerveau adulte a été montrée chez le rat (Evans *et al.*, 2002, Markakis *et al.*, 2004) et la souris (Kokoeva *et al.*, 2005, Lee *et al.*, 2012a). L'hypothalamus est une structure située au-dessus du tronc cérébral, de part et d'autre de la base du troisième ventricule (Figure 15 et 3), et est en relation fonctionnelle étroite avec l'hypophyse sous-jacente. Par l'intégration de plusieurs signaux périphériques et la modulation de la sécrétion des hormones hypophysaires, il joue un rôle central dans la reproduction et la régulation de nombreux processus métaboliques (Pierce *et Xu*, 2010). Il permet notamment la modulation du taux d'hormones thyroïdiennes circulantes au sein de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien, par la sécrétion de l'hormone thyrotrope (TRH, voir partie I.1.2.), mais également la régulation de l'appétit (Schwartz *et al.*, 2000) et de la température corporelle, et participe à la régulation des

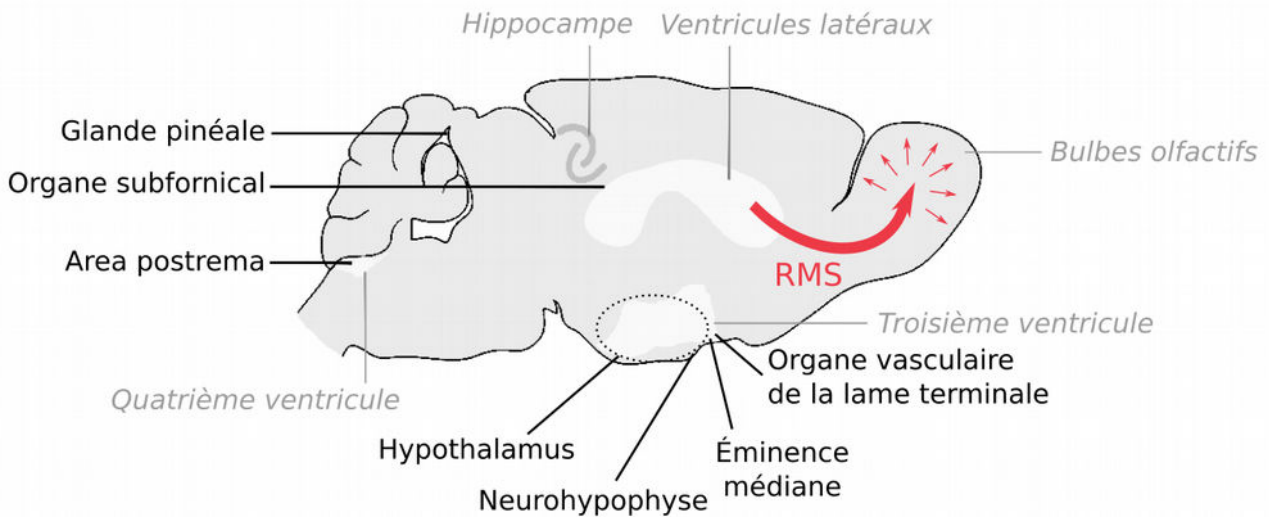


Figure 15: Niches neurogéniques adultes secondaires : hypothalamus et organes circumventriculaires. L'hypothalamus est situé de part et d'autre du troisième ventricule. Les tanyocytes bordant le troisième ventricule expriment des marqueurs de prolifération et de pluripotence, et migrent au sein de l'hypothalamus (noyaux arqués) pendant leur différenciation. Les organes circumventriculaires sont situés en bordure des différents ventricules cérébraux. Ils peuvent être « sensoriels » (organe vasculaire de la lame terminale, organe subfornical et area postrema) ou « sécréteurs » (neurohypophyse, glande pinéale et éminence médiane). Ils possèdent des cellules prolifératives pouvant se différencier en neurones, mais leur fonction n'est pas encore comprise.

rythmes circadiens. Le troisième ventricule est bordé par des cellules épendymales nommées tanyocytes, qui possèdent des caractéristiques similaires aux glias radiaires et aux CSNs adultes. Leur pôle apical est en effet en contact avec le liquide céphalo-rachidien et elles expriment des marqueurs tels que SOX2, Nestin ou GFAP (Haan *et al.*, 2013, Lee *et al.*, 2012a, Li *et al.*, 2012Cai), tout comme les CSNs de la SVZ et de la SGZ. Les tanyocytes expriment de plus des marqueurs de pluripotence (Ma *et al.*, 2015, Haan *et al.*, 2013), et ils peuvent former des neurosphères *in vitro* (Robins *et al.*, 2013). Leur rôle de CSNs a été confirmé *in vivo* grâce à l'utilisation de BrdU révélant leur capacité proliférative, et par différentes expériences de suivi de lignage cellulaire montrant leur différenciation et leur migration vers les noyaux arqués, une structure interne de l'hypothalamus (Lee *et al.*, 2012a, Robins *et al.*, 2013, Haan *et al.*, 2013, Jourdon *et al.*, 2016, Kokoeva *et al.*, 2005).

En conditions normales, l'hypothalamus produit moins de nouveaux neurones que la SVZ ou la SGZ (Migaud *et al.*, 2010). Mais des changements au niveau du métabolisme central peuvent modifier le taux de prolifération cellulaire et la neurogenèse hypothalamiques, permettant une adaptation à la nouvelle situation physiologique. C'est par exemple le cas lors de l'acclimatation à des températures élevées (Matsuzaki *et al.*, 2009) ou aux changements de saisons chez certains

animaux (Butruille *et al.*, 2017), ou encore lors de l'exercice physique (Niwa *et al.*, 2016). Des modifications apparaissent également lors de la prise d'un régime riche en graisses : une telle alimentation entraîne en effet une augmentation de la neurogenèse hypothalamique, qui permet une limitation de la prise de poids (Kokoeva *et al.*, 2005, Lee *et al.*, 2012a, Nascimento *et al.*, 2016). La neurogenèse hypothalamique semble donc également participer à la régulation de la balance énergétique (équilibre entre la quantité de calories ingérées et dépensées). Par ailleurs, il a été montré que la neurodégénération hypothalamique induit une prolifération et une production accrue de nouveaux neurones dans cette zone, montrant un potentiel régénératif local similaire à ce qui est observé dans la SVZ et la SGZ (Pierce et Xu, 2010). Mais les mécanismes impliqués dans la régulation de la neurogenèse hypothalamique restent encore largement inconnus.

On sait en revanche que la signalisation thyroïdienne est modulée au niveau hypothalamique en réponse à différentes conditions physiologiques (Mohásik *et al.*, 2011). La restriction calorique entraîne par exemple une augmentation de l'expression de la DIO2 dans les tanocytes (Diano *et al.*, 1998), tandis que la T₃ peut stimuler la prise alimentaire via l'hypothalamus (Kong *et al.*, 2004). À l'instar de leur action au niveau de la SGZ et de la SVZ, on peut supposer que les HTs participent également à la modulation de la neurogenèse hypothalamique.

Enfin, des liens ont récemment été montrés entre l'hypothalamus et la neurogenèse de la SVZ. Paul *et al.* ont en effet révélé l'existence de connexions entre les prolongements de neurones hypothalamiques et la partie antérieure ventrale de la SVZ chez la souris adulte (Paul *et al.*, 2017). Les auteurs ont montré que ces connexions peuvent directement moduler la neurogenèse dans cette sous-région de la SVZ, de façon corrélée avec la faim et la satiété. Ainsi, les changements induits par différents stimuli physiologiques sur la neurogenèse hypothalamique pourraient être directement liés à des modifications de la neurogenèse au niveau des autres niches du cerveau adulte, en particulier au niveau sous-ventriculaire.

II.2.3.2. Les organes circumventriculaires

Les organes circumventriculaires (OCV) sont des structures situées à la périphérie des ventricules cérébraux, caractérisées par une absence de barrière hémato-encéphalique : les capillaires sanguins situés à leur proximité sont fenestrés et ne possèdent pas de jonctions serrées, à la différence des vaisseaux des autres régions cérébrales (voir [partie I.2.2.1.](#)). Ce sont ainsi les seules zones du cerveau qui permettent des échanges directs avec la circulation sanguine. Les OCVs dits « sensoriels » (organe vasculaire de la lame terminale, organe subfornical et area postrema, voir [Figure 15](#)) peuvent détecter les changements de niveaux de sodium sanguin (Hiyama *et al.*, 2004,

Miyata *et al.*, 2010), ou détecter les agents pathogènes circulants (Chakravarty et Herkenham, 2005), et transmettre l'information aux autres régions cérébrales pour réguler le comportement en conséquence ou initier une réponse inflammatoire. À l'inverse, les OCVs « sécréteurs » (neurohypophyse, glande pinéale et éminence médiane) peuvent directement sécréter des hormones et des glycoprotéines dans le sang (Miyata et Hatton, 2002). Plusieurs études ont montré l'existence de CSNs prolifératives ayant la capacité de se différencier en neurones dans les OCVs de rongeurs adultes (Bennett *et al.*, 2009, Hourai et Miyata, 2013), mais la fonctionnalité de cette neurogenèse n'est pas encore connue. Il pourrait s'agir d'un mécanisme de neuroprotection pour compenser la vulnérabilité des neurones de ces régions, directement exposés aux substances circulant dans le sang, ou encore d'un mécanisme permettant l'adaptation continue à de nouvelles conditions physiologiques.

II.3. Différenciation des cellules souches neurales de la SVZ

Dans le cadre de notre étude des mécanismes régulant le choix de destin cellulaire des CSNs adultes, nous nous sommes plus particulièrement consacrés à la neurogenèse sous-ventriculaire. La SVZ est en effet le modèle d'étude de notre équipe de recherche depuis une vingtaine d'années, nous donnant une plus grande expertise concernant cette niche neurogénique. Elle a initialement été choisie en raison de sa localisation en bordure des ventricules latéraux, permettant une plus grande accessibilité pour des expériences de transfert de gène *in vivo* par stéréotaxie. Des injections intra-cérébro-ventriculaires (ICV) de siRNA (*small interfering RNA*, permettant d'empêcher l'expression d'un gène spécifique par complémentarité avec la séquence de l'ARN messager) ou de différents colorants vitaux sont en effet moins invasives dans une cavité naturelle telle que les ventricules plutôt que dans un tissu « plein » tel que l'hippocampe, permettant de garder des conditions d'études au plus proche des conditions physiologiques. C'est également par cette approche que nous avons pu étudier *in vivo* la respiration mitochondriale des cellules de la niche grâce à l'utilisation du marqueur JC-1 (voir [Matériels et méthodes](#) et [Résultats](#)).

II.3.1. CSNs quiescentes et activées

Les CSNs de la SVZ sont présentes soit sous forme quiescente (état non prolifératif), soit sous forme activée (état prolifératif) (Li et Clevers, 2010, Codega *et al.*, 2014). L'usage d'agents anti-mitotiques (AraC, ionisation aux rayons X ou excès de thymidine tritiée) *in vivo* ne réduit que

légèrement le nombre total de CSNs dans la SVZ, montrant que celles-ci sont principalement présentes sous leur forme quiescente (Doetsch *et al.*, 1999b, Shinohara *et al.*, 1997, Morshead *et al.*, 1994). Les progéniteurs et les neuroblastes ne sont en revanche plus présents dans la niche après un tel traitement. Dans les jours suivant la fin du traitement, certaines CSNs quiescentes (CSNqs) s'activent et permettent une repopulation progressive de la SVZ, redonnant naissance à de nouveaux progéniteurs et de nouveaux neuroblastes (Doetsch *et al.*, 1999b, Daynac *et al.*, 2013). Ainsi les CSNqs constituent un pool pouvant générer des CSNs actives (CSNas) à prolifération lente qui, par divisions asymétriques, génèrent des progéniteurs multipotents à prolifération rapide.

Plusieurs marqueurs ont été identifiés pour différencier les CSNqs des CSNas. Les CSNs expriment toutes certains facteurs spécifiques des cellules de type astrocytaire, tels que GFAP (Doetsch, 2003) ou GLAST (Doetsch *et al.*, 1999a). En revanche, seules les CSNas expriment des facteurs spécifiques des cellules en prolifération, tels que le récepteur au facteur de croissance EGF (*epidermal growth factor receptor*, EGFR) (Doetsch *et al.*, 2002, Pastrana *et al.*, 2009). Peu de marqueurs spécifiquement exprimés dans les CSNqs ont en revanche été caractérisés. Des expériences de tri cellulaire (*fluorescent-assay cell sorting*, FACS) ont cependant révélé la possibilité de distinguer les CSNqs des CSNas par l'intensité du marqueur LeX (ou CD15), les CSNqs correspondant aux cellules LeX^{bright}/EGFR⁻ (Daynac *et al.*, 2013). Furutachi *et al.* ont par ailleurs montré que l'inhibiteur de la kinase cycline-dépendante p57 (également appelé Kip2 ou CDKN1C) est nécessaire à la quiescence des CSNs, et qu'une inhibition de son expression favorise l'activation des CSNs de la SGZ (Kawaguchi *et al.*, 2013). Une activation de la prolifération des CSNs de la SGZ par l'activité physique entraîne de plus une diminution du nombre de CSNs exprimant p57 (Kawaguchi *et al.*, 2013). L'équipe du Professeur Y. Gotoh, qui a mené cette étude et avec qui j'ai eu l'opportunité d'échanger et de travailler au cours de mon doctorat, a montré que cette expression de p57 spécifique des CSNqs est également présente dans la SVZ adulte (donnée non-publiée).

Différentes études montrent que les CSNqs et les CSNas sont elles-mêmes constituées de plusieurs sous-types cellulaires. Codega *et al.* ont en effet noté en 2014 la co-existence de CSNqs positives et négatives pour CD133 (ou prominine) (Codega *et al.*, 2014), une glycoprotéine transmembranaire exprimée sur le cil primaire des CSNs, un marqueur habituellement utilisé en combinaison avec GFAP pour distinguer les astrocytes matures des CSNs (Silva-Vargas *et al.*, 2016). En 2015, une étude transcriptomique sur cellule unique a confirmé au niveau moléculaire l'existence de plusieurs sous-types de CSNqs dans la SVZ adulte, mais a également distingué deux sous-populations de CSNas (Llorens-Bobadilla *et al.*, 2015). L'étude des quatre catégories de CSNs définies révèle en particulier une diminution progressive de l'expression de marqueurs spécifiques de la glycolyse et

de la synthèse lipidique au cours de l'activation, et une augmentation des marqueurs mitotiques, particulièrement actifs dans les CSNs tardives (Llorens-Bobadilla *et al.*, 2015).

Les processus contrôlant l'activation des CSNs sont encore mal connus. Il a cependant été montré que les hormones thyroïdiennes (HTs) participent au contrôle de la prolifération des CSNs. En effet, des souris adultes hypothyroïdiennes présentent une augmentation du nombre CSNs, celles-ci étant bloquées en phase S du cycle cellulaire (Lemkine *et al.*, 2005). Une injection intra-péritonéale de T₃ faite aux animaux hypothyroïdiens permet une reprise du cycle cellulaire, grâce à une régulation directe du gène *c-myc* (Lemkine *et al.*, 2005). Il a par ailleurs été montré dans la SVZ de souris nouveau-nées que la T₃ régule négativement l'expression du gène codant la CyclinD1, nécessaire à la prolifération (Hassani *et al.*, 2007). De plus, les HTs possèdent la capacité d'inhiber l'expression du gène *p57*, comme cela a été montré dans des cellules cancéreuses chez la souris (Wood *et al.*, 2002). Ainsi, la signalisation thyroïdienne pourrait participer au contrôle de l'activation des CSNs, potentiellement par l'intermédiaire de *c-myc*, *cyclinD1* ou *p57*. Mais des résultats sur un autre modèle de cellules souches adultes, les cellules souches musculaires, montrent que la signalisation thyroïdienne peut à l'inverse être nécessaire au maintien dans un état de quiescence (Dentice *et al.*, 2014). Ainsi les mécanismes en jeu sont probablement plus complexes et peuvent dépendre du type cellulaire et du stade de développement. *p57* étant exprimé dans les CSNqs et non dans les CSNs de la SVZ adulte, l'étude d'un lien entre les HTs et *p57* dans l'activation des CSNs constitue une question intéressante.

II.3.2. Prolifération, détermination et différenciation des CSNs de la SVZ adulte

La neurogenèse sous-ventriculaire est, tout comme la neurogenèse hippocampale, finement régulée par des signaux intrinsèques et des signaux extrinsèques. Les voies de signalisation intracellulaire s'avèrent en effet souvent activées par des facteurs extérieurs à la cellule, pouvant provenir des cellules environnantes (sécrétions ou interactions cellulaires) ou provenir de la circulation sanguine (Silva-Vargas *et al.*, 2013, Silva-Vargas *et al.*, 2016). L'environnement cellulaire est ainsi primordial, comme illustré par des expériences de transplantation cellulaire où des précurseurs de la SVZ génèrent des neurones hippocampaux dans la SGZ, tandis que des précurseurs de la SGZ génèrent des interneurons olfactifs lorsqu'ils sont transplantés dans la RMS (Suhonen *et al.*, 1996). Les signaux cellulaires intrinsèques sont également déterminants, comme le montre la prédétermination de certaines CSNs de la SVZ à se différencier seulement en certains sous-types d'interneurones, quel que soit leur environnement cellulaire (Merkle *et al.*, 2007) (voir [partie](#)

II.3.3.5.). Les processus impliqués dans le métabolisme cellulaire sont également décisifs pour la mise en place des spécificités des différents types de cellules de la niche. Les cellules souches quiescentes et les cellules prolifératives (cellules souches activées, progéniteurs) ont en effet un métabolisme interne qui les distingue des cellules matures (Ito et Suda, 2014) : une transition entre un métabolisme dit glycolytique et un métabolisme basé sur la phosphorylation oxydative est nécessaire à la différenciation, comme nous le détaillerons dans la **partie III**.

II.3.2.1. Marqueurs de prolifération

Certaines protéines sont exprimées spécifiquement dans les cellules prolifératives. Le facteur de transcription SOX2, largement exprimé dans la SVZ adulte, est ainsi connu comme étant essentiel aux processus de prolifération et de pluripotence cellulaire. Il est exprimé dans les CSNas et les progéniteurs, et son expression diminue progressivement au début de la différenciation cellulaire (Graham *et al.*, 2003, Sikorska *et al.*, 2008, Ferri *et al.*, 2004). Le gène *Sox2* est de plus une cible directe des HTs : notre équipe a en effet montré que la T₃ régule négativement son expression dans la SVZ au cours de la détermination des progéniteurs en neuroblastes, via le récepteur TR α (López-Juárez *et al.*, 2012). Le récepteur au facteur de croissance épidermique EGFR (*epidermal growth factor receptor*) et la Nestin (*neuroectodermal stem cell marker*) sont également spécifiques des cellules prolifératives. Ils sont exprimés dans les CSNas et les progéniteurs de la SVZ adulte, et leur expression diminue au début de la différenciation. Nous avons également montré récemment que *Egfr* est réprimé au niveau transcriptionnel par la signalisation thyroïdienne (Remaud *et al.*, 2017) (voir **Annexe I**). L'utilisation d'anticorps dirigés contre SOX2, EGFR et Nestin constitue donc un moyen privilégié pour distinguer les CSNas et progéniteurs des autres cellules de la SVZ par immuno-marquage (**Figure 16**). La protéine des filaments intermédiaires GFAP (*glial fibrillary acidic protein*) est, quant à elle, exprimée dans l'ensemble des CSNs, quiescentes ou actives. Mais sa détection nécessite l'utilisation conjointe d'autres anticorps spécifiques, afin de distinguer les CSNs des astrocytes matures, qui expriment également GFAP.

La protéine-déacétylase sirtuine 1 (SIRT1) est elle aussi connue pour être exprimée dans les CSNs et les progéniteurs adultes (Saharan *et al.*, 2013). On sait de plus qu'elle permet le maintien des cellules à un stade indifférencié, dans la SVZ comme dans l'hippocampe (Saharan *et al.*, 2013). Confirmant ces résultats, Rafalski *et al.* ont montré que l'inactivation de SIRT1 promeut la différenciation des CSNs (Rafalski *et al.*, 2013). Si les auteurs ont choisi d'étudier plus particulièrement l'induction de la différenciation vers la voie gliale, l'inhibition de SIRT1 entraîne également une augmentation du nombre de cellules se différenciant vers la voie neuronale,

confirmant l'importance de l'expression de la sirtuine aux stades cellulaires précédant la détermination (Rafalski *et al.*, 2013). SIRT1 favorise de plus le maintien des caractéristiques des cellules souches par une régulation directe de SOX2 (Yoon *et al.*, 2014), mais aussi de OCT4 (*octamer-binding transcription factor 4*) (Williams *et al.*, 2016) et NANOG (Han *et al.*, 2008), deux autres facteurs de transcription majeurs pour le maintien de la pluripotence.

II.3.2.2. Destin neuronal

Notre équipe a montré l'importance qu'ont les hormones thyroïdiennes (HTs) pour la différenciation dans la voie neuronale des CSNs de la SVZ adulte. Des expériences d'immuno-histochimie dans la SVZ ont en effet permis de révéler que le récepteur aux HTs TR α 1 est exprimé dans quelques progéniteurs SOX2⁺, et largement exprimé dans les neuroblastes (López-Juárez *et al.*, 2012). De plus, comme nous l'avons déjà évoqué, la surexpression de TR α 1 dans la niche entraîne une répression directe de l'expression de *Sox2*, augmentant ainsi le nombre de neuroblastes (López-Juárez *et al.*, 2012). En plus de TR α 1, les progéniteurs s'engageant vers la voie neuronale expriment d'autres marqueurs qui les distinguent des autres cellules de la niche. Il est en particulier bien établi que les neuroblastes migratoires expriment la protéine doublecortine ou DCX (Figure 16). DCX est nécessaire à la migration des neuroblastes du SNC comme du système nerveux périphérique, durant le développement embryonnaire (Gleeson *et al.*, 1998, des Portes *et al.*, 1998) comme dans le cerveau adulte (Gleeson *et al.*, 1999, Francis *et al.*, 1999). L'abréviation « DCX » provient d'ailleurs de l'observation de la formation d'un « double cortex » chez des patientes portant une mutation pour le gène *Dcx*, situé sur le chromosome X, et provoquant un défaut de migration des neuroblastes (Gleeson *et al.*, 1998). DCX stimule la polymérisation des microtubules et les stabilise en s'y associant, permettant la croissance des prolongements des neuroblastes et leur migration (Shmueli *et al.*, 2001, Brown *et al.*, 2003b). Plusieurs études ont par ailleurs souligné la forte homologie que DCX possède avec une protéine possédant un domaine de liaison à la calmoduline liant des ions Ca²⁺, la DCLK1 (*doublecortin-like kinase 1*, ou DCAMKL1, *doublecortin and calmodulin kinase-like 1*), également associée aux microtubules (Sossey-Alaoui *et al.*, 1998, Sossey-Alaoui and Srivastava, 1999, Lin *et al.*, 2000). Les auteurs de ces études suggèrent ainsi que l'activité de la DCX pourrait être dépendante de la présence de calcium.

La glycoprotéine de surface CD24 est également nécessaire à la différenciation neuronale (Nieoullon *et al.*, 2005). Des anticorps dirigés contre CD24 sont ainsi couramment utilisés pour identifier les neuroblastes (Calaora *et al.*, 1996, Turaç *et al.*, 2013), particulièrement dans le cadre d'expériences de tri cellulaire par cytométrie (FACS, *fluorescent-assay cell sorting*). Mais il a

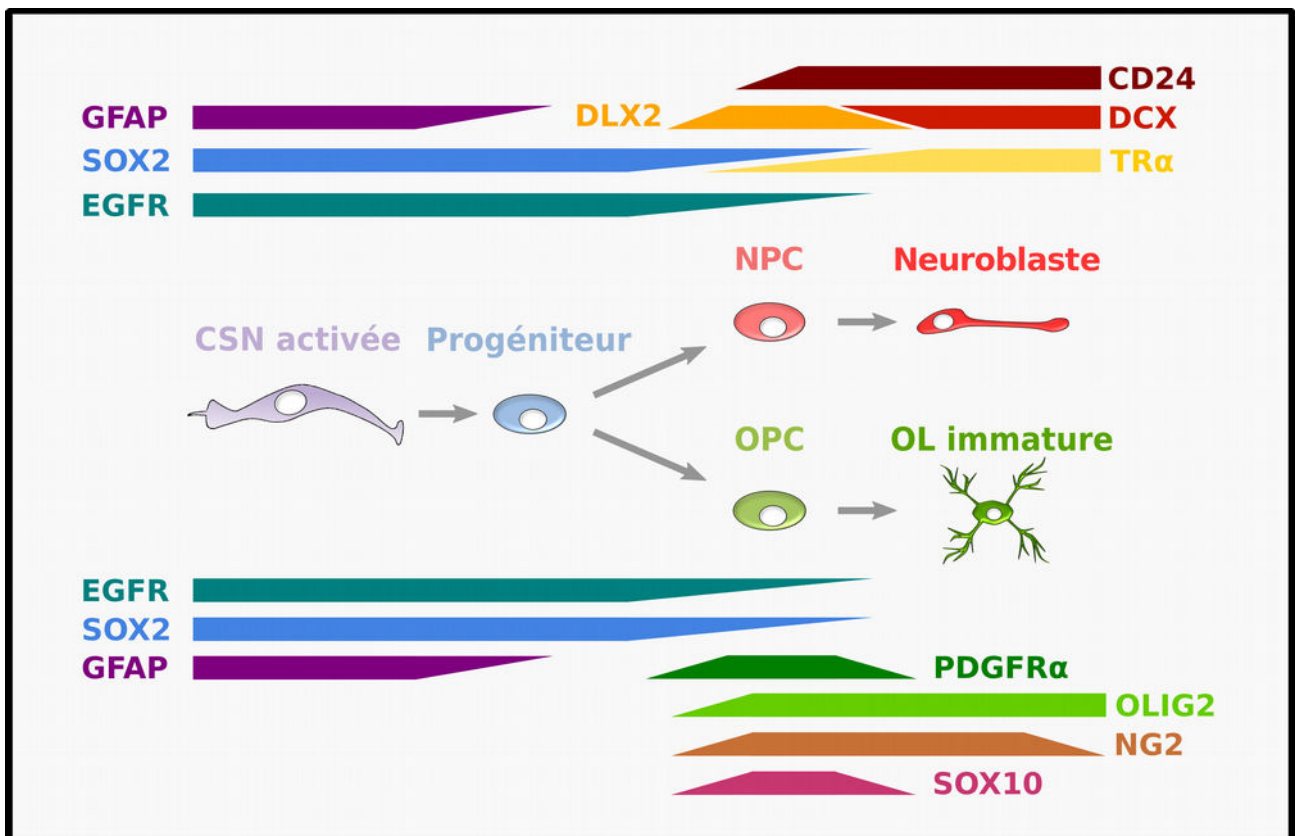


Figure 16: Spécificité des marqueurs des cellules de la SVZ adulte. GFAP est un marqueur astrocytaire, exprimé par les astrocytes matures comme les CSNs. Les CSNs activées expriment également SOX2 et EGFR, tout comme les progéniteurs. Lorsque les progéniteurs s'engagent vers la voie neuronale et deviennent des précurseurs neuronaux (neuronal precursor cells, NPCs), il expriment DLX2 de façon transitoire. L'expression de CD24, DCX ainsi que celle du récepteur aux hormones thyroïdiennes TR α augmente progressivement au cours de la différenciation en neuroblaste. Les marqueurs de neurones matures apparaissent après la migration. Les précurseurs oligodendrocytaires (oligodendrocyte precursor cells, OPCs) expriment les marqueurs PDGFR α , SOX10, OLIG2 et NG2. Tandis que PDGFR α et SOX10 ne sont que transitoires, OLIG2 et NG2 continue à être exprimés par les oligodendrocytes (OL) en cours de différenciation.

également été utilisé pour identifier les neurones différenciés (Calaora *et al.*, 1996, Pruszek *et al.*, 2009) : CD24 apparaît donc exprimé durant toute la différenciation neuronale, jusqu'aux neurones matures.

Parmi les autres marqueurs couramment utilisés pour l'étude de la neurogenèse adulte, on peut noter PSA-NCAM (*neural cell adhesion molecule*, post-traductionnellement modifié avec des polymères d'acide sialique), un autre marqueur bien identifié des neuroblastes (Rousselot *et al.*, 1995). Enfin, les marqueurs TUJ1 (ou Tubuline β 3) et NeuN font partie des marqueurs exprimés plus tardivement, après le stade neuroblaste. Ils peuvent ainsi permettre de détecter les neurones matures, dont ceux originaires de la SVZ, présents dans les bulbes olfactifs (Mullen *et al.*, 1992).

Jusqu'à présent les preuves manquaient en revanche quant à l'existence d'un marqueur spécifique des stades plus précoces d'engagement vers la voie neuronale, correspondant au stade des

précurseurs neuronaux (*neuronal precursor cells*, NPCs). Dans la SVZ périnatale, la protéine DLX2 (*distal-less homeobox 2*) a été décrite comme étant exprimée par les cellules ayant un potentiel de différenciation vers les deux lignages, neuronal et glial (Marshall et Goldman, 2002). Suh *et al.* ont montré chez la souris au jour post-natal P7 que DLX2 promeut la transition cellulaire entre le stade de CSN et celui des progéniteurs (Suh *et al.*, 2009). Mais la surexpression de DLX2 chez l'adulte a montré que cette protéine pouvait avoir une action pro-neurogénique dans la SVZ (Jones and Connor, 2016). Grâce à des expériences de co-immuno-histochimie réalisées dans la SVZ de souris adulte, avec des anticorps anti-DLX2 combinés à des anticorps dirigés contre des marqueurs spécifiques des autres types cellulaires de la niche, nous avons montré que l'expression de DLX2 est spécifique des NPCs, en faisant un marqueur utilisable spécifiquement pour détecter ce type cellulaire (voir Résultats I) (Gothié *et al.*, 2017a).

II.3.2.3. Destin Glial

Dans des conditions physiologiques, la majorité des progéniteurs de la niche se détermine en neuroblastes tandis que les autres s'engagent vers la voie gliale (Menn *et al.*, 2006). En revanche, en réponse à une démyélinisation, les NSCs et progéniteurs génèrent massivement de nouveaux OPCs (Nait-Oumesmar *et al.*, 1999, Brousse *et al.*, 2015, Rafalski *et al.*, 2013). La détermination en cellules gliales se caractérise elle aussi par l'expression de marqueurs cellulaires spécifiques. Ainsi les OPCs expriment le facteur de transcription SOX10 (*SRY-box 10*) (Figure 16) (Britsch *et al.*, 2001, Kuhlbrodt *et al.*, 1998), qui peut induire de façon directe l'expression de plusieurs protéines, parmi lesquelles la connexine 32 (CX32), impliquée dans la formation de la myéline (Scherer *et al.*, 1995, Bondurand *et al.*, 2001). L'expression de SOX10 est nécessaire à la formation des oligodendrocytes (Stolt *et al.*, 2004) et promeut le destin oligodendrocytaire, comme cela a été montré dans des cultures cellulaires réalisées à partir de CSNs de la SVZ de souris (P5) (Pozniak *et al.*, 2010). Il s'exprime néanmoins de façon transitoire dans la SVZ adulte puisqu'on ne le retrouve pas dans les oligodendrocytes (OLs) immatures. Les OPCs de la SVZ expriment aussi le récepteur cellulaire PDGFR α (*platelet-derived growth factor receptor A*) (Menn *et al.*, 2006). SOX10 pourrait participer à la régulation de PDGFR α dans les OPCs de la moelle épinière (Finzsch *et al.*, 2008), mais une telle régulation n'a pas été montrée dans le reste du SNC. L'expression de PDGFR α a en revanche été détectée dans des cellules GFAP⁺ de la SVZ adulte, indiquant qu'il pourrait y être exprimé de façon légèrement plus précoce que SOX10 (Jackson *et al.*, 2006). Plusieurs études ont par ailleurs montré que le facteur de prolifération EGFR promeut la détermination oligodendrocytaire des cellules de la SVZ et la myélinisation, aussi bien en conditions

physiologiques que suite à l'induction d'une démyélinisation (Aguirre et Gallo, 2007, Aguirre *et al.*, 2007, Gonzalez-Perez *et al.*, 2009). Une infusion continue du facteur EGF dans les ventricules pendant 7 jours entraîne en effet une augmentation du nombre de cellules se différenciant en OLs, et ce, aux dépens de la formation de neuroblastes (Gonzalez-Perez *et al.*, 2009). Ainsi une stimulation accrue de la voie de signalisation de l'EGFR semble être particulièrement favorable au destin oligodendrocytaire.

Le facteur de transcription OLIG2 (*oligodendrocyte transcription factor 2*) est lui aussi bien identifié en tant que marqueur spécifique du lignage oligodendrocytaire dans le système nerveux central (Lu *et al.*, 2000, Zhou *et al.*, 2000). Au milieu des années 2000, deux équipes ont montré chez la souris adulte qu'un sous-ensemble de cellules de la SVZ ayant des caractéristiques de progéniteurs exprimait également OLIG2, tandis qu'une surexpression du gène *Olig2* bloquait la formation d'interneurones et promouvait la création de nouveaux oligodendrocytes (Hack *et al.*, 2005, Marshall *et al.*, 2005). Les cellules de la SVZ engagées vers la détermination oligodendrocytaire expriment donc OLIG2 dès le stade OPC. OLIG2 est également détecté dans les cellules originaires de la SVZ qui expriment O4, un marqueur des oligodendrocytes immatures (Sommer et Schachner, 1981), montrant sa persistance jusqu'à ce stade cellulaire (Menn *et al.*, 2006). OLIG2 est par ailleurs indispensable à l'expression de la chondroïtine sulfate NG2 (*chondroitin sulfate proteoglycan neuron-glia antigen 2*), également exprimée dans les cellules du lignage glial depuis le stade OPC (Zhu *et al.*, 2008, Komitova *et al.*, 2009, Polito et Reynolds, 2005). Enfin, lors de la maturation des OLs dans le corps calleux et le striatum, plusieurs protéines spécifiques de la gaine de myéline sont mises en place, telles que MBP (*myelin basic protein*), MOG (*myelin oligodendrocyte protein*) ou PLP (*myelin proteolipid protein*).

Les oligodendrocytes issus de la SVZ peuvent contribuer à la remyélinisation. Après l'ingestion d'une drogue provoquant une démyélinisation dans le SNC, la cuprizone, on observe chez la souris des événements de remyélinisation spontanée. Ce modèle d'étude est donc particulièrement intéressant pour l'étude des mécanismes impliqués dans la formation de la myéline chez l'adulte. Plusieurs équipes ont ainsi montré que des OPCs issus de la SVZ migraient vers le corps calleux après un événement de démyélinisation, et contribuaient sur place à la génération d'oligodendrocytes matures et à la restauration de la myéline (Xing *et al.*, 2014, Brousse *et al.*, 2015, Remaud *et al.*, 2017). Si les OPCs résidant près des zones lésées contribuent également à la remyélinisation, la myéline générée par les OPCs issus de la SVZ est significativement plus épaisse, indicateur d'une remyélinisation plus efficace (Xing *et al.*, 2014). De plus, nous avons montré récemment qu'une courte période d'hypothyroïdisme durant la phase de démyélinisation, qui correspond au moment où de nouveaux OPCs sont générés, favorise l'engagement des progéniteurs

de la SVZ vers la voie oligodendrocytaire (Remaud *et al.*, 2017). En comparaison avec les animaux euthyroïdiens, le corps calleux des souris hypothyroïdiennes présente en effet une remyélinisation plus efficace, c'est-à-dire que l'épaisseur de la gaine de myéline est similaire à celle des souris n'ayant pas subi de démyélinisation. De plus, des expériences d'électrophysiologie nous ont permis d'observer un rétablissement plus rapide d'une conduction axonale optimale (Remaud *et al.*, 2017). Ainsi, à l'inverse de la détermination neuronale qui nécessite une induction par les HTs, la détermination oligodendrocytaire est favorisée par une période d'hypothyroïdisme (Remaud *et al.*, 2017 ; Gothié *et al.*, 2017a)

II.3.3. Facteurs extrinsèques et voies de signalisation impliqués dans la neurogenèse

II.3.3.1. Voie Wnt

La voie Wnt correspond à une cascade de signalisation très importante pour le développement cérébral (McMahon et Bradley, 1990, Zechner *et al.*, 2003, Hirabayashi et Gotoh, 2005), mais également pour la neurogenèse adulte (Lie *et al.*, 2005, Adachi *et al.*, 2007). Les ligands de la famille Wnt sont des glycoprotéines sécrétées, qui se lient spécifiquement à des récepteurs membranaires appartenant à la famille Frizzled. Ils peuvent par ce biais activer plusieurs voies de signalisation intracellulaires, dont la principale est la voie Wnt/ β -caténine. L'activation de la voie Wnt/ β -caténine permet l'inhibition de la dégradation de la protéine β -caténine, qui peut alors agir en tant que co-activateur pour l'induction de plusieurs gènes cibles.

Les astrocytes du gyrus denté de l'hippocampe sécrètent des protéines de la famille Wnt qui activent la voie de signalisation dans les CSNs de la SGZ, promouvant la prolifération (Lie *et al.*, 2005) et la détermination vers un destin neuronal (Lie *et al.*, 2005, Kuwabara *et al.*, 2009). Dans la SVZ, la surexpression des protéines Wnt3a et Wnt5a, ainsi que la stabilisation de la β -caténine, entraînent également une augmentation de la prolifération des CSNs chez la souris adulte (Adachi *et al.*, 2007, Azim *et al.*, 2014b), ainsi que la différenciation neuronale (Yu *et al.*, 2006a, Adachi *et al.*, 2007). Cependant, les travaux d'Azim *et al.* ont montré qu'une induction de la voie Wnt stimulait particulièrement la génération d'OPCs (Azim *et al.*, 2014a). Ortega *et al.* ont également montré une augmentation du nombre d'oligodendrocytes générés à la suite de l'activation de Wnt3 (Ortega *et al.*, 2013), mais leurs résultats semblent indiquer qu'il s'agirait d'une induction de la prolifération des cellules déjà déterminées vers un lignage OL plutôt qu'une activation de la détermination gliale.

L'influence de la voie Wnt sur la SVZ adulte semble donc être avant tout importante au niveau de la prolifération cellulaire, son implication dans le choix de destin cellulaire étant plus controversée. Les HTs peuvent moduler l'expression de plusieurs gènes cibles de la voie Wnt, soit directement, soit par le contrôle de l'expression de protéines de la voie de signalisation. Ainsi les HTs peuvent par exemple inhiber la voie Wnt dans les cellules souches intestinales (Catalano *et al.*, 2016), ou l'activer dans les cellules souches mésenchymateuses (Fernández-Pernas *et al.*, 2016), promouvant dans les deux cas la différenciation cellulaire. Par ailleurs, les gènes *Ccnd1* (codant la Cycline D1) et *Myc* (codant C-myc), réprimés par les HTs dans la SVZ (Lemkine *et al.*, 2005, Hassani *et al.*, 2007, López-Juárez *et al.*, 2012), sont également des gènes cibles de la voie Wnt (Shtutman *et al.*, 1999, Tetsu and McCormick, 1999, He *et al.*, 1998). Ainsi, certaines régulations engendrées par les HTs dans les cellules de la SVZ pourraient hypothétiquement avoir lieu de façon indirecte via une modulation de la voie Wnt. Il pourrait donc être intéressant d'étudier les liens entre la signalisation thyroïdienne et la voie Wnt dans le cadre de la neurogenèse sous-ventriculaire adulte.

II.3.3.2. Voie Notch

La voie Notch est, elle aussi, particulièrement importante pour le contrôle de la prolifération des CSNs et le choix de destin cellulaire dans le cerveau embryonnaire et adulte (Imayoshi *et al.*, 2010, Kawaguchi *et al.*, 2013). Les récepteurs membranaires de la famille Notch sont activés par leur liaison avec les ligands transmembranaires Delta et Jagged, exprimés à la surface de cellules voisines (cellules émettrices du signal Notch). La liaison ligand/récepteur entraîne alors le clivage du domaine intracellulaire de Notch, NICD (*notch intracellular domain*), dans le cytoplasme de la cellule réceptrice du signal (Figure 17). NICD peut alors former un complexe protéique avec RBPj (*recombining binding protein suppressor of hairless*) et activer la transcription de différents gènes, parmi lesquels les gènes codants les protéines de la famille HES (*hairly and enhancer of split*).

Durant le développement embryonnaire murin, les précurseurs neuronaux expriment le ligand Delta DLL1 (*delta-like protein 1*) à leur surface, activant la signalisation Notch dans les cellules voisines (Castro *et al.*, 2006). Le complexe NICD-RBPj y induit alors l'expression de HES1 et HES5, qui vont réprimer la transcription des gènes *Dll1*, *Ngn2* (*neurogenin-2*), *Mash1* (*mammalian achaete-scute homolog 1*) ou encore *Jag1* (*jagged 1*), nécessaires à la différenciation neuronale (Artavanis-Tsakonas *et al.*, 1999, Ohtsuka *et al.*, 1999, Castro *et al.*, 2006, Hatakeyama *et al.*, 2004, Kobayashi *et al.*, 2009, Lowell *et al.*, 2006). Les neurones en développement empêchent ainsi les cellules voisines de se différencier, permettant le maintien d'un pool de cellules prolifératives indéterminées (Figure 17).

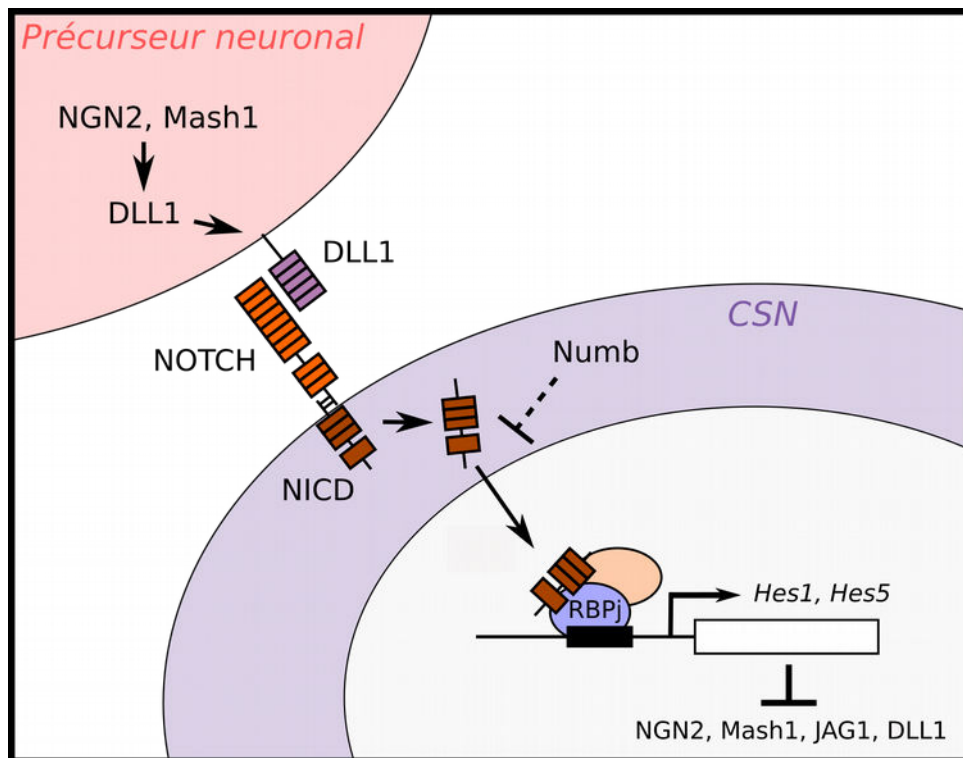


Figure 17: Voie Notch dans les cellules de la SVZ. Les cellules à destin neuronal expriment le ligand DLL1 à leur surface. DLL1 se lie à la protéine NOTCH située à la surface des cellules souches neurales (CSN) de la niche, qui libère sa partie cytoplasmique NICD. NICD forme un complexe protéique avec RBPj, qui active la transcription des gènes Hes1 et Hes5, dont les protéines inhibent l'expression de NGN2, Mash1, JAG1 et DLL1. Numb peut inhiber la voie Notch, notamment dans les progéniteurs.

Dans la SVZ adulte, il a été montré qu'une inactivation de RBPj entraîne la différenciation de l'ensemble des CSNs de la niche en neurones (Imayoshi *et al.*, 2010). La neurogenèse est ainsi transitoirement activée, mais est ensuite stoppée prématurément en raison d'un épuisement des CSNs de la niche (Imayoshi *et al.*, 2010), montrant le rôle capital de la voie Notch dans le maintien du pool de CSNs adultes. De la même façon qu'aux stades embryonnaires, les CSNs de la SVZ adulte expriment donc le récepteur Notch (isoforme Notch1) à leur surface, permettant l'activation de la voie par les cellules de la niche exprimant le ligand. Dans les progéniteurs, la signalisation induite par EGFR peut entraîner l'ubiquitination de Notch1 via une induction de la protéine Numb (McGill et McGlade, 2003, Aguirre *et al.*, 2010). Il a de plus été montré qu'une surexpression d'EGFR dans les progéniteurs induisait une diminution de la signalisation Notch dans les CSNs environnantes *in vitro*, indiquant que l'inhibition de la voie Notch via EGFR peut également se faire de façon intercellulaire (McGill et McGlade, 2003, Aguirre *et al.*, 2010). L'action des facteurs Notch et EGFR permet ainsi le maintien d'un équilibre entre un pool de CSNs peu prolifératives et des progéniteurs à prolifération rapide.

Notch1 se révèle également exprimé par les neuroblastes dans la SVZ et la RMS, son expression diminuant au cours de la migration vers les bulbes olfactifs (Givogri *et al.*, 2006, Sun *et al.*, 2013), tandis que son ligand Jagged1 est exprimé par les CSNs de la niche (Sun *et al.*, 2013). Worlitzer *et al.* ont montré qu'un co-répresseur de la voie Notch, NKAP, était exprimé dans les progéniteurs et les neuroblastes, mais pas dans les CSNs (Worlitzer et Schwamborn, 2014). NKAP pourrait donc être impliqué dans le contrôle de la voie Notch durant la différenciation neuronale, y empêchant l'activation des gènes *Hes*.

Notch1 est par ailleurs exprimé par les OPCs, où il permet la répression de la différenciation en OL dans le SNC de la souris aux stades embryonnaire et adulte (Wang *et al.*, 1998, Genoud *et al.*, 2002). Cela n'a cependant pas été montré spécifiquement au niveau de la SVZ à ce jour. La voie Notch, impliquée dans la prolifération des cellules de la SVZ, pourrait donc également avoir un rôle dans le choix de destin et la différenciation des cellules de la niche, qui reste cependant à éclaircir.

Les HTs pourraient avoir un rôle important dans la régulation de la voie Notch dans la SVZ adulte. D'une part, il a en effet été montré que l'action des HTs entraîne une augmentation de l'expression de HES1 et HES5 dans le cerveau embryonnaire murin (Bansal *et al.*, 2005). D'autre part, les HTs contrôlent la prolifération et la différenciation des cellules souches intestinales par la modulation directe de plusieurs acteurs de la voie Notch (Sirakov *et al.*, 2015). Il serait donc particulièrement intéressant d'étudier l'influence des HTs sur la modulation de la voie Notch dans le cadre de la neurogenèse adulte.

II.3.3.3. Voie Sonic Hedgehog

La signalisation sonic hedgehog (Shh) est cruciale pour la régulation du développement du système nerveux central, ainsi que pour le contrôle de la neurogenèse adulte. Shh est une protéine sécrétée dans le milieu extracellulaire, qui agit par l'intermédiaire d'un récepteur transmembranaire, Patched (Ptc), et du co-récepteur Smoothed (Smo), présents à la surface des cellules cibles. La liaison de Shh à Ptc induit l'activation d'une cascade de signalisation s'achevant par la transcription de plusieurs gènes, en particulier ceux des protéines de la famille Gli. L'invalidation de Smo entraîne une réduction de la prolifération des progéniteurs dans la SVZ adulte (Machold *et al.*, 2003), montrant l'importance de la voie Shh dans ce processus. Shh est notamment sécrété par une population de neurones du cerveau antérieur proche de la SVZ, qui permet une induction de l'expression de *Gli1* dans les CSNs de la SVZ ventrale (Ihrie *et al.*, 2011). *Gli1* joue alors un rôle dans la spécialisation des neurones qui en sont issus, participant ainsi à la spécification dorso-ventrale de la SVZ (Ihrie *et al.*, 2011). Shh agit également en tant que molécule chémoattractante,

un phénomène déterminant pour la migration des neuroblastes vers les bulbes olfactifs (Balordi et Fishell, 2007, Angot *et al.*, 2008) et pour la croissance axonale (Charron *et al.*, 2003, Okada *et al.*, 2006). La signalisation Shh est par ailleurs également nécessaire à la maturation des oligodendrocytes (Wang et Almazan, 2016).

Il a été montré dans des cellules de carcinome basocellulaire (cellules cancéreuses de l'épiderme) que la signalisation Shh était activatrice de DIO3 (Luongo *et al.*, 2014), favorisant ainsi l'inactivation des HTs. La signalisation Shh étant particulièrement importante au niveau de la SVZ ventrale, la question se pose d'une action au niveau de la signalisation thyroïdienne dans cette région. Shh pourrait favoriser une forte présence de DIO3 dans les cellules de la SVZ ventrale, et ainsi participer à une régionalisation de l'action des HTs dans la niche.

II.3.4. Régionalisation de la SVZ

Contrairement à ce qui a longtemps été supposé, les CSNs de la SVZ ne sont pas une population homogène. On sait en effet aujourd'hui que la SVZ est « régionalisée », c'est-à-dire que différentes sous-régions de la niche contiennent des cellules se différenciant préférentiellement en certains types de cellules neurales matures.

Les bulbes olfactifs, où migrent les neuroblastes nouvellement générés, sont composés de différents types d'interneurones, organisés en différentes couches et ayant différentes fonctions. On distingue ainsi 6 couches différentes dans les bulbes olfactifs (Figure 18). Les nouveaux interneurones s'intègrent au niveau de la couche granulaire et de la couche glomérulaire, où ils régulent l'activité des cellules mitrales, neurones recevant les informations olfactives depuis les récepteurs olfactifs et les transmettant aux autres régions cérébrales. Les progéniteurs de la région dorsale de la SVZ se différencient principalement en interneurones de la couche granulaire superficielle, et en interneurones périglomérulaires de type glutamatergiques (*i.e.* sécréteurs du neurotransmetteur glutamate) ou dopaminergiques (*i.e.* sécréteurs du neurotransmetteur dopamine) (Weinandy *et al.*, 2011). Les CSNs de la SVZ latérale se différencient en revanche principalement en interneurones de la couche granulaire profonde et en interneurones périglomérulaires exprimant la calbindin (protéine de liaison au calcium) (Weinandy *et al.*, 2011). Les interneurones périglomérulaires contrôlent les entrées d'informations sensorielles dans les bulbes olfactifs au niveau des cellules mitrales, tandis que les interneurones granulaires, généralement de nature GABAergique (*i.e.* sécréteurs du neurotransmetteur inhibiteur GABA), contrôlent les transferts d'informations sensorielles depuis les bulbes olfactifs vers d'autres régions cérébrales.

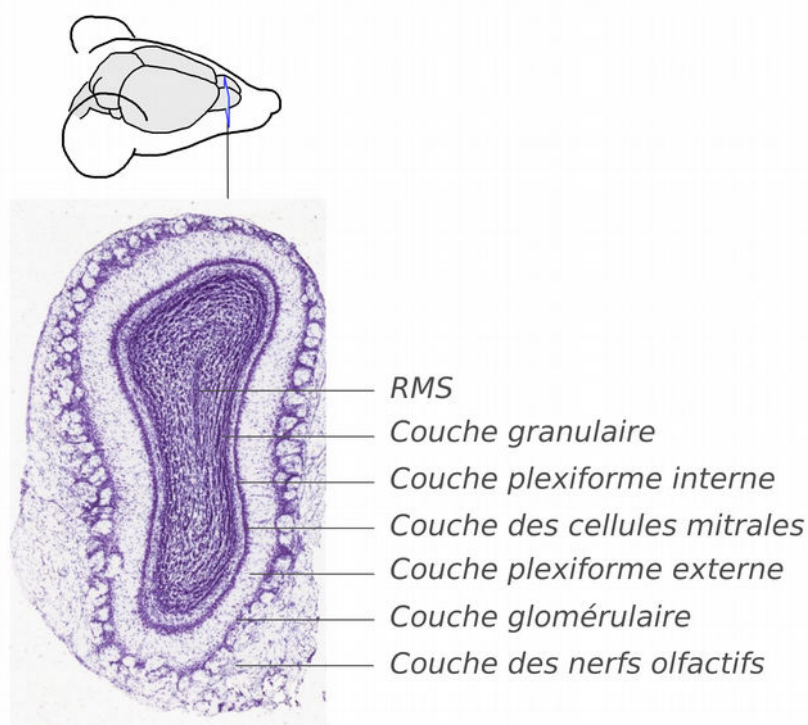


Figure 18: Organisation des bulbes olfactifs. Les informations olfactives sont transmises par les récepteurs situés au niveau de la fosse nasale, via les nerfs olfactifs, jusqu'aux cellules mitrales situées dans les bulbes olfactifs. Le corps cellulaire des cellules mitrales est situé dans la couche des cellules mitrales, et leurs prolongements entrent en contact avec les nerfs olfactifs et les interneurons glomérulaires au niveau de la couche glomérulaire. Les neuroblastes en provenance de la SVZ migrent jusqu'aux bulbes olfactifs via la RMS, puis migrent à différents niveaux de la couche granulaire, ou jusque dans la couche glomérulaire (on parle alors d'interneurones périglomérulaires). Ils mûrissent alors en différents types d'interneurones, et leurs prolongements entrent en contact avec les cellules mitrales dont ils régulent l'activité. Image de coupe de bulbe olfactif obtenue sur le *Allen Developing Mouse Brain Atlas*, <http://www.brain-map.org>.

Les voies de signalisation impliquées dans la régulation de la neurogenèse sous-ventriculaire sont activées de façon différentielle en fonction de la localisation des cellules de la SVZ. Comme nous l'avons vu, la voie Shh est ainsi particulièrement importante pour la spécification de la SVZ ventrale, et ce dès le développement embryonnaire (Ihrie *et al.*, 2011). Shh apparaît cependant également dans la SVZ dorsale durant les premières semaines suivant la naissance chez la souris (Tong *et al.*, 2015). Il y permet en effet l'expression de GLI1 jusqu'à P14 environ, et y est nécessaire à l'oligodendrogenèse. La voie Wnt/ β -caténine est à l'inverse particulièrement active au niveau dorsal dans la SVZ adulte (Ortega *et al.*, 2013), où elle semble promouvoir la détermination des CSNs vers un destin glial (Azim *et al.*, 2014a, Azim *et al.*, 2016).

La transplantation de CSNs d'une sous-région de la SVZ à une autre ne change pas le choix de destin cellulaire, montrant l'importance que les facteurs intracellulaire ont aussi dans la détermination (Merkle *et al.*, 2007). Ainsi la régionalisation de la SVZ se traduit également par des différences d'expression de plusieurs facteurs de transcription. L'expression de NKX2.1 est par

exemple restreinte à la partie ventrale de la SVZ, GSH2 à la SVZ latérale et EMX1 à la région dorsale (Alvarez-Buylla *et al.*, 2008), permettant la définition des sous-régions durant le développement embryonnaire comme chez l'adulte.

II.3.5. Influences hormonales

Les facteurs hormonaux agissent également en tant que modulateurs extrinsèques de la neurogenèse adulte. Les hormones peuvent agir sur les cellules de la niche lorsqu'elles sont présentes dans la circulation sanguine, en traversant la barrière hémato-encéphalique ou grâce à leur sécrétion dans le liquide céphalo-rachidien (voir [partie I.2.2.](#)). Comme nous l'avons déjà évoqué, les hormones thyroïdiennes (HTs) peuvent agir à la fois sur la prolifération, la différenciation et la maturation des cellules issues de la niche neurogénique. L'influence et les modes d'action des HTs seront développés dans la [partie II.4.](#)

D'autres hormones influencent également la neurogenèse. Les glucocorticoïdes, impliqués dans les mécanismes de régulation de l'inflammation et de la réponse au stress, ont des effets négatifs sur la neurogenèse. Leur action diminue en effet le nombre de cellules prolifératives dans la SGZ (Gould *et al.*, 1992, Cameron et McKay, 1999) et dans la SVZ adultes (Lau *et al.*, 2007, Hitoshi *et al.*, 2007). Les glucocorticoïdes ont également des effets au niveau métabolique. Ils peuvent notamment activer l'expression de gènes impliqués dans la gluconéogenèse et l'induction de la glucose-6-phosphatase, importante dans le processus de glycolyse (voir [partie III.2.1.](#)), comme cela est très bien caractérisé dans les cellules hépatiques (NORDLIE et ARION, 1965, Garland, 1986). Cet effet métabolique des glucocorticoïdes pourrait ainsi participer à l'action négative des glucocorticoïdes sur la neurogenèse adulte.

La mélatonine, sécrétée par la glande pinéale et impliquée dans la régulation des rythmes circadiens et saisonniers, affecte les CSNs adultes en modulant leur survie, leur prolifération, leur migration, leur différenciation et leur destin cellulaire (Sothibundhu *et al.*, 2010, Song *et al.*, 2015). La sécrétion de la mélatonine est fortement influencée par l'exposition à la lumière, et est 10 à 15 fois plus importante durant la nuit que durant la journée (Karasek and Winczyk, 2006, Sanders *et al.*, 1999). L'exposition de CSNs de la SVZ adulte à la mélatonine entraîne une induction de la prolifération et de la différenciation cellulaire (Sothibundhu *et al.*, 2010), tout comme cela a aussi été montré pour la neurogenèse embryonnaire (Moriya *et al.*, 2007). Elle accroît également la survie des progéniteurs et neuroblastes (Ramírez-Rodríguez *et al.*, 2009), et promeut la différenciation en neurones (Sothibundhu *et al.*, 2010). Enfin, la mélatonine a des effets neuroprotecteurs grâce à l'activation de mécanismes antioxydatifs (Zhang *et al.*, 2014).

La prolactine, sécrétée par l'hypophyse et principalement connue pour son implication dans la lactation, joue aussi un rôle dans la réponse immunitaire (Kelley *et al.*, 2007) ou encore la réponse au stress (Carter et Lightman, 1987, Donner *et al.*, 2007), et influence la neurogenèse (Shingo *et al.*, 2003). La prolactine promeut la neurogenèse dans la SVZ, et permet l'augmentation du nombre de nouveaux neurones intégrant les bulbes olfactifs chez la souris adulte (Wang *et al.*, 2013, Larsen et Grattan, 2012). De façon intéressante, aucune induction de la neurogenèse n'est en revanche visible au niveau de la SGZ d'animaux injectés avec la prolactine (Wang *et al.*, 2013). Un faible taux de prolactine durant la gestation provoque une diminution de la neurogenèse dans la SVZ et les bulbes olfactifs chez la mère (Larsen et Grattan, 2012). Cette baisse de la neurogenèse sous-ventriculaire est associée à une plus forte anxiété et une altération des comportements maternels (Larsen et Grattan, 2012).

Les hormones sexuelles peuvent également influencer la neurogenèse adulte. Ainsi, l'œstradiol promeut la prolifération dans la SGZ chez le rat femelle, tandis que la testostérone promeut la survie cellulaire dans la SGZ du rat mâle (Tanapat *et al.*, 2005, Spritzer and Galea, 2007). La castration de rats mâles entraîne une diminution de la prolifération dans la SVZ adulte, qui revient à un niveau normal dans la SVZ latérale après traitement à la testostérone ou à l'œstradiol (Farinetti *et al.*, 2015). La castration et le traitement de rats femelles n'induit en revanche aucun changement significatif de prolifération dans la SVZ (Farinetti *et al.*, 2015). D'autres études ont à l'inverse montré une induction de la neurogenèse dans la SVZ après traitements à l'œstradiol (Cheng *et al.*, 2013, Zheng *et al.*, 2013). Ainsi des différences sont possibles dans la régulation de la neurogenèse par les hormones sexuelles entre les deux sexes, mais restent encore débattues.

L'insuline et les facteurs de croissance de type insuline (*insulin-like growth factors*, IGFs), sécrétés par le foie, promeuvent aussi la neurogenèse adulte dans la SGZ et dans la SVZ (Ziegler *et al.*, 2012, Lehtinen *et al.*, 2011, Bracko *et al.*, 2012). IGF-1 est ainsi nécessaire à la prolifération des CSNs, au même titre que le facteur de croissance épidermique (*epidermal growth factor*, EGF) et son récepteur EGFR, ou encore le facteur de croissance des fibroblastes 2 (*fibroblast growth factor 2*, FGF2) (Aberg *et al.*, 2003, Alagappan *et al.*, 2014).

II.4. Signalisation thyroïdienne au cours de la neurogenèse

II.4.1. Influence des HTs sur la neurogenèse embryonnaire et périnatale

Les HTs ont un rôle crucial sur le développement cérébral, aux stades embryonnaires et après la naissance (Berbel *et al.*, 2014, Gothié *et al.*, 2017b) (voir [Annexe II](#)). Un hypothyroïdisme maternel durant le développement fœtal peut ainsi entraîner des déficiences neurologiques irréversibles chez les petits, pouvant aller jusqu'à un hypothyroïdisme congénital ou un « crétinisme ». Le risque de développer certaines pathologies telles que la schizophrénie, les déficits de l'attention et désordres hyperactifs (ADHD) ou encore l'autisme est également augmenté en cas d'hypothyroïdisme durant la gestation (de Escobar *et al.*, 2007, Haddow *et al.*, 1999, Zimmermann *et al.*, 2008, Román *et al.*, 2013, Gyllenberg *et al.*, 2016). Un lien entre hypo- ou hyperthyroïdie maternelle et une baisse de quotient intellectuel chez l'enfant a aussi été montré (Korevaar *et al.*, 2016), et une absence totale d'HTs pendant les 3 premiers mois suivant la naissance entraîne un fort retard mental accompagné d'anomalies morphologiques cérébrales irréversibles (Dubuis *et al.*, 1996, Anderson *et al.*, 2003, Koibuchi *et al.*, 2003, Bernal, 2007). On sait en effet aujourd'hui que les HTs sont essentielles pour la migration et la différenciation des neurones et des cellules gliales, ainsi que pour la myélinisation et pour la synaptogenèse (Morreale de Escobar *et al.*, 2004, Ausó *et al.*, 2004, Cuevas *et al.*, 2005, Schoonover *et al.*, 2004). Les HTs promeuvent aussi l'élongation des prolongements des glies de Bregmann, un sous-type de GR présent dans le cervelet et nécessaires à la migration neuronale dans cette région cérébrale, comme montré *in vitro* sur des cellules cérébelleuses de rat (Martinez *et al.*, 2011).

Avant la naissance, les HTs sont transférées depuis la circulation maternelle vers la circulation embryonnaire au niveau du placenta, et atteignent le cerveau fœtal depuis le plexus choroïde (Dratman *et al.*, 1991). Le fœtus est en effet dépendant des HTs produites par la mère jusqu'à ce que la glande thyroïde fœtale soit fonctionnelle (à partir de la 18^e semaine de gestation chez l'homme, E17 à E18 chez la souris). Les phases de prolifération et de migration de la neurogenèse embryonnaire (voir [partie II.1.](#)) ont ainsi principalement lieu avant que la thyroïde du fœtus ne soit fonctionnelle et ne produise des HTs (Bernal *et al.*, 2003). Plusieurs études chez le rat ont par exemple montré qu'un hypothyroïdisme maternel transitoire entre E12 et E15 (équivalent aux semaines 8 à 16 de gestation chez l'homme) pouvait avoir un impact important, encore visible à l'âge adulte, sur le nombre de neurones et leurs connexions, ainsi que sur leur agencement dans plusieurs régions cérébrales (Calvo *et al.*, 1990, Ausó *et al.*, 2004, Lavado-Autric *et al.*, 2003). Il a par ailleurs été montré dans des embryons de xénope que l'expression de la Dio2 au niveau de la zone ventriculaire était corrélée à la prolifération cellulaire, suggérant un rôle de la T₃ dans ce processus (Cai and Brown, 2004). La Dio3 limite quant à elle la prolifération dans la SVZ des têtards de xénope en protégeant les cellules de la niche de la T₃, ce qui n'est plus le cas chez les xénopes post-métamorphiques où la baisse de l'expression de *dio3* permet à la T₃ de promouvoir la

prolifération (Préau *et al.*, 2016). Dans le même modèle, un traitement à la T₃ promeut également la différenciation cellulaire via l'inhibition de facteurs de pluripotence (Fini *et al.*, 2012).

Chez la souris, le cervelet exprime fortement la DIO3 et faiblement la DIO2 en fin de gestation et jusqu'à P5, puis le taux d'expression des deux désiodases s'inverse (Peeters *et al.*, 2013). Chez des animaux *Dio3*^{-/-} (invalidés pour le gène *Dio3* sur les deux allèles), le cervelet se développe de façon prématurée, ce qui empêche une maturation normale du tissu (Peeters *et al.*, 2013). Un phénotype contrôle est rétabli chez des souris *Dio3*^{-/-} où le gène du récepteur aux HTs le plus exprimé dans le cervelet, *Thra1*, est lui aussi invalidé. L'action de la DIO3 permet donc habituellement de protéger le cervelet de l'action des HTs à cette période du développement. L'augmentation de la DIO2 après P5 permet par la suite le développement et la maturation normale du cervelet (Peeters *et al.*, 2013). À l'inverse, le cortex cérébral en cours de développement exprime de forts niveaux de DIO2 et de faibles niveaux de DIO3 (Bárrez-López *et al.*, 2017). Au sein des cellules cibles, la DIO2 catalyse alors la formation de T₃ intracellulaire (voir partie I.2.3.2), qui permet l'activation de nombreux gènes essentiels au développement du cortex (Bárrez-López *et al.*, 2017). Ainsi, une régulation spatio-temporelle fine de la disponibilité en HTs est nécessaire au développement de différentes régions cérébrales.

Un mode d'action non-génomique des HTs sur la prolifération dans la SVZ embryonnaire a par ailleurs été révélé par Stenzel *et al.* chez la souris. Après avoir démontré qu'une activation ciblée du récepteur membranaire $\alpha\beta 3$ promouvait la prolifération des progéniteurs de la SVZ à E14.5, les auteurs ont en effet montré qu'une injection ICV *in utero* des embryons avec le composant tetrac (*tetraiodothyroacetic acid*), qui inhibe la fixation des HTs sur $\alpha\beta 3$, empêchait toute activation de la prolifération (Stenzel *et al.*, 2014). En plus des actions intracellulaires révélées par l'importance des désiodases, l'activation par les HTs d'une voie de signalisation via $\alpha\beta 3$ semble donc également promouvoir la prolifération dans la SVZ embryonnaire.

Le contrôle de la disponibilité cellulaire en HTs aux différents stades du développement embryonnaire est donc particulièrement important pour assurer une neurogenèse optimale, par l'action conjointe des transporteurs (voir I.2.3.1), des TRs (principalement TR $\alpha 1$ (Forrest *et al.*, 1991), et des désiodases (voir aussi I.2.3.2).

II.4.2. Influence des HTs sur la neurogenèse adulte

Chez l'adulte, il est bien établi que les HTs ont un rôle essentiel dans la différenciation, la migration et la maturation des neuroblastes issus des CSNs (López-Juárez *et al.*, 2012, Kapoor *et al.*, 2012, Remaud *et al.*, 2014) (voir Annexe III), ainsi que dans la maturation des cellules gliales et la

myélinisation (Barres *et al.*, 1994, Calzàt *al.*, 2015, Farsetti *et al.*, 1991). Différentes études ont montré qu'une insuffisance en HTs avait un impact sur la neurogenèse adulte. Dans la SGZ de l'hippocampe, l'hypothyroïdisme peut ainsi réduire la différenciation neuronale (Montero-Pedrazuela *et al.*, 2006), et même diminuer la survie des progéniteurs selon certaines études (Ambrogini *et al.*, 2005, Desouza *et al.*, 2005). La diminution de la disponibilité en HTs réduit également la prolifération des cellules de la SVZ, ainsi que le nombre de neuroblastes migrants vers les bulbes olfactifs (voir [partie I.2.2.](#)) (Lemkine *et al.*, 2005, López-Juárez *et al.*, 2012), montrant l'importance qu'a la signalisation thyroïdienne dans ces processus. En conséquence, on observe une diminution des capacités olfactives et des interactions sociales chez les rongeurs hypothyroïdiens (Beard et Mackay-Sim, 1987, Kageyama *et al.*, 2012). Les mécanismes cellulaires impliqués sont cependant encore mal connus, notamment concernant le rôle des HTs dans la spécialisation des neuroblastes en différents types d'interneurones.

Les isoformes TR α 1, TR β 1 et TR β 2 sont tous les trois exprimés dans la SGZ adulte chez la souris (Kapoor *et al.*, 2012, Kapoor *et al.*, 2015, Kapoor *et al.*, 2011). TR α 1 est en particulier exprimé dans les neurones immatures de la SGZ, mais pas dans les progéniteurs prolifératifs (Kapoor *et al.*, 2010, Kapoor *et al.*, 2012, Kapoor *et al.*, 2015). Kapoor *et al.* observent un phénotype similaire à celui provoqué par l'hypothyroïdisme, à savoir une diminution de la neurogenèse, chez des souris TR α 2^{-/-} (Kapoor *et al.*, 2010). La suppression de TR α 2 entraînant une surexpression de TR α 1 (Saltó *al.*, 2001), Kapoor *et al.* interprètent leur résultat comme la conséquence d'une action de TR α 1 principalement sous forme d'apoptose, entraînant une inhibition de la transcription des gènes cibles des HTs. Les auteurs confirment ainsi la nécessité d'une action génomique des HTs sur la neurogenèse dans la SGZ (Kapoor *et al.*, 2010).

Seule l'isoforme TR α 1 a en revanche été détecté dans la SVZ (Kapoor *et al.*, 2015, Lemkine *et al.*, 2005, López-Juárez *et al.*, 2012). Son expression est présente dans les cellules à destinée neuronale (NPC DLX2⁺ et neuroblastes DCX⁺), mais pas dans les CSNs GFAP⁺SOX2⁺ (López-Juárez *et al.*, 2012). Lemkine *et al.* ont observé que trois jours après ingestion de BrdU, un intercalant de l'ADN marquant les cellules en phase S (réplication de l'ADN), la SVZ d'animaux hypothyroïdiens présentait une plus forte intensité de signal que celle d'animaux contrôle (Lemkine *et al.*, 2005). Cette différence d'intensité indique une plus faible dilution du marquage BrdU au cours des divisions cellulaires en hypothyroïdie que dans le groupe contrôle, et donc une prolifération cellulaire moindre (Lemkine *et al.*, 2005). Des immuno-marquages pour Ki67, marqueur de l'intégralité du cycle cellulaire, ont permis de constater une diminution de la proportion de cellules BrdU⁺Ki67⁺ par rapport aux cellules BrdU⁺ totales (Lemkine *et al.*, 2005). Les cellules BrdU⁺, c'est-à-dire cyclantes au moment de l'ingestion de BrdU, sont donc plus nombreuses à être sorties du

cycle cellulaire chez les animaux hypothyroïdiens, entraînant une accumulation de cellules indifférenciées. L'absence d'HTs tend donc à bloquer les cellules indifférenciées dans leur cycle cellulaire, montrant leur importance dans le maintien d'une prolifération normale. López-Juárez et ses collaborateurs ont de plus montré une augmentation de l'expression de *Sox2* dans la SVZ de souris n'exprimant pas les isoformes codées par le gène *Thra* (souris TR α ^{0/0}) (López-Juárez *et al.*, 2012). De même, la vectorisation dans les ventricules latéraux de shRNA dirigés contre l'ARNm de TR α 1 entraîne une augmentation de l'expression des marqueurs exprimés par les CSNs et les progéniteurs (SOX2, Nestin, Musashi) et une accumulation de cellules progénitrices. Une surexpression locale de TR α 1 entraîne en revanche une diminution de l'expression de la protéine et du gène codant SOX2, et favorise la détermination vers un destin neuronal. L'utilisation d'un plasmide rapporteur d'une séquence régulatrice située en amont du gène *Sox2*, et contenant des TREs, a de plus permis d'établir que la T₃ régule de façon directe l'expression du gène en se fixant sur cette séquence. Ainsi *Sox2* est régulé négativement et de façon directe par la T₃, via TR α 1, et est progressivement inhibé durant la détermination neuronale dans la SVZ (López-Juárez *et al.*, 2012). Nous avons par ailleurs montré une absence de TR α 1 et une forte expression de la DIO3 dans les OPCs de la SVZ adulte (Remaud *et al.*, 2017). De plus, une absence transitoire d'HTs est favorable à la détermination des CSNs de la SVZ vers un destin glial, et permet d'augmenter l'efficacité de la rémyélinisation en cas de lésion (voir II.3.2.3., Résultats I et Annexe I) (Remaud *et al.*, 2017 ; Gothié *et al.*, 2017a). Ces résultats suggèrent que la détermination des progéniteurs de la SVZ en OPC nécessite la mise en place de mécanismes de protection contre la signalisation thyroïdienne. Cela pourrait par exemple impliquer l'expression de la DIO3.

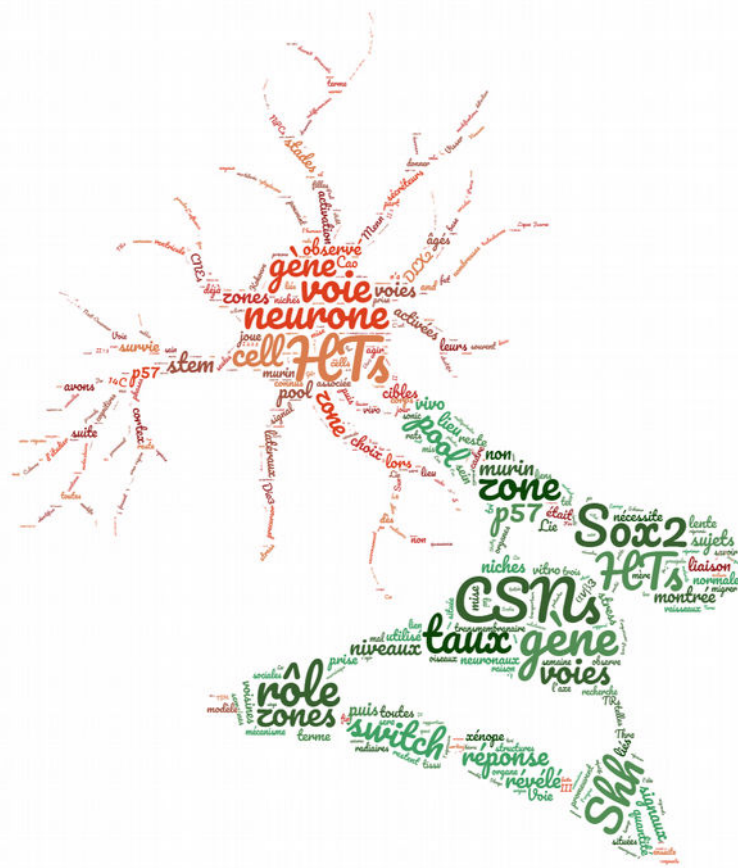
En dehors de la niche neurogénique, il a été montré que les gènes *Thra* et *Thrb* peuvent tous les deux être exprimés dès le début de la différenciation des OPCs résidents présents dans le cortex de souris adultes, d'après la réanalyse faite par J. Bernal de données de séquençage à large échelle (RNAseq) réalisé par Zhang *et al.* (Bernal, 2000, Zhang *et al.*, 2014). L'ARNm de *Dio2* est de plus faiblement détecté dans les OPCs résidents (Bernal, 2000, Zhang *et al.*, 2014). Les mécanismes entrant en jeu dans la détermination des OPCs de la SVZ et dans la différenciation des OPCs résidents sont ainsi probablement différents. On sait en revanche que les HTs sont nécessaires à une maturation optimale des oligodendrocytes issus de la SVZ ou des OPCs résidents, et que TR α 1 est exprimé durant cette phase (Sarliève *et al.*, 2004, Strait *et al.*, 1997, Remaud *et al.*, 2017), soulignant une évolution dans l'importance de la signalisation thyroïdienne au cours du lignage cellulaire.

II.4.3. HTs et neurogenèse dans le cerveau vieillissant

Avec l'âge, la neurogenèse décroît au niveau de l'hippocampe, comme montré chez les primates et les rongeurs, tout comme dans la SVZ, comme cela a été montré chez la souris (Gould *et al.*, 1999, Kuhn *et al.*, 1996, Enwere *et al.*, 2004). Une diminution des capacités cognitives est par ailleurs fréquemment observée chez les sujets âgés et également observées chez les rongeurs (Bach *et al.*, 1999, Cao *et al.*, 2013). Le nombre de CSNs diminue avec l'âge du fait d'un épuisement progressif au cours du temps : les CSNs ne peuvent en effet réaliser qu'un certain nombre de divisions asymétriques et finissent donc par donner naissance à deux cellules filles s'engageant vers la différenciation, faisant peu à peu diminuer leur nombre (Encinas *et al.*, 2011, Ehm *et al.*, 2010, Kawaguchi *et al.*, 2013). Ce phénomène explique au moins pour partie la diminution de la neurogenèse ; cependant, une diminution de la disponibilité en HTs pourrait également être impliquée. Si des augmentations et des diminutions du taux de TSH circulante ont toutes les deux été décrites (Boucai et Surks, 2009, Hadlow *et al.*, 2013, Surks et Hollowell, 2007, Peeters, 2008), une tendance générale à la diminution de la quantité d'HTs circulantes avec l'âge semble aujourd'hui faire consensus chez l'humain comme chez le rongeur (Hertoghe, 2005, Chakraborti *et al.*, 1999, Cao *et al.*, 2012). De nombreuses études ont de plus montré un déclin du fonctionnement de l'hippocampe et de la mémoire spatiale chez l'homme, le singe ou le rongeur âgés (Foster *et al.*, 2012, Jiang *et al.*, 2016), phénomène particulièrement sensible à une baisse de disponibilité en HTs (Correia *et al.*, 2009, Ge *et al.*, 2015). Si Visser *et al.* n'ont pas observé de diminution du taux d'HTs circulantes chez des souris âgées de 18 mois (Visser *et al.*, 2016), Cao *et al.* ont observé une diminution du taux de T₃ libre chez des souris de 22 mois (Cao *et al.*, 2012). Ils n'ont en revanche pas mesuré de diminution du taux de T₄ totale circulante (Cao *et al.*, 2012). Les souris de 18 mois présentent cependant une diminution de la quantité de T₄ et de DIO3 cérébrales, mais pas de T₃ (Visser *et al.*, 2016). On pourrait ici interpréter la baisse de la DIO3 cérébrale comme un moyen de protection du cerveau contre une diminution du taux d'HTs. Il a de plus été montré chez le rat âgé de 24 mois que la capacité de liaison des HTs aux TRs diminuait dans le cortex et le cervelet en comparaison d'animaux de 3 mois (De Nayer *et al.*, 1991). Ainsi, que les taux d'HTs circulantes soient ou non diminués, la signalisation thyroïdienne peut être impactée par le vieillissement à plusieurs niveaux dans le SNC, influençant potentiellement la régulation de la neurogenèse.

Chez les sujets âgés, la production de nouveaux neurones ne semble pas être suffisamment efficace pour réparer les lésions cérébrales, par exemple en cas d'attaque d'apoplexie, et pour rétablir les capacités cognitives (Yeung *et al.*, 2014). Il a été observé qu'un traitement à base d'HTs peut améliorer les performances cognitives impactées en cas d'hypothyroïdisme chez l'homme et chez la souris (Kramer *et al.*, 2009, Fu *et al.*, 2010, Fu *et al.*, 2014). De plus, l'administration de T₄ à des

souris âgées permet d'améliorer leurs capacités d'apprentissage et leur mémoire de façon significative, en permettant une augmentation des taux de T₃ et de T₄ sériques et cérébrales (Fu *et al.*, 2014). Les HTs permettent également d'améliorer les symptômes dépressifs, liés à une altération de la neurogenèse (Jacobs, 2002, Schoenfeld et Cameron, 2015), chez l'homme et chez le rat (Bauer *et al.*, 2005, Ge *et al.*, 2016, Uhl *et al.*, 2014). L'administration de resvératrol, activateur de SIRT1 (Borra *et al.*, 2005), permet aussi d'améliorer la mémoire et les symptômes dépressifs en cas d'hypothyroïdie chez le rat, grâce à une normalisation de l'activité de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien (Ge *et al.*, 2015, Ge *et al.*, 2016). SIRT1 peut en effet réguler la production de TSH (Akieda-Asai *et al.*, 2010) et agir en tant que cofacteur de TR α et TR β (Suh *et al.*, 2013), expliquant peut-être ce résultat. Les traitements permettant d'améliorer le fonctionnement de la signalisation thyroïdienne semblent donc efficaces pour ralentir l'impact du vieillissement sur le SNC et la neurogenèse. La question de la généralisation d'une médication à base d'HTs chez les sujet âgés en hypothyroïdie subclinique (ne présentant pas de symptômes) reste cependant encore très débattue (Bensenor *et al.*, 2012).



III. Le métabolisme mitochondrial

La transformation d'une cellule souche en cellule mature spécialisée implique de nombreux changements, au niveau des gènes exprimés, des protéines traduites, et du métabolisme cellulaire. Tous ces changements sont liés les uns aux autres, et permettent à la cellule d'acquérir ses spécificités fonctionnelles et morphologiques. Le métabolisme énergétique, en particulier, évolue de façon drastique entre les cellules souches et les cellules matures. Ces changements sont ainsi déterminants dans le choix du destin cellulaire (Rafalski et Brunet, 2011), et peuvent être influencés par les HTs (Mullur *et al.*, 2014).

III.1. Généralités

Le terme de métabolisme désigne l'ensemble des transformations de molécules organiques impliquant la production ou la consommation d'énergie dans la cellule. On peut le subdiviser en plusieurs types de réactions : le catabolisme, qui correspond aux processus de dégradation de molécules en molécules plus simples, permettant la récupération d'énergie ; l'anabolisme, c'est-à-dire la biosynthèse de molécules et de macromolécules (molécules complexes) à partir de molécules plus simples ; et enfin les processus d'élimination et de recyclage des « déchets » moléculaires produits par la cellule.

Tout au long du XXe siècle, la recherche biochimique a permis une bonne compréhension du fonctionnement de nombreux réseaux métaboliques cellulaires et de leurs interactions (Krebs, 1972). La glycolyse, la phosphorylation oxydative, le cycle de l'acide tricarboxylique (ou cycle de Krebs), le cycle de l'urée et l'oxydation des acides gras (ou β -oxydation) font partie des principaux d'entre eux. Depuis, le progrès des connaissances en biologie cellulaire et moléculaire ont permis de réaliser à quel point les processus métaboliques sont interconnectés avec l'ensemble des autres réactions biologiques, faisant émerger une vision encore plus complexe du fonctionnement cellulaire. Par exemple, la fixation d'un facteur de croissance sur son récepteur membranaire induit la voie de signalisation PI3K/Akt/mTOR qui enclenche les processus menant à la division cellulaire, tout en stimulant l'entrée de nutriments, qui permettent l'activation métabolique de la production des macromolécules nécessaires à la prolifération (Gibbons *et al.*, 2009). À l'inverse, le métabolisme peut avoir une influence sur la signalisation cellulaire par la production de substrats nécessaires à certaines modifications post-traductionnelles des protéines. Parmi ces substrats

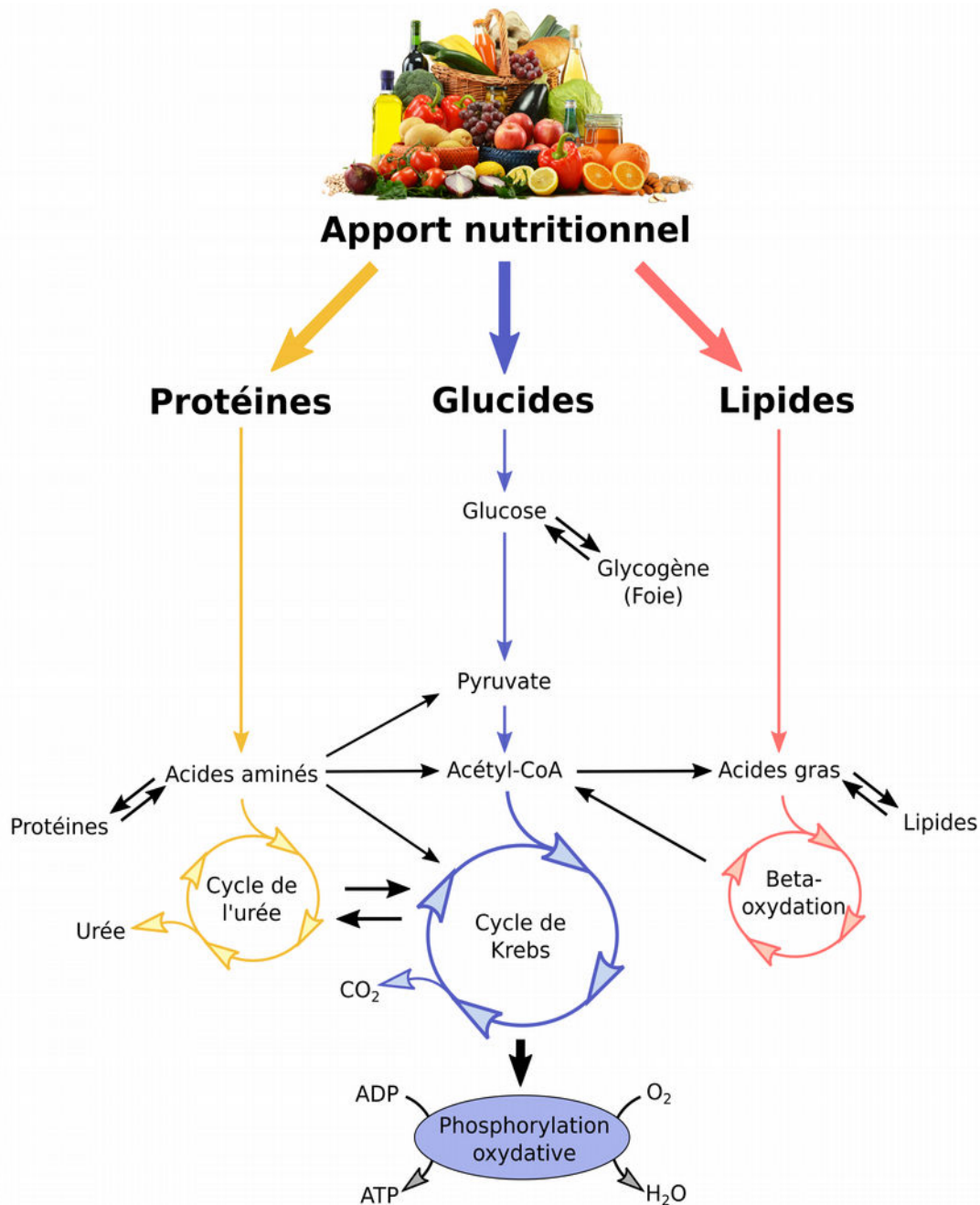


Figure 19: Vue d'ensemble du métabolisme intermédiaire. Le métabolisme intermédiaire comprend l'ensemble des phénomènes de dégradation (catabolisme) et de synthèse (anabolisme) moléculaires permettant la production d'énergie à partir des substrats provenant de l'alimentation: les protéines, les glucides et les lipides.

La dégradation des protéines en acides aminés permet aux cellules de former les protéines de l'organisme, et d'activer le cycle de l'urée. Les acides aminés ne sont pas stockés par l'organisme, et ceux qui ne sont pas réutilisés sont dégradés, principalement dans les cellules du foie. La dégradation des chaînes carbonées des différents acides aminés permet la formation de plusieurs composés, parmi lesquels le pyruvate, l'acétyl-CoA, et plusieurs intermédiaires du cycle de Krebs. Elle produit également de l'ammoniaque, qui est converti en urée grâce au cycle de l'urée, avant excrétion. Le fonctionnement du cycle de l'urée nécessite l'utilisation d'aspartate, qui peut être produit par le cycle de Krebs ; en parallèle, le cycle de l'urée produit du fumarate, un des intermédiaires du cycle de Krebs.

Les glucides sont dégradés en glucose, qui peut soit être stocké sous forme de glycogène au niveau du foie, soit être dégradé en pyruvate via la glycolyse. La transformation du pyruvate en acétyl-CoA alimente le cycle de Krebs, qui lui-même permet l'activation de la phosphorylation oxydative. Le fonctionnement du cycle de Krebs entraîne la production de CO₂, tandis que la phosphorylation oxydative produit de l'ATP et de l'eau à partir d'ADP et d'oxygène.

Les lipides apportés par l'alimentation sont dégradés en acides gras. Ceux-ci peuvent être transformés en nouveaux lipides, et stockés dans le tissu adipeux, principalement sous forme de triglycérides, ou utilisés pour la formation de phospholipides, composants principaux des membranes cellulaires. Ils peuvent enfin être dégradés au cours du cycle de la β-oxydation, produisant de l'acétyl-CoA.

figurent l'adénosine-triphosphate (ATP), molécule considérée comme la principale source d'énergie de la cellule, qui permet en particulier les phosphorylations protéique et lipidique.

Si une partie des processus métaboliques sont spécifiques à certains types cellulaires (on parle de métabolisme secondaire), la plus grande partie d'entre eux sont communs à l'ensemble des cellules de l'organisme : c'est le métabolisme intermédiaire. Le métabolisme intermédiaire correspond ainsi (1) à l'ensemble des réactions de dégradation des protéines, glucides et lipides apportés par l'alimentation, respectivement en acides aminés, en sucres simples et en acides gras, (2) à la production d'énergie à partir des produits de dégradation générés, et (3) à leur stockage et à leur utilisation pour la synthèse de protéines et de lipides nécessaires à l'organisme (Figure 19). Les glucides sont ainsi dégradés en glucose, alimentant la glycolyse puis le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative, qui permettent la formation d'ATP et de CO₂ au niveau des mitochondries (voir partie III.2.). Les protéines sont, quant à elles, dégradées en acides aminés qui peuvent soit être réutilisés pour produire les protéines de l'organisme, soit dégradés à leur tour. La dégradation des chaînes carbonées des acides aminés permet la formation de pyruvate, d'acétyl-CoA et de plusieurs molécules impliquées dans le cycle de Krebs, alimentant ainsi l'activité mitochondriale (voir partie III.2.). La dégradation des acides aminés entraîne aussi la formation d'ammoniaque, transformé en urée avant d'être excrété. Enfin, les lipides sont lysés en acides gras, qui peuvent être utilisés pour produire les membranes cellulaires sous la forme de phospholipides, stockés au niveau des tissus adipeux sous la forme de triglycérides, ou être dégradés en acétyl-CoA, alimentant là aussi le cycle de Krebs (Figure 19).

III.2. Métabolisme du glucose et respiration mitochondriale

Les mitochondries sont un composant essentiel des cellules eucaryotes. Elles produisent la grande majorité de l'ATP cellulaire, et sont ainsi généralement considérées comme le centre énergétique de la cellule. Les mitochondries sont constituées d'une membrane externe en contact avec le cytoplasme cellulaire, et d'une membrane interne en contact avec la matrice mitochondriale (Figure 20). Entre les deux membranes se trouve l'espace intermembranaire, plus ou moins large selon l'activité de la mitochondrie, et qui avec la membrane interne forme des repliements à l'intérieur de l'organelle, appelés crêtes mitochondriales. Pour produire de l'ATP, les mitochondries utilisent des produits de dégradation des nutriments, provenant tout particulièrement des glucides. Ainsi le produit final de la dégradation du glucose, le pyruvate, permet l'activation dans la matrice mitochondriale d'une boucle de réactions métaboliques, appelée cycle de Krebs. Le cycle de Krebs

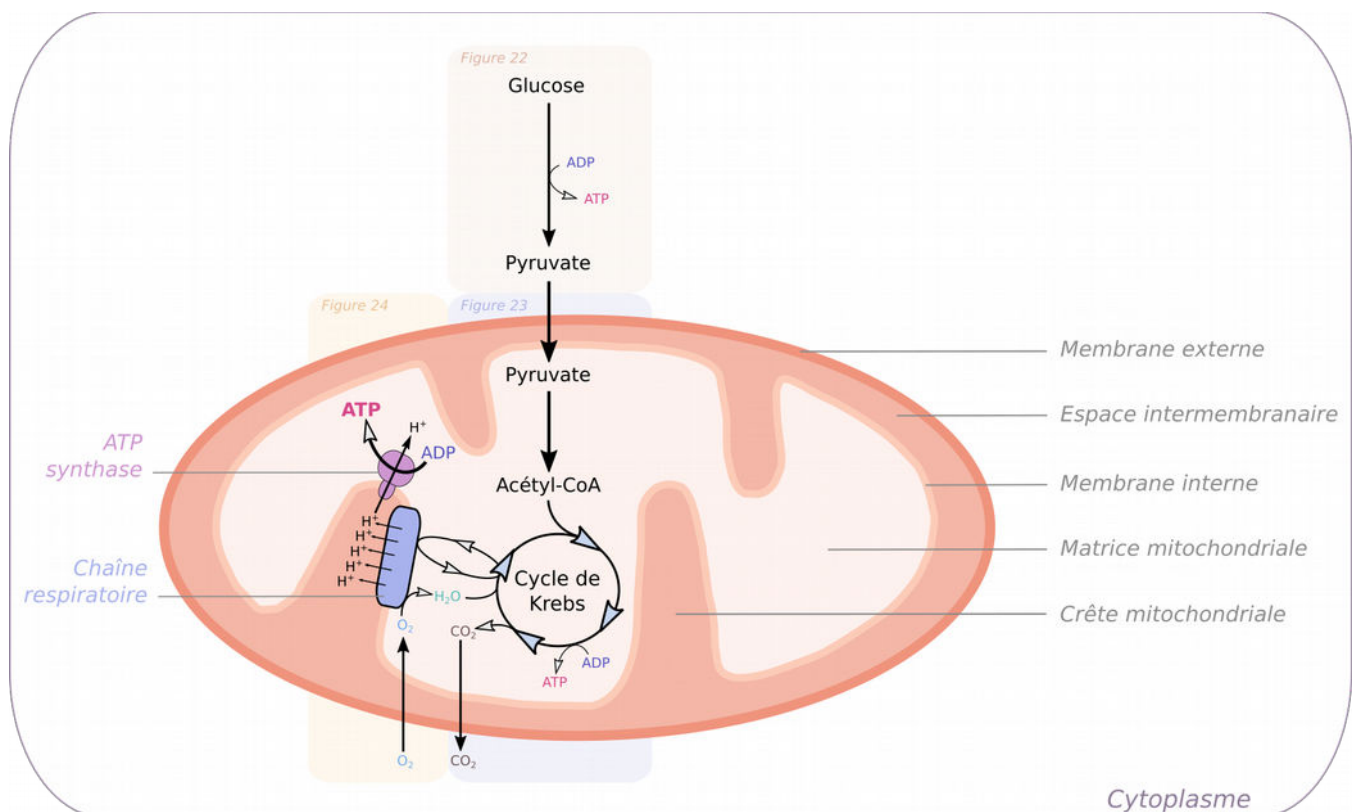


Figure 20: Structure et respiration mitochondriale. Les mitochondries sont constituées de deux membranes séparées par un espace intermembranaire et entourant la matrice mitochondriale. L'espace intermembranaire et la membrane interne forment des repliements dans la matrice appelés crêtes mitochondriales. Le pyruvate, issu de la dégradation du glucose (Figure 22), traverse les deux membranes mitochondriales et est transformé en acétyl-CoA dans la matrice. L'acétyl-CoA active le cycle de Krebs (Figure 23), dont certains produits activent les protéines de la chaîne respiratoire située dans la membrane interne (Figure 24). L'activation de la chaîne respiratoire provoque le transfert de protons H^+ de la matrice vers l'espace intermembranaire. La ré-entrée de protons dans la matrice via l'ATP synthase permet la génération de la plus grande partie de l'ATP mitochondrial. L'oxygène est nécessaire à l'activation de la chaîne respiratoire.

permet à son tour l'activation de plusieurs complexes protéiques situés dans la membrane mitochondriale interne, qui constituent la chaîne respiratoire. L'activité de la chaîne respiratoire nécessite également un apport en oxygène (O_2), transféré aux cellules via la circulation sanguine tout comme les nutriments. Cette génération d'énergie mitochondriale, consommatrice d' O_2 et productrice de CO_2 , constitue ce que l'on nomme la respiration mitochondriale.

III.2.1. La glycolyse

La glycolyse correspond à la succession de réactions biochimiques permettant la dégradation de molécules de glucose en pyruvate. Le glucose est un hexose, c'est-à-dire qu'il ne contient que six atomes de carbone. Le fructose, le galactose et le mannose sont également des hexoses, et tous sont de même formule brute $C_6H_{12}O_6$ (Figure 21). Tous les quatre sont des glucides qualifiés de monosaccharides, ou oses, caractérisés par une impossibilité à être hydrolysés en glucides plus

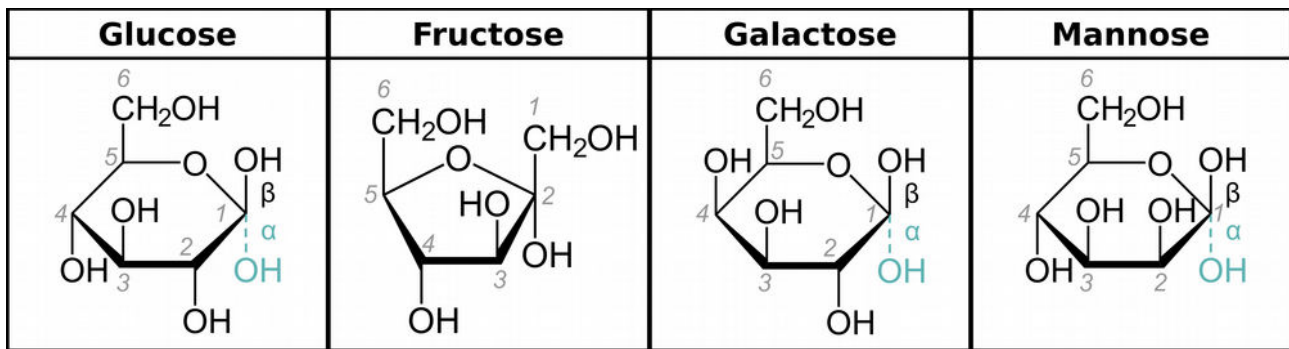


Figure 21: Les hexoses. Les hexoses contiennent tous 6 atomes de carbone et sont de même formule brute $C_6H_{12}O_6$. Le glucose, le galactose et le mannose existent sous deux formes, α et β , selon l'orientation du groupement hydroxyle (OH) lié au carbone 1.

simples. À l'inverse, les diholosides (ou disaccharides, $C_{12}H_{22}O_{11}$) sont des molécules composées de deux oses, identiques ou différents, et qui peuvent être dégradées en hexoses. Parmi les plus connus figurent le saccharose (ou sucrose), composé d'un glucose et d'un fructose, et le lactose, composé d'un glucose et d'un galactose. Il existe aussi des triholosides, tels que le raffinose, composé d'un glucose, un fructose et un galactose. Enfin, les polyholosides (ou polysaccharides) sont des glucides composés d'une ou plusieurs chaîne(s) d'oses. C'est par exemple le cas de l'amidon et du glycogène (polymères de glucose $\alpha 1 \rightarrow 4$ et $\alpha 1 \rightarrow 6$) et de la cellulose (polymères de glucose $\beta 1 \rightarrow 4$). Une partie des glucides composés peuvent être hydrolysés en oses, qui peuvent ensuite subir la glycolyse. Le glycogène par exemple, qui sert en particulier de moyen de stockage du glucose dans le foie, est enzymatiquement dégradé en molécules de glucose lorsque la glycémie est basse. D'autres, comme la cellulose, ne peuvent pas être dégradés chez tous les mammifères du fait de l'absence d'enzyme adéquate dans le tube digestif. Le lactose est un cas particulier, puisque chez l'humain, la présence de la lactase pouvant le dégrader diminue généralement naturellement après sevrage et est quasi-absente à l'âge adulte, sauf dans certaines populations ayant anciennement introduit la consommation de produits laitiers dans leur alimentation (Ingram *et al.*, 2009, Bayless *et al.*, 2017). La dégradation du glucose en pyruvate a lieu dans le cytoplasme, par l'action successive de dix enzymes, et permet la production nette de deux molécules d'ATP et deux molécules de NADH (nicotinamide adénine dinucléotide, forme oxydée) (Figure 22). Durant la première partie de la glycolyse, appelée phase préparatoire, le glucose est phosphorylé au niveau de son carbone 6 (Glucose-6-phosphate), puis réarrangé en fructose-6-phosphate, phosphorylé à son tour au niveau du carbone 1 en fructose-1,6-biphosphate. Ces deux réactions de phosphorylation successives consomment chacune une molécule d'ATP. Le fructose-1,6-biphosphate est ensuite clivé en deux molécules distinctes, la dihydroxyacétone phosphate (DHAP) et le glycéraldéhyde-3-phosphate (GADP). Il s'agit de deux isomères, qui peuvent être transformés l'une en l'autre. La phase

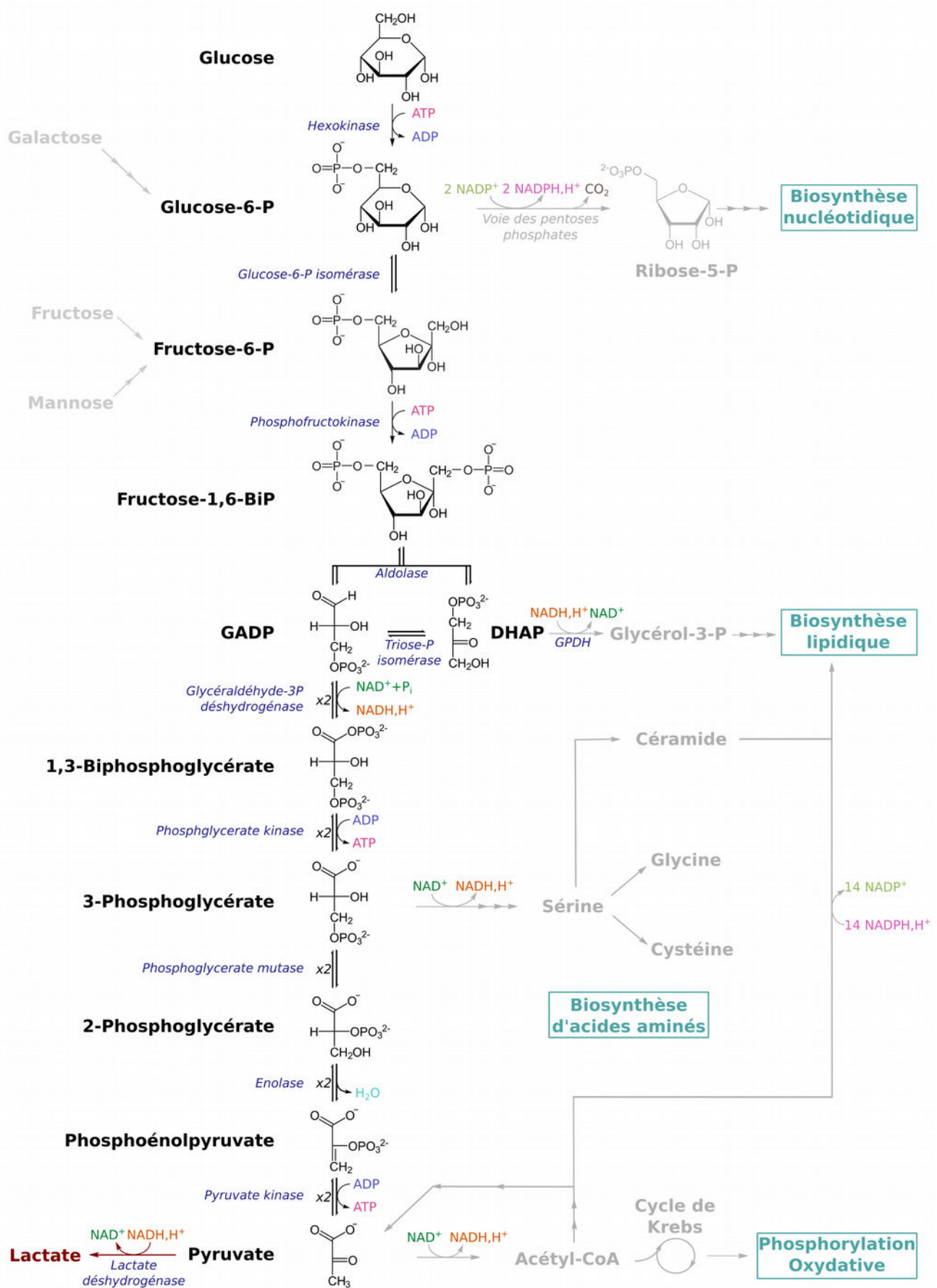


Figure 22: La glycolyse. La glycolyse correspond à l'action successive de dix enzymes permettant la dégradation d'une molécule de glucose en deux molécules de pyruvate. Elle est séparée en deux phases. La phase préparatoire permet la transformation du glucose en une molécule de dihydroxyacétone phosphate (DHAP) et une molécule de

préparatoire aboutit ainsi à la création de deux molécules de GADP à partir d'une molécule de glucose. Les autres oses (fructose, galactose et mannose) peuvent rejoindre la voie de la glycolyse au cours de la phase préparatoire, comme indiqué sur la [Figure 22](#). Dans un deuxième temps a lieu la phase dite de récupération d'énergie, durant laquelle les transformations successives des deux molécules de GADP permettent la formation de deux $\text{NADH}+\text{H}^+$, de quatre molécules d'ATP et de deux molécules d' H_2O , et aboutissent en la formation de deux molécules de pyruvate ([Figure 22](#)).

Le pyruvate peut ensuite être transporté dans les mitochondries où sa transformation en acétyl coenzyme A (acétyl-CoA) par la pyruvate déshydrogénase permet d'amorcer le cycle de Krebs. Mais certains des sous-produits intermédiaires de la glycolyse peuvent également activer d'autres voies métaboliques ([Lunt et Vander Heiden, 2011](#)). Ainsi, le glucose-6-phosphate peut être dégradé dans la voie des pentoses phosphates en ribose-5-phosphate, précurseur de la voie de biosynthèse des nucléotides. Le DHAP peut être transformé en glycérol, précurseur de certains triglycérides et phospholipides, tandis que le 3-phosphoglycérate est un précurseur pour la formation de certains acides aminés (sérine, cystéine et glycine). L'acétyl-CoA enfin est également un précurseur important de la biosynthèse lipidique. La glycolyse est donc une voie centrale non seulement pour l'activation de la respiration mitochondriale, mais également pour la formation de nucléotides, de lipides et d'acides aminés.

Classiquement, la glycolyse est qualifiée d'« aérobie » lorsqu'elle a lieu en présence d'oxygène dans la cellule, bien que l'oxygène n'intervienne pas au niveau de la dégradation du glucose. L'oxygène n'intervient qu'au niveau mitochondrial, dans les étapes suivant la formation du pyruvate (respiration mitochondriale, voir [III.2.3](#)). En absence d'oxygène, la glycolyse peut également avoir lieu, et est qualifiée d'« anaérobie ». Le pyruvate reste alors majoritairement dans le cytoplasme, où il est transformé en lactate (fermentation). On parle alors de métabolisme glycolytique. Cependant certaines cellules, telles que les cellules cancéreuses et les cellules souches, ont un métabolisme majoritairement glycolytique même en présence d'oxygène, associé à une activité mitochondriale réduite (voir [III.3](#)).

glycéraldéhyde-3-phosphate (GADP), et génère deux molécules d'ADP. La phase de récupération d'énergie permet la transformation de deux molécules de GADP, dont une provient de la transformation du DHAP, en deux molécules de pyruvate, et génère deux molécules de NADH, deux molécules d' H_2O et quatre molécules d'ATP. La transformation du galactose en glucose-6-phosphate et celle du fructose et du mannose en fructose-6-phosphate permettent d'alimenter la glycolyse. En conditions normoxiques, le pyruvate généré est majoritairement transformé en acétyl-CoA dans les mitochondries, alimentant ainsi le cycle de Krebs dans le cadre de la respiration mitochondriale. En conditions hypoxiques ou dans les cellules en prolifération, la plus grande partie du pyruvate est transformé en lactate, générant du NAD^+ . Le glucose-6-phosphate peut être dégradé via la voie des pentoses phosphates en ribose-5-phosphate, précurseur des nucléotides. Le DHAP peut être transformé en glycérol-3-phosphate par la glycérol-phosphate déshydrogénase cytoplasmique (GPDH), permettant la biosynthèse de lipides (dont phospholipides, triacylglycérol). L'acétyl-CoA peut également être utilisé pour la biosynthèse de lipides (dont palmitoyl-CoA, cholestérol) après passage dans le cytoplasme. Cette transformation nécessite la présence d'une grande quantité de NADPH. Le 3-phosphoglycérate peut être transformé en trois acides aminés différents, la sérine, la cystéine et la glycine. La sérine peut également permettre la génération de lipides (dont sphingomyéline, cérébroside, ganglioside) via sa transformation en céramide.

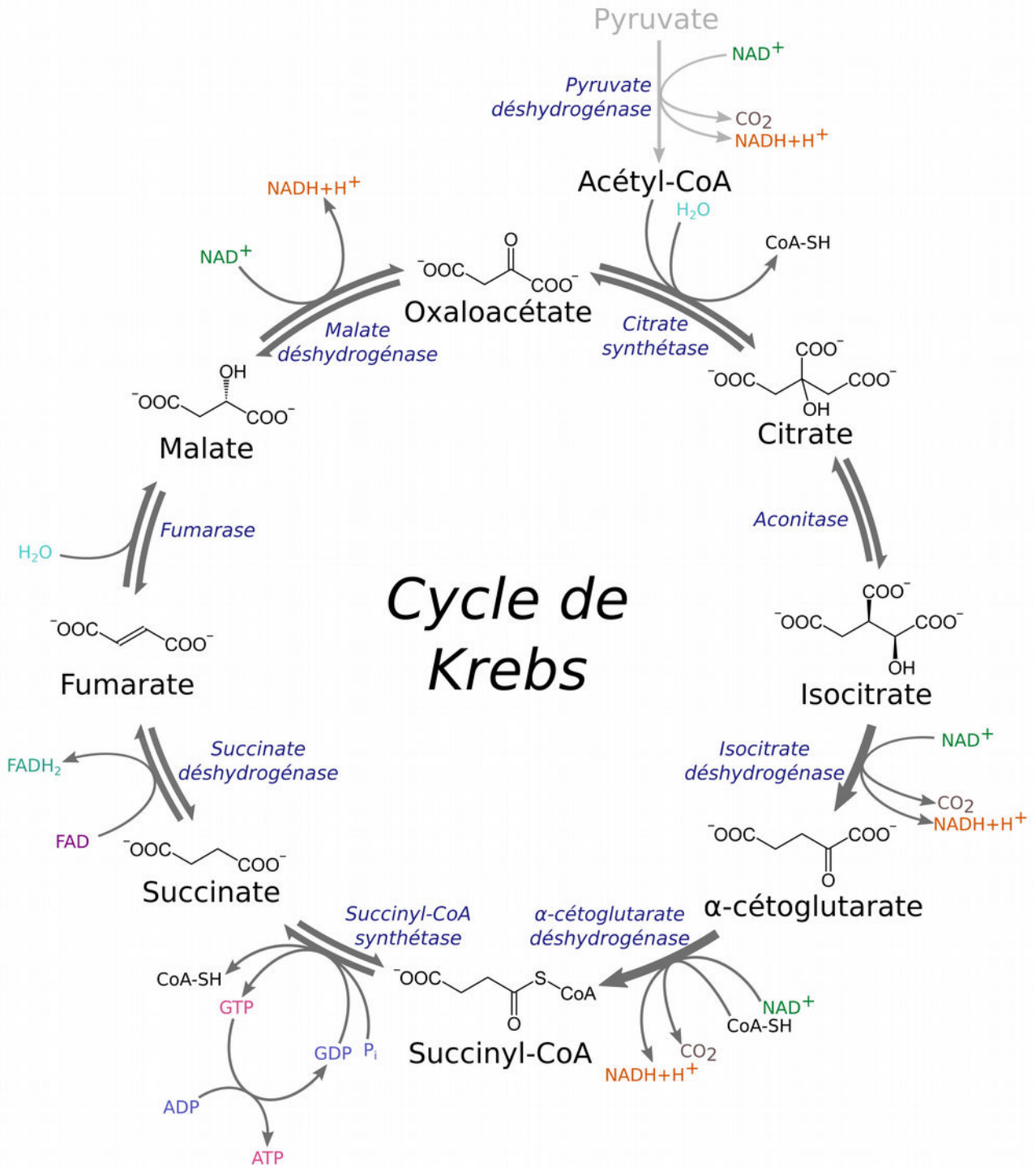


Figure 23: Le cycle de Krebs. Le pyruvate produit par la glycolyse peut être transformé en acétyl-CoA dans la mitochondrie. Ce dernier permet d'amorcer le cycle de Krebs en transformant l'oxaloacétate en citrate. Les transformations successives permettant au citrate de se transformer à nouveau en oxaloacétate permettent de générer trois molécules de NADH, une molécule d'ATP, une molécule de FADH₂, ainsi que deux molécules de CO₂ par molécule de pyruvate de départ.

III.2.2. Le cycle de Krebs

La transformation du pyruvate en acétyl-CoA dans la mitochondrie permet d'activer la phase clé du métabolisme mitochondrial, une boucle de transformations moléculaires appelée cycle de Krebs (ou cycle tricarboxylique). La citrate synthétase permet le transfert du groupement acétyle de l'acétyl-CoA sur une molécule d'oxaloacétate, ce qui forme le citrate (Figure 23). Celui-ci est ensuite successivement converti en six autres produits, puis se transforme à nouveau en oxaloacétate, qui peut démarrer un nouveau cycle en présence d'acétyl-CoA. Cette réaction en chaîne permet notamment de produire, à partir d'une molécule de pyruvate, trois molécules de NADH, une molécule de FADH₂ (flavine adénine dinucléotide, forme oxydée), une molécule de GTP (permettant la formation d'ATP), et deux molécules de dioxyde de carbone (CO₂) par pyruvate. Le FADH₂ et le NADH produits par le cycle de Krebs sont les deux produits permettant l'activation de la phosphorylation oxydative de la chaîne respiratoire. Plusieurs rétrocontrôles du cycle de Krebs sont possibles : ainsi un excès d'ATP *in vitro* peut inhiber l'action de la citrate synthétase et de l'isocitrate déshydrogénase dans de nombreux modèles (Hathaway et Atkinson, 1965, Hochachka et Lewis, 1970, Weitzman et Hewson, 1973), tandis que le NADH peut inhiber l' α -cétoglutarate déshydrogénase ou encore l'isocitrate déshydrogénase. À l'inverse, l'activité de l'isocitrate déshydrogénase sera stimulée par la présence d'ADP. Le calcium est également un activateur important de plusieurs enzymes du cycle de Krebs (Gunter *et al.*, 2004).

III.2.3. Phosphorylation oxydative et chaîne respiratoire

La phosphorylation oxydative est la voie métabolique permettant la production la plus importante d'ATP. Les enzymes de cette voie forment cinq complexes protéiques localisés dans la membrane mitochondriale interne, au niveau des crêtes mitochondriales, et constituent la chaîne respiratoire (Figure 24). Les complexes I à IV réalisent des réactions d'oxydo-réduction successives permettant un transfert d'électrons d'un complexe à l'autre et le transport de protons H⁺ de la matrice mitochondriale vers l'espace intermembranaire. Le complexe V permet quant à lui la production de l'ATP, couplée au transfert de protons depuis l'espace intermembranaire vers la matrice.

Le complexe I (ou NADH-coenzyme Q oxydoréductase) catalyse l'oxydation du NADH produit au niveau du cycle de Krebs en NAD⁺+H⁺. Les 2 électrons issus de cette réaction sont ensuite transférés entre les différentes sous-unités du complexe grâce à une série de clusters fer-soufre (agrégats d'atomes de fer et de soufre capables de se charger et de se décharger au cours de réactions d'oxydoréduction). Ce transfert d'électrons permet le passage de quatre protons H⁺ dans

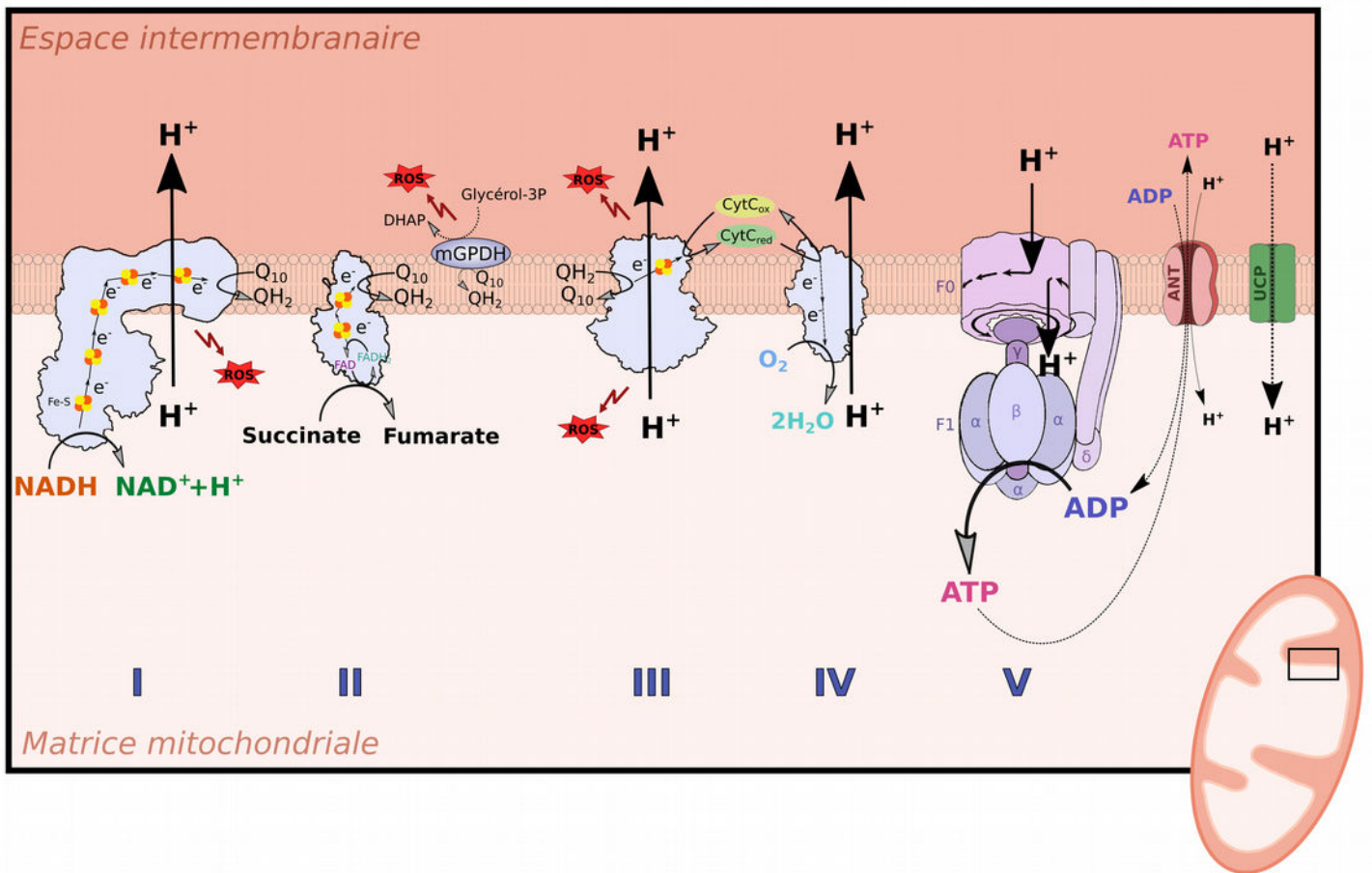


Figure 24: La chaîne respiratoire. Les cinq complexes protéiques constituant la chaîne respiratoire sont situés dans la membrane mitochondriale interne. Le complexe I permet le transfert de deux électrons provenant du NADH produit par le cycle de Krebs vers l'ubiquinone (Q10), qui se transforme alors en ubiquinol (QH2). Le transfert d'électrons est possible grâce à la présence au sein du complexe de clusters fer-soufre (clusters F-S, agrégats d'atomes de fer et de soufre), capables de se charger et de se décharger en passant par différents états d'oxydation. Le complexe II correspond à la succinate déshydrogénase du cycle de Krebs et catalyse la transformation du succinate en fumarate, produisant du FADH2. La retransformation de FADH2 en FAD permet un transfert d'électrons via des clusters Fe-S et la transformation d'une Q10 en QH2. La glycérol-phosphate déshydrogénase mitochondriale (mGPDH), située sur la membrane mitochondriale interne, peut également permettre la transformation de Q10 en QH2 en catalysant celle du glycérol-3-phosphate en DHAP, agissant en miroir de la GPDH cytoplasmique (voir figure 22). Le complexe III catalyse la transformation de QH2 en Q10, permettant la réduction de cytochrome C oxydé via des clusters Fe-S. Le complexe IV catalyse l'oxydation du cytochrome C oxydé, permettant la transformation de l'accepteur final, O2 en deux molécules d'H2O. Seules les réactions de transfert d'électrons des complexes I, III et IV permettent le passage de protons H+ de la matrice vers l'espace intermembranaire mitochondrial. Des radicaux libres, les espèces réactives de l'oxygène (ROS), peuvent être générés au niveau des complexes I et III et de la mGPDH. Le complexe V, ou ATP synthase, permet le passage des protons de l'espace intermembranaire vers la matrice. L'interaction des protons avec la sous-unité F0 la font entrer en rotation. La sous-unité F1, elle-même composée de sous-unités α et β , est maintenue en place par la sous-unité δ . La rotation de l'axe γ au niveau de F1 permet la transformation de molécules d'ADP en molécules d'ATP. L'ADP et l'ATP sont transférés entre la matrice et l'espace intermembranaire via l'adénine nucléotide translocase (ANT), et entre l'espace intermembranaire et le cytoplasme via le transporteur VDAC (voltage-dépendent anion channel, non représenté). L'ANT peut également permettre le passage de protons vers la matrice. Les protéines découplantes (UCP), dont la présence est variable en fonction du tissu et du contexte physiologique, permettent également la ré-entrée de protons dans la matrice.

l'espace intermembranaire, possiblement grâce à un changement conformationnel du complexe, mais le mécanisme exact reste mal compris (Zickermann *et al.*, 2015). Les électrons sont finalement transférés à la coenzyme ubiquinone (ou coenzyme Q₁₀) située dans la membrane interne, permettant le transfert de deux électrons au complexe III par l'intermédiaire de sa forme réduite, l'ubiquinol (QH₂).

Le complexe II de la chaîne respiratoire correspond en réalité à la succinate déshydrogénase du cycle de Krebs (voir Figure 23). Elle permet ainsi la transformation du succinate en fumarate, produisant du même coup du FADH₂. L'oxydation de FADH₂ en FAD permet un transfert d'électrons via une suite de clusters fer-soufre jusqu'à réduction de Q₁₀ en QH₂. Le complexe II ne participe pas au transfert de protons H⁺ vers l'espace intermembranaire.

Le complexe III (ou Q-cytochrome C oxydoréductase) est un dimère protéique qui oxyde deux QH₂ membranaires en Q₁₀, ce qui induit un transfert d'électrons sur deux molécules de cytochrome C oxydés, devenant réduits, et le relargage de quatre protons dans l'espace intermembranaire (Figure 24). Le cytochrome C réduit peut alors être oxydé par le complexe IV (ou cytochrome C oxydase). Le complexe IV transfère ensuite les électrons jusqu'à l'accepteur final, l'oxygène, réduit en H₂O. Des protons sont également transférés depuis la matrice vers l'espace intermembranaire durant ce processus.

Les complexes I, III et IV sont ainsi qualifiés de « pompes à protons », et provoquent un différentiel de pH (ΔpH) entre l'espace intermembranaire et la matrice mitochondriale. Ce différentiel de protons H⁺ se traduit également par un contraste de charge entre les deux zones, d'autant plus grand que la respiration mitochondriale est importante, que l'on nomme potentiel membranaire mitochondrial ($\Delta\Psi$). Ce phénomène est souvent mis à profit pour estimer l'activité mitochondriale, grâce à l'utilisation de molécules fluorescentes dont l'entrée dans les mitochondries se fait de façon proportionnelle à $\Delta\Psi$. C'est notamment le cas des colorants MitoTracker, dont l'intensité dans les mitochondries est considérée comme proportionnelle à l'activité mitochondriale, ou du JC-1, fluorescant en vert dans le cytoplasme et en rouge à l'état d'agrégats dans les mitochondries (voir Matériels et méthodes).

Enfin, le complexe V, l'ATP synthase, utilise les protons de l'espace intermembranaire pour générer de l'ATP à partir d'ADP dans la matrice mitochondriale (Figure 24). Ce complexe protéique a un fonctionnement complexe bien particulier, mais aujourd'hui bien décrit. L'ATP synthase est constituée d'une partie transmembranaire nommée F₀, où les protons peuvent être transférés d'un compartiment à l'autre, et d'une partie F₁, constituée de trois paires de sous-unités α et β . Le passage de protons H⁺ dans la partie F₀ entraîne la rotation du complexe protéique autour d'un axe central γ , par un phénomène d'ionisation des acides aminés présents dans F₀ (Capaldi et Aggeler, 2002). Seuls

F₀ et γ tournent, tandis que les sous-unités α et β sont maintenues en place grâce à une sous-unité δ . Lorsque la quantité de protons dans l'espace intermembranaire est faible, le complexe moléculaire tourne en provoquant l'hydrolyse d'ATP en ADP et en faisant sortir des protons de la matrice mitochondriale. En revanche, lorsque la quantité de protons est assez importante dans l'espace intermembranaire, l'ATP synthase tourne dans le sens inverse, transférant des protons dans la matrice, et générant de l'ATP à partir d'ADP (Boyer, 1997). Le mouvement de l'axe γ entre les sous-unités α et β produit en effet l'énergie nécessaire aux sous-unités β pour produire puis relâcher l'ATP (Dimroth *et al.*, 2006). On estime que le passage de quatre protons de l'espace intermembranaire vers la matrice permet la génération d'une molécule d'ATP (Yoshida *et al.*, 2001).

La glycérol-3-phosphate déshydrogénase mitochondriale (mGPDH, *mitochondrial glycerol-3P dehydrogenase*) peut également participer à l'activité de la chaîne respiratoire, de façon très variable selon les organes et le contexte physiologique (Mráček *et al.*, 2013). Tandis que la forme cytoplasmique de la GPDH catalyse la transformation du DHAP en glycérol-3-phosphate, réaction essentielle à la biosynthèse de certains lipides (voir Figure 21), la mGPDH, située au niveau de la membrane interne, décharge les électrons du glycérol-3-phosphate pour générer le DHAP, réduisant en même temps une ubiquinone en QH₂ (Figure 24). Le QH₂ produit peut alors lui aussi être réduit au niveau du complexe III.

Une partie du transfert de protons de l'espace intermembranaire vers la matrice mitochondriale peut également se faire sans l'implication de l'ATP-synthase. Cette « fuite de protons » peut avoir lieu soit de façon passive au travers de la membrane interne, à un taux variable en fonction de la composition lipidique de la membrane (Porter *et al.*, 1996, Fontaine *et al.*, 1996), soit de façon active par l'intermédiaire de protéines découplantes, ou UCPs (*uncoupling proteins 1, 2, 3, 4*) (Azzu and Brand, 2010, Bouillaud *et al.*, 2001). La présence d'UCPs est variable selon les tissus et le contexte physiologique, UCP2 étant la forme la plus largement exprimée. La présence de certaines autres protéines dans la membrane interne peut également favoriser le passage de protons vers la matrice, comme c'est le cas pour l'ANT (*adenine nucléotide translocase*) (Brand *et al.*, 2005), dont le rôle principal est le transport d'ADP depuis l'espace intermembranaire vers la matrice mitochondriale et d'ATP dans le sens inverse (Figure 24). Cette dissipation d'une partie du gradient de protons entraîne la libération de chaleur (thermogenèse) lorsqu'elle implique les UCPs, mais ne produit pas d'ATP. La modulation de l'expression des protéines responsables de la fuite de protons peut ainsi permettre un autre niveau de régulation de la respiration mitochondriale, en augmentant la quantité de protons disponibles dans la matrice mitochondriale, et en réduisant la production d'espèces réactives de l'oxygène (voir partie III.2.5).

III.2.4. Bilan énergétique

Une cellule a besoin d'énergie pour alimenter les différentes réactions biologiques permettant son fonctionnement, énergie le plus souvent générée grâce à l'ATP. L'ATP est une molécule constituée d'un ribose et d'une adénine, couplés à trois groupements phosphates (Figure 25) chargés négativement et se repoussant les uns les autres, rendant la molécule d'ATP instable. L'hydrolyse de l'ATP en ADP (adénosine diphosphate) rend la molécule plus stable, et permet la libération d'un groupement phosphate qui peut être utilisé pour différentes transformations protéiques. Comme vu précédemment, une cellule génère de l'ATP grâce au métabolisme du glucose suivi de la phosphorylation oxydative. L'utilisation d'une molécule de glucose permet ainsi la production nette de deux molécules d'ATP durant la glycolyse, deux au niveau du cycle de Krebs, et 32 à 34 via la phosphorylation oxydative de la chaîne respiratoire, soit un total de 36 à 38 molécules d'ATP par molécule de glucose. Mais certaines cellules utilisent en revanche peu la phosphorylation oxydative : les cellules cancéreuses et les cellules souches présentent globalement un taux de phosphorylation oxydative bien plus faible que les autres types cellulaires, tout en réalisant une glycolyse plus importante, comme présenté dans la [partie III.3](#).

III.2.5. Dérivés réactifs de l'oxygène (ROS)

Les dérivés réactifs de l'oxygène (*reactive oxygen species*, ROS) sont des molécules provenant de la modification de molécules d'oxygène, qui existent majoritairement sous forme de radicaux libres.

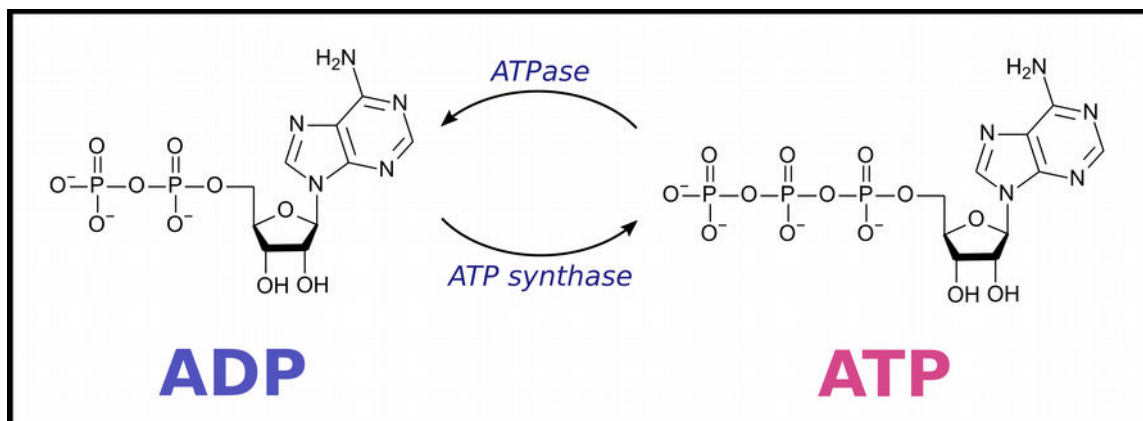


Figure 25: Structure moléculaire de l'ADP et de l'ATP. L'adénosine diphosphate (ADP) et l'adénosine triphosphate (ATP) sont tous les deux constitués d'un ribose et d'une adénine, et respectivement de deux et trois groupements phosphates. La présence de charges négatives sur les groupements phosphates rend l'ATP moins stable que l'ADP, elle-même moins stable que l'adénosine monophosphate (AMP, non représentée). L'ATP synthase catalyse la transformation d'ADP en ATP, et les ATPases permettent la transformation d'ATP en ADP.

Dans la cellule, ils sont en grande partie générés comme des sous-produits de la chaîne respiratoire mitochondriale, au niveau des complexes I et III (Barja, 1999, Li *et al.*, 2013), mais également de la mGPDH lorsqu'elle est présente (Tahara *et al.*, 2009) (Figure 24). Comme vu précédemment, la chaîne respiratoire utilise des molécules d'O₂ pour générer de l'ATP et de l'H₂O ; mais une petite partie de l'O₂ est transformée en anions superoxyde O₂⁻, possédant un électron supplémentaire non apparié. La probabilité de générer des ions O₂⁻ augmente avec l'activité mitochondriale. En effet, une augmentation du ΔΨ (donc du nombre de protons dans l'espace intermembranaire) et un faible taux d'ADP disponible rendent le transfert d'électrons le long de la chaîne respiratoire plus difficile. Ceci favorise des transferts d'électrons inversés, par exemple du complexe II vers le complexe I, qui génèrent des ROS (Liu *et al.*, 2002). Par ailleurs, les ROS peuvent également être générés par les NADPH oxydases (NOXs). Ces enzymes sont présentes principalement au niveau de certaines membranes cellulaires, en particulier dans les cellules effectuant de la phagocytose, où la production de ROS, catalysée par les NOXs, est utilisée comme agent bactéricide. Bien que moins actives que dans les phagocytes, les NOXs sont également actives à des degrés divers dans de nombreux autres types cellulaires (Lambeth *et al.*, 2008). Certaines enzymes génèrent également des ROS au niveau du réticulum endoplasmique, où ils sont impliqués dans certains repliements protéiques, mais aussi dans les processus d'apoptose en cas de stress cellulaire (Laurindo *et al.*, 2014, Zeeshan *et al.*, 2016). Enfin, des ROS peuvent être produits de façon exogène, par exemple via l'action de polluants ou de radiations.

La présence de ROS peut avoir des conséquences néfastes pour la cellule, pouvant entraîner des dommages au niveau des acides nucléiques (ADN et ARN), des chaînes d'acides aminés, des lipides cellulaires et des mitochondries elles-mêmes. L'ADN mitochondrial est ainsi particulièrement sujet aux mutations en raison de son exposition directe aux ROS, et du fait qu'il ne bénéficie pas de l'effet protecteur des histones, au contraire de l'ADN nucléaire (Larsen *et al.*, 2005, Richter *et al.*, 1988). Mais la présence de plusieurs copies du génome mitochondrial dans les mitochondries et la production d'une grande partie des protéines mitochondriales au niveau du génome nucléaire permettent de limiter la portée des effets négatifs.

Certaines enzymes, les superoxyde dismutases (SOD), permettent de protéger les cellules des dommages causés par les ROS. Elles sont présentes dans l'espace intermembranaire et dans la matrice mitochondriale, ainsi que dans le cytoplasme, et catalysent la transformation des ions O₂⁻ en peroxyde d'hydrogène H₂O₂ ($2 O_2^- + 2 H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). L'H₂O₂ ainsi produit peut ensuite être dégradé en H₂O et en O₂ par des catalases ($2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$) ou des peroxydases (par exemple la glutathion peroxydase : $2 GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2 H_2O$). Cependant ces mécanismes ne sont pas toujours totalement efficaces et des ROS restent présents dans les cellules, en plus ou moins

grande quantité. Une quantité importante de ROS cellulaires, notamment observée chez les sujets âgés, est associée à plusieurs maladies telles que certaines maladies neurodégénératives ou certains cancers (Liu *et al.*, 2002, Sastre *et al.*, 2002, Gupta *et al.*, 2012). En revanche, une quantité de ROS modérée peut s'avérer bénéfique. On sait en effet que les ROS sont entre autres impliqués dans la régulation de certaines voies de signalisations, telles que les voies Wnt et PI3K/Akt (Wen *et al.*, 2012, Sandieson *et al.*, 2014, Le Belle *et al.*, 2011), permettant une stimulation de la différenciation cellulaire, notamment neuronale (Sauer *et al.*, 2001, Rharass *et al.*, 2014, Le Belle *et al.*, 2011, Khacho *et al.*, 2016).

III.2.6. Implications du calcium dans le métabolisme mitochondrial

Les mitochondries sont le deuxième site de « stockage » du calcium cellulaire, derrière le réticulum endoplasmique (Kluge *et al.*, 2013). Le calcium (Ca^{2+}) joue un rôle majeur dans l'activité mitochondriale, puisqu'il stimule l'activité de plusieurs enzymes impliquées dans le cycle de Krebs (pyruvate déshydrogénase, isocitrate déshydrogénase, α -cétoglutarate déshydrogénase) (McCormack and Denton, 1993), ainsi que celles de l'ATP synthase (Das and Harris, 1990) et de l'ANT (Mildaziene *et al.*, 1995). Une concentration en Ca^{2+} mitochondriale ($[\text{Ca}^{2+}]_m$) importante peut activer l'ouverture transitoire de pores de transition de perméabilité (PTP), composés de plusieurs protéines membranaires mitochondriales, et permettant un relargage de Ca^{2+} dans le cytoplasme (Hüser and Blatter, 1999, O'Reilly *et al.*, 2003). Mais une $[\text{Ca}^{2+}]_m$ trop importante peut favoriser une production importante de ROS, ainsi qu'une ouverture prolongée du PTP pouvant entraîner, en plus d'un relargage massif de Ca^{2+} , une dépolarisation mitochondriale (annulation du $\Delta\Psi$), un arrêt de la respiration mitochondriale, et une sortie du cytochrome C dans le cytoplasme, phénomène déclencheur de l'apoptose cellulaire (Rasola and Bernardi, 2007, Orrenius *et al.*, 2003, Brookes *et al.*, 2004).

Il a par ailleurs été montré que le calcium cytoplasmique peut moduler la mobilité mitochondriale et stimuler la division, ou fission, mitochondriale. En effet, le Ca^{2+} tendrait à empêcher l'interaction d'une protéine transportant les mitochondries, la kinésine, avec les microtubules, limitant ainsi le déplacement des mitochondries (voir [partie III.4.4](#)) et favorisant leur présence dans les régions cytoplasmiques riches en Ca^{2+} (Liu and Hajnózy, 2009). En parallèle, le calcium cytoplasmique peut favoriser la fission en activant DRP1 (voir [partie III.4.3](#)), par l'intermédiaire de la calcineurine (Cereghetti *et al.*, 2008). Rharass *et al.* ont montré que la mise en différenciation de progéniteurs neuraux humains *in vitro* provoque un important transfert de calcium depuis le réticulum endoplasmique vers le cytoplasme puis vers les mitochondries, dès la première demi-heure de

différenciation, provoquant par ricochet une augmentation rapide de la production de ROS (Rharass *et al.*, 2014). À l'inverse des conditions contrôle où les auteurs observent une activation de la voie Wnt/ β -caténine après 3 heures de différenciation, une inhibition de l'entrée de Ca^{2+} dans les mitochondries se révèle empêcher l'accumulation de la protéine β -caténine au niveau nucléaire tout en diminuant l'expression de plusieurs gènes cibles de la voie. Le même résultat étant obtenu avec un inhibiteur de la production de ROS, les auteurs en déduisent que la production de ROS induite par l'augmentation de Ca^{2+} au niveau mitochondrial provoque l'activation de la voie Wnt/ β -caténine, qui dans leur cas pousse la différenciation des progéniteurs neuraux vers la voie de différenciation neuronale (Rharass *et al.*, 2014). Il a par ailleurs été montré que l'accumulation de calcium dans les mitochondries est particulièrement importante pour la plasticité synaptique des neurones matures (Kim *et al.*, 2011).

III.3. Métabolisme des cellules souches et des progéniteurs

III.3.1. Métabolisme glycolytique

Alors que les cellules matures obtiennent leur énergie principalement grâce à la phosphorylation oxydative, d'autres types cellulaires ont la particularité de présenter une faible activité mitochondriale, associée à une glycolyse importante. Ce phénomène a été observé dès 1924 par Otto Warburg, qui fut le premier à caractériser la tendance des cellules cancéreuses à transformer le glucose en lactate dans un processus de fermentation, même en présence d' O_2 (Warburg *et al.*, 1924, WARBURG, 1956). Ce processus était en effet jusque là uniquement décrit dans des cellules confrontées à un environnement hypoxique (faible taux d' O_2 , « effet Pasteur »). Ce métabolisme particulier, basé sur une glycolyse dite aérobie et une faible activité mitochondriale, est qualifié d'« effet Warburg ». Depuis, ce type de fonctionnement énergétique a également été observé dans les cellules souches, embryonnaires comme adultes (Simsek *et al.*, 2010, Shyh-Chang *et al.*, 2013, Wanet *et al.*, 2015).

Les niches de cellules souches adultes possèdent généralement une tension en O_2 inférieure aux tissus environnants, et sont donc considérées comme hypoxiques. Des conditions hypoxiques sont ainsi favorables au maintien de la multipotence pour les différents types de cellules souches adultes. Elles influencent également leur prolifération et leur différenciation (Mohyeldin *et al.*, 2010, Suda *et al.*, 2011, Shyh-Chang *et al.*, 2013). Il a de plus été montré que la présence de ROS peut forcer les cellules souches quiescentes à entrer en prolifération, et peut impacter leur choix de destin

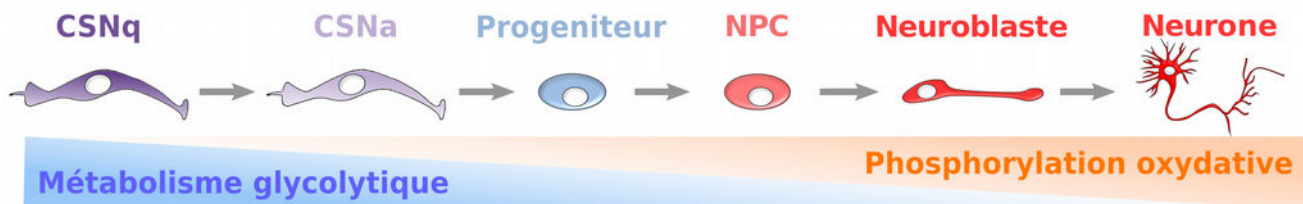


Figure 26: Switch métabolique de la neurogenèse adulte. Les cellules souches neurales (CSN) utilisent principalement un métabolisme de type glycolytique pour obtenir l'énergie nécessaire à leur fonctionnement. Une légère augmentation de la phosphorylation oxydative accompagne l'activation des CSNs et leur transformation en progéniteurs, qui reposent malgré tout toujours majoritairement sur un métabolisme glycolytique. La détermination cellulaire en précurseur neuronal (NPC) et la différenciation en neuroblaste puis en neurone mature sont concomitantes avec la mise en place d'un métabolisme reposant principalement sur la phosphorylation oxydative. CSNq : Cellule souche neurale quiescente ; CSNa : Cellule souche neurale activée.

cellulaire (Tothova *et al.*, 2007, Chen *et al.*, 2008, Renault *et al.*, 2009, Estrada *et al.*, 2013). La différenciation et la maturation des CSNs adultes est ainsi concomitante avec le passage d'un métabolisme glycolytique à un métabolisme basé sur la phosphorylation oxydative (Zheng *et al.*, 2016, Beckervordersandforth *et al.*, 2017) (Figure 26), et modifier artificiellement le métabolisme des CSNs influence à la fois leur pluripotence et leur différenciation (Pistollato *et al.*, 2007, De Filippis et Delia, 2011).

Les mécanismes régissant le maintien d'un métabolisme glycolytique dans les cellules souches est aujourd'hui assez bien caractérisé, grâce à l'étude de différents types de cellules souches adultes, en particulier les cellules souches hématopoïétiques. Il a ainsi été montré que la protéine hétérodimérique HIF1 (*hypoxia inducible factor 1*) joue un rôle clé dans le contrôle du métabolisme énergétique. HIF1 est constituée de deux sous-unités, HIF1 α et HIF1 β , qui lorsqu'elles s'associent agissent en tant que facteur de transcription et activent l'expression de différents gènes liés à la glycolyse (Wang *et al.*, 1995). Parmi ceux-ci figurent par exemple les transporteurs membranaires de glucose GLUT1 et 3, l'hexokinase ou la phosphofructokinase (Figure 27). Tandis que HIF1 β est présent de façon constitutive dans la cellule, la présence de HIF1 α est conditionnée à un faible taux d'O₂ intracellulaire. En effet, les enzymes prolyl hydroxylases (PHD1, PHD2, PHD3), qui catalysent l'hydroxylation de HIF1 α , conduisant à son ubiquitination puis à sa dégradation, sont activées par l'O₂ (Bruick and McKnight, 2001, Epstein *et al.*, 2001, Ivan *et al.*, 2002). Le fonctionnement des PHDs nécessite également la présence de fer dans le milieu, ainsi que de l' α -cétoglutarate, qu'elle transforme en succinate (Figure 27). En plus des gènes codants les enzymes de la glycolyse, HIF1 α active la transcription de la pyruvate déshydrogénase kinase (PDK), inhibitrice de l'activité de la pyruvate déshydrogénase (PDH), empêchant ainsi la transformation du pyruvate en Acétyl-CoA et l'activation du cycle de Krebs (Kim *et al.*, 2006, Takubo *et al.*, 2013). HIF1 α active également la

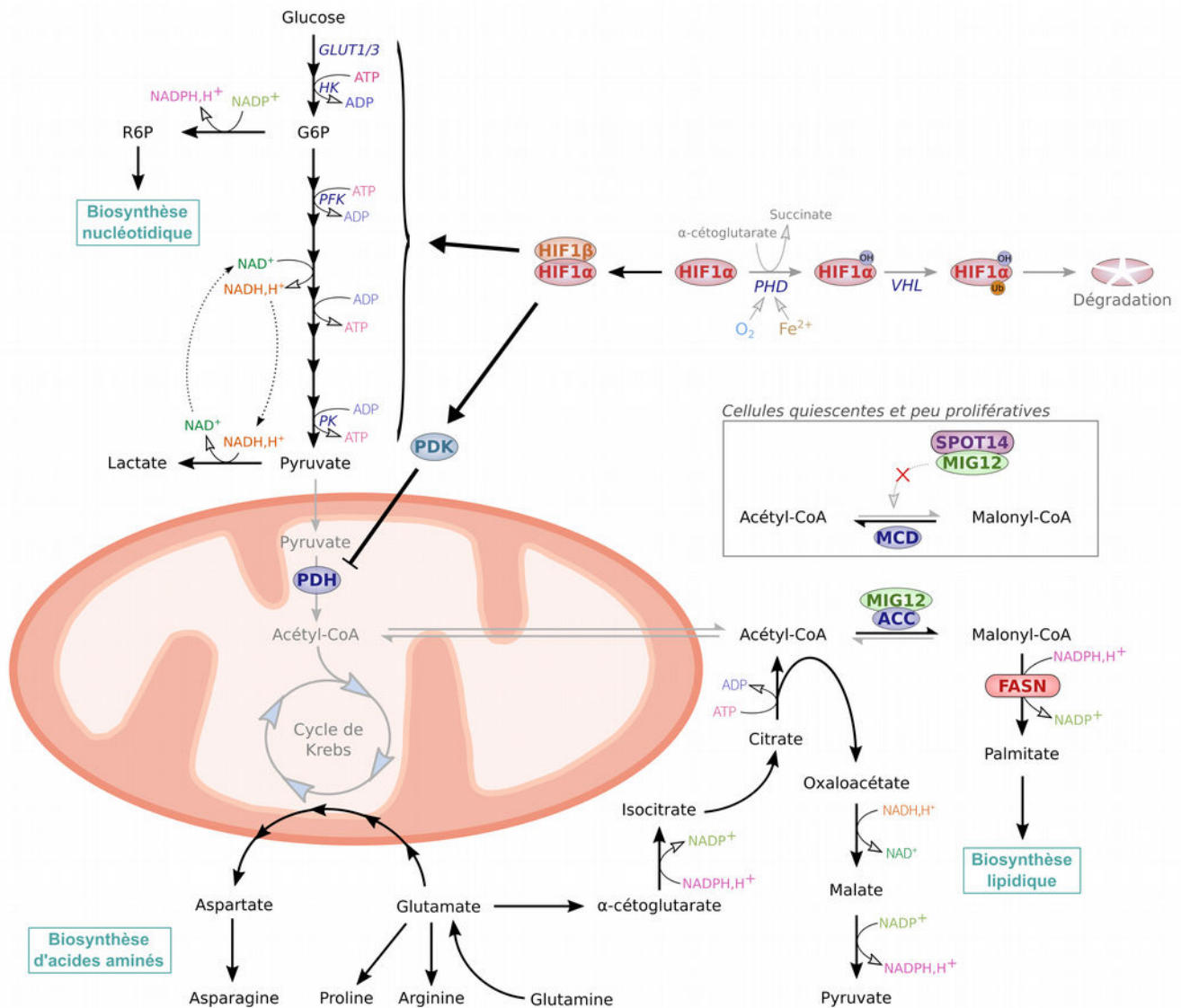


Figure 27: Métabolisme glycolytique. Dans les cellules reposant sur un métabolisme glycolytique, les conditions hypoxiques permettent la stabilisation de HIF1 α , qui s'associe avec HIF1 β pour agir en temps que facteur de transcription. Ils activent ainsi les transporteurs de glucose GLUT1 et GLUT3, l'hexokinase (HK), la phosphofruktokinase (PFK), la pyruvate kinase (PK) ainsi que la pyruvate déshydrogénase kinase (PDK), permettant à la fois une activation de la glycolyse et une inhibition de la formation d'acétyl-CoA à partir du pyruvate. Le pyruvate est alors transformé en lactate, produisant du NAD⁺, qui permet l'alimentation de la glycolyse au niveau de l'action de la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, qui le retransforme en NADH. La glycolyse est ainsi fortement activée, tandis que le cycle de Krebs est quasiment inactif. En conditions normoxiques, HIF1 α est hydroxylé par les prolyl hydroxylases (PHD), activées en présence d'oxygène, et permettant de façon concomitante la formation de succinate. HIF1 α est ensuite ubiquitylée par le complexe von Hippel-Lindau (VHL), puis dégradée.

Les cellules prolifératives ont besoin de synthétiser une grande quantité de nucléotides, ce qui est favorisé par l'accélération de la glycolyse, et une grande quantité de lipides pour la formation des membranes cellulaires. Elles expriment ainsi fortement l'enzyme FASN, essentielle à la lipogenèse. Les cellules quiescentes et peu prolifératives expriment, elles, la protéine SPOT14, qui, en interagissant avec MIG12, empêche la transformation d'acétyl-CoA en malonyl-CoA, substrat de FASN.

L'acétyl-CoA utilisé pour la biosynthèse lipidique provient principalement de la glutaminolyse. Cette voie de dégradation de l'acide aminé glutamine permet en effet la formation de pyruvate et d'acétyl-CoA en dehors des mitochondries. La transformation du glutamate, issu de la glutamine, permet également la formation des acides aminés arginine, proline, aspartate et asparagine. La biosynthèse lipidique nécessite une grande quantité de NADPH, qui dans les cellules au métabolisme glycolytique peut provenir de la formation de pyruvate via la glutaminolyse, et de la formation de nucléotides via la voie des pentoses phosphates (VPP), dont l'activité est favorisée par l'accélération de la glycolyse. ACC : acétyl-CoA carboxylase ; FASN : fatty acid synthase ; GLUT : glucose transporter ; G6P : glucose-6-phosphate ; LDH : lactate déshydrogénase ; MCD : malonyl-CoA décarboxylase ; MIG12 : MID-1 interacting protein ; OH : groupement hydroxyle ; PDH : pyruvate déshydrogénase ; R5P : ribose-5-phosphate ; Ub : ubiquitine.

lactate déshydrogénase (LDH) (Firth *et al.*, 1995), entraînant la dégradation du pyruvate, issu de la glycolyse, en lactate. Cette réaction permet la production concomitante de NAD⁺, qui pourra lui-même alimenter la glycolyse au niveau de la dégradation du GADP en 3-phosphoglycérate. Enfin, il est à noter que HIF1 α peut être un activateur de la DIO3 (désiodase inhibitrice des HTs), comme montré *in vitro* dans de nombreux types cellulaires (Simonides *et al.*, 2008, Ciavardelli *et al.*, 2014), ainsi que d'EGFR via PDK1 (Velpula *et al.*, 2013). Ces régulations positives sont en accord avec l'expression dans les CSNs de ces gènes cibles.

La prolifération des cellules souches et des progéniteurs s'accompagne également d'une augmentation de la lipogenèse (Folmes *et al.*, 2013), pour laquelle l'enzyme FASN (*fatty acid synthase*) est essentielle. FASN permet la transformation du malonyl-CoA, issu de la carboxylation de l'acétyl-CoA, en palmitate, l'un des acides gras les plus présents dans les membranes cellulaires. Elle est particulièrement exprimée dans les cellules souches neurales et les progéniteurs prolifératifs chez la souris adulte, et est moins présente dans les cellules en différenciation (Knobloch *et al.*, 2013) (Figure 27). Dans les cellules quiescentes et faiblement prolifératives, FASN est peu exprimée, à l'inverse d'un autre modulateur de la lipogenèse, SPOT14 (ou THRSP, *thyroid hormone responsive protein*). Lorsqu'il est exprimé, SPOT14 interagit avec la protéine MIG12 (*MID-1 interacting protein*), empêchant cette dernière de jouer son rôle d'activateur de l'acétyl-CoA carboxylase (ACC), et inhibant ainsi la transformation de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA (Knobloch *et al.*, 2013). SPOT14 inhibe donc la lipogenèse, maintenant les cellules dans un état de quiescence ou de prolifération faible, tandis que FASN et MIG12 permettent une lipogenèse accrue dans les cellules prolifératives (Knobloch *et al.*, 2013).

La production d'acétyl-CoA à partir de pyruvate étant en partie inhibée par l'action de HIF1 α dans les cellules souches, sa contribution à la formation de nouveaux lipides via l'action de FASN nécessite qu'il soit produit à partir d'une autre source. Il a été montré que l'acide aminé glutamine, le plus abondamment présent dans la circulation sanguine (STEIN et MOORE, 1954, Brosnan, 2003), peut être une source importante d'acétyl-CoA (DeBerardinis *et al.*, 2007, Yoo *et al.*, 2004). Le métabolisme de la glutamine, ou glutaminolyse, est de plus tout particulièrement actif en conditions hypoxiques, où il contribue de façon majeure à la lipogenèse (Metallo *et al.*, 2011). La glutamine permet également la formation d'autres acides aminés, pour certains via la production de plusieurs molécules intermédiaires du cycle de Krebs, ce qui a été tout particulièrement prouvé dans les cellules en prolifération (Hanson et Parsons, 1977, Lanks, 1987, Newsholme *et al.*, 1985, DeBerardinis *et al.*, 2007) (Figure 27). La glutamine est donc essentielle à la production accrue de lipides et d'acides aminés en l'absence d'activation de la respiration mitochondriale via le pyruvate dans les cellules souches activées et les progéniteurs.

III.3.2. Rôle du métabolisme glycolytique

L'avantage que tirent les cellules cancéreuses et les cellules souches du métabolisme glycolytique reste débattu. Mais une recontextualisation du métabolisme énergétique de ces cellules permet de mieux le comprendre. Les cellules quiescentes sont par définition peu actives et utilisent peu d'énergie. Elles n'ont donc pas de nécessité à produire une grande quantité d'ATP. De plus, l'inhibition de la respiration mitochondriale est essentielle à leur maintien en quiescence, comme nous l'avons vu plus haut. Il n'est donc pas étonnant que leur métabolisme soit très largement basé sur la glycolyse. En revanche, la prolifération cellulaire demande beaucoup d'énergie ; dès lors, pourquoi les cellules en prolifération utilisent-elles si peu la respiration mitochondriale, source intracellulaire d'ATP pourtant la plus efficace ?

La prolifération implique la capacité des cellules à répliquer l'ensemble de leur contenu, dont leur ADN, leurs protéines et leurs membranes. La production en grande quantité de nucléotides, d'acides aminés et de lipides nécessite bien sûr l'utilisation d'ATP, mais également de NADPH, qui ne fait pas partie des produits générés par le cycle de Krebs et la chaîne respiratoire. Une grande quantité de NADPH est en effet nécessaire à la formation de lipides : la transformation d'une molécule de malonyl-CoA en palmitate nécessite par exemple 14 molécules de NADPH. Le NADPH est également nécessaire, dans une moindre mesure, pour la formation de nucléotides et d'acides aminés. Deux voies métaboliques sont privilégiées pour la formation de NADPH : la voie des pentoses phosphates et la glutaminolyse (Figure 27). Ces deux voies sont particulièrement actives dans le cadre du métabolisme glycolytique. La glutamine permet en effet la formation d'acétyl-CoA et d'acides aminés, mais également la production de pyruvate indépendamment de la glycolyse, transformation générant du NADPH. La voie des pentoses phosphates est quant à elle indirectement activée grâce à la formation du lactate. La transformation du pyruvate en lactate génère en effet du NAD^+ , qui est nécessaire à la conversion du GADP en 3-phosphoglycérate. La formation de lactate permet ainsi de maintenir un équilibre entre NAD^+ et NADH, qui favorise une accélération de la glycolyse. Plus de glucose-6-phosphate est ainsi produit, permettant une activation plus importante de la voie des pentoses phosphates, génératrice de NADPH, et ainsi une plus grande génération de nucléotides (Lunt et Vander Heiden, 2011).

Une augmentation de la production d'acides aminés est également permise par l'intensification de la glycolyse (production de sérine, glycine, cystéine, alanine), de la voie des pentoses phosphates (production de tyrosine) et de la glutaminolyse (production de glutamine, glutamate, proline, arginine, aspartate, asparagine). Enfin, malgré l'efficacité moins grande de la glycolyse par rapport à

la phosphorylation oxydative (production de 2 ATP par molécule de glucose pour la glycolyse vs 36 ATP pour la phosphorylation oxydative), l'accélération de la glycolyse permet également une augmentation significative de la production d'ATP (Pfeiffer *et al.*, 2001).

III.4. Dynamiques mitochondriales

Les mitochondries ont longtemps été perçues comme des entités distinctes les unes des autres, réparties dans le cytoplasme cellulaire. On sait aujourd'hui qu'elles forment un réseau dynamique, dont la densité et la morphologie varient en fonction du type cellulaire et des conditions physiologiques. Ainsi, les mitochondries peuvent fusionner ou se diviser (fission). La biogenèse mitochondriale, les événements de fusion et de fission, ainsi que les déplacements mitochondriaux intracellulaires constituent ce que l'on nomme les « dynamiques mitochondriales » (Figure 28). Une bonne coordination de ces dynamiques est essentielle pour garantir un bon fonctionnement mitochondrial et pour répondre à l'évolution des besoins énergétiques de la cellule (Benard *et al.*, 2007). Une forte demande énergétique requiert une forte activité mitochondriale, et est ainsi associée à des dynamiques mitochondriales importantes. C'est par exemple le cas dans les neurones, sensibles à des altérations de ces processus : plusieurs maladies neurodégénératives sont associées à des problèmes de fission, de fusion ou de biogenèse mitochondriale dans le système nerveux (Itoh *et al.*, 2013, Ramonet *et al.*, 2013, Johri *et al.*, 2013). La maladie d'Alzheimer est ainsi associée à une augmentation de la fission et à une diminution de la fusion et de la biogenèse mitochondriales dans les neurones affectés, ainsi qu'à un mauvais transport axonal des mitochondries (Silva *et al.*, 2013, Manczak *et al.*, 2011, Calkins *et al.*, 2011). Cette défaillance des dynamiques mitochondriales entraîne une faible production d'ATP au niveau synaptique, provoquant un dysfonctionnement des synapses (Manczak *et al.*, 2011, Calkins *et al.*, 2011). La maladie de Parkinson est elle aussi en partie caractérisée par une altération des dynamiques mitochondriales, associée à un déficit de respiration mitochondriale (Bose et Beal, 2016). Une régulation anormale de l'équilibre entre fusion et fission a également été décrite chez des patients et des modèles animaux de la maladie de Huntington (Bossy-Wetzel *et al.*, 2008, Song *et al.*, 2011), et de la sclérose en plaque (Bando *et al.*, 2015, Campbell *et al.*, 2014).

III.4.1. Biogenèse mitochondriale

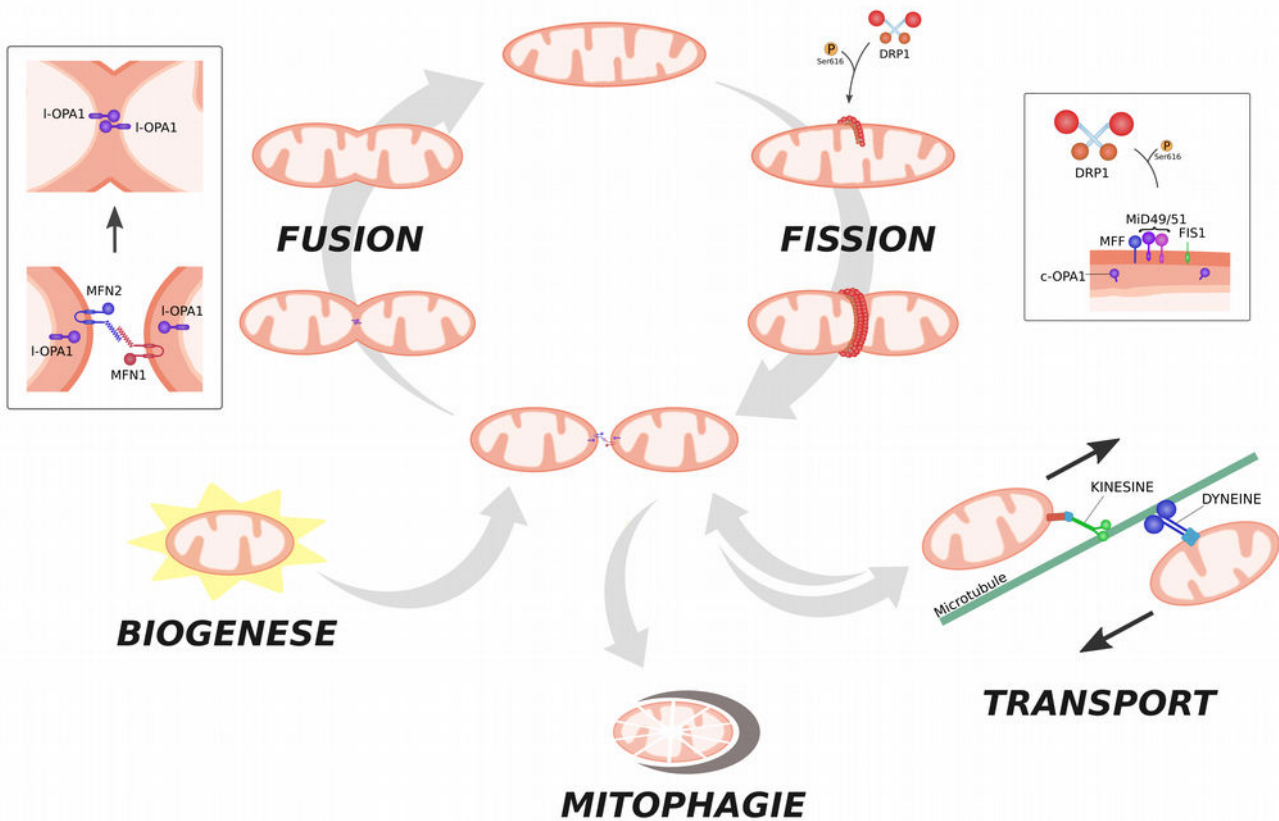


Figure 28: Dynamiques mitochondriales. Les dynamiques mitochondriales comprennent l'ensemble des événements de transformation et de déplacement des mitochondries à l'intérieur de la cellule. Leur activation permet de répondre aux besoins énergétiques de la cellule et de contrôler leur bon fonctionnement. L'activation des gènes PGC1a, NRF1 et 2 et TFAM permet l'activation de l'expression de l'essentiel des protéines constitutives des mitochondries, soit directement au niveau du génome mitochondrial, soit au niveau du génome nucléaire. La fusion mitochondriale permet la formation de mitochondries plus grandes et interconnectée en réseaux trabéculaires, optimisant leur activité. La fusion des membranes mitochondriales externes a lieu grâce à l'interaction des mitofusines MFN1 et MFN2. Les mitofusines des deux mitochondries en fusion interagissent au niveau de leur extrémité C-terminale, et l'hydrolyse de GTP au niveau du domaine GTPase de leur extrémité N-terminale permet la fusion des membranes externes. L'interaction des formes longues de la protéine OPA1 (l-OPA1) permet par la suite la fusion des membranes internes. La fission mitochondriale est nécessaire pour la destruction des régions mitochondriales endommagées et pour le déplacement des mitochondries à l'intérieur du cytoplasme. Après son activation par phosphorylation au niveau de son résidu sérine 616, DRP1 interagit avec les protéines MFF, MiD49, MiD51 et FIS1 situées à la surface des mitochondries. Elle forme ainsi plusieurs chaînes polymériques successives autour du site de clivage. L'hydrolyse de GTP entraîne un resserrement des polymères jusqu'à la séparation des deux mitochondries filles. Le déplacement des mitochondries dans la cellule se fait le long des microtubules grâce aux kinésines et aux dynéines, et le long de filaments d'actines, généralement pour les déplacements moins importants, grâce aux myosines (non représentées). Le transport des mitochondries par ces protéines moteur se fait grâce à l'hydrolyse de molécules d'ATP. Les mitochondries endommagées sont englobées par un autophagosome, ce qui permettra, après fusion avec un lysosome, la mitophagie.

La biogenèse mitochondriale correspond au processus menant à une augmentation globale de la masse mitochondriale intracellulaire. Associée aux événements de fusion et de fission, la biogenèse mitochondriale permet ainsi la présence de mitochondries en plus grand nombre et/ou de plus grande taille dans le cytoplasme. Cela passe par une production accrue des protéines constitutives des mitochondries, issues de gènes présents soit dans le génome nucléaire, soit au niveau du génome mitochondrial. Certaines protéines sont en effet produites directement dans les mitochondries, mais la majorité d'entre elles sont issues de gènes nucléaires, et nécessitent d'être transportés à l'intérieur des mitochondries. Des transporteurs mitochondriaux, les protéines TOM (*translocases of outer mitochondrial membrane*), permettent le passage des protéines traduites dans le cytoplasme vers l'espace intermembranaire. Elles pourront alors soit être repliées et intégrer la membrane externe ou rester dans l'espace intermembranaire, soit être prises en charge par des transporteurs de la membrane interne, les TIM (*translocases of inner mitochondrial membrane*), afin d'intégrer la matrice ou la membrane interne.

III.4.1.1. PGC1 α et TFAM

La biogenèse mitochondriale est largement contrôlée par le coactivateur de transcription PGC1 α (PPARGC1 α , *peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 α*), qui régule l'expression de nombreux gènes liés au métabolisme énergétique via son interaction avec le récepteur nucléaire PPAR γ . Il fait partie de la famille PGC1, comprenant trois membres, PGC1 α , PGC1 β et PRC (*PGC related coactivator*). Les trois protéines sont impliquées dans le métabolisme mitochondrial. PGC1 β a en effet été décrit comme étant, entre autres, un activateur de la biogenèse et de la respiration mitochondriale (Lin *et al.*, 2002, St-Pierre *et al.*, 2003), tandis que PRC est impliqué dans la régulation de l'expression des complexes protéiques de la chaîne respiratoire (Vercauteren *et al.*, 2009). Mais l'action de PGC1 α est aujourd'hui la mieux caractérisée. Wu *et al.* ont montré que PGC1 α coactive la transcription des facteurs de transcription NRF1 et NRF2 (*nuclear respiratory factors 1 & 2*) (Wu *et al.*, 1999, Leone *et al.*, 2005), et augmente l'activité de NRF1 en coactivant la transcription de ses gènes cibles (Wu *et al.*, 1999). NRF1 et NRF2 activent en particulier l'expression du facteur de transcription TFAM (*mitochondrial transcription factor A*). Une fois exprimé, TFAM est transporté dans les mitochondries, où il joue un rôle essentiel dans l'activation de la réplication et de la transcription de l'ADN mitochondrial (Picca and Lezza, 2015). Plusieurs des gènes codants les sous-unités des complexes I, III, IV et V de la chaîne respiratoire sont situés sur le génome mitochondrial et sont ainsi dépendants de la présence de TFAM. Les gènes spécifiques des quatre sous-unités du complexe II sont en revanche tous nucléaires. PGC1 α

exerce également une action de protection contre les ROS produits lors de l'augmentation de la respiration mitochondriale, grâce au contrôle de l'expression de plusieurs enzymes de détoxification, telles que la SOD2 (St-Pierre *et al.*, 2006, Valle *et al.*, 2005). La surexpression de PGC1 α améliore la survie cellulaire dans des conditions de stress oxydatif, montrant l'importance qu'a PGC1 α dans les processus antioxydants (St-Pierre *et al.*, 2006, Valle *et al.*, 2005). Enfin, on sait que la signalisation thyroïdienne est impliquée dans le contrôle de la biogenèse mitochondriale (voir [partie III.6.](#)), notamment via PGC1 α . L'expression de PGC1 α est en effet directement régulée par la T₃ via un TRE, comme montré *in vivo* et *in vitro* dans des cellules hépatiques de rat (Wulf *et al.*, 2008). Par ailleurs, PGC1 α semble lui-même pouvoir moduler l'expression de TR α en favorisant l'expression de TR α 2 aux dépens de TR α 1 (Thijssen-Timmer *et al.*, 2006), et agir comme co-activateur de plusieurs gènes induits par la T₃ via une interaction avec TR β (Yuan *et al.*, 2013).

III.4.1.2. SIRT1

Les sirtuines (SIRT, *silent information regulator two*) constituent chez les mammifères un groupe de 7 enzymes catalysant la déacétylation de diverses protéines, dont beaucoup jouent un rôle important au niveau du métabolisme cellulaire. Elles font partie du groupe des histones déacétylases de classe III, dont l'activité est dépendante d'un fort ratio NAD⁺/NADH (Tanner *et al.*, 2000, Lin *et al.*, 2004). Parmi elles, seules SIRT3, SIRT4 et SIRT5 sont connues pour être localisées au niveau des mitochondries. SIRT3 joue un rôle dans l'activation du complexe I de la chaîne respiratoire (Ahn *et al.*, 2008), SIRT4 dans la modulation de l'activation de la glutamate déshydrogénase, qui permet la formation de l' α -cétoglutarate (Haigis *et al.*, 2006), et SIRT5 permet l'activation du cycle de l'urée dans le foie (Nakagawa *et al.*, 2009). SIRT1 exerce en revanche son activité principalement au niveau nucléaire, mais a tout de même une forte influence sur la biogenèse mitochondriale.

SIRT1 possède à la fois des séquences signal d'importation et d'exportation nucléaire, et apparaît pouvoir naviguer entre le noyau et le cytoplasme en fonction des conditions (Tanno *et al.*, 2007). Si la présence de SIRT1 au niveau cytoplasmique permet l'activation de l'acétyl-CoA synthétase, qui catalyse la formation d'acétyl-CoA à partir d'acétate (Hallows *et al.*, 2006), cette localisation est également associée à une augmentation de l'apoptose (Jin *et al.*, 2007). Les principaux rôles de SIRT1 apparaissent être au niveau nucléaire, où l'enzyme permet la déacétylation d'histones (Vaquero *et al.*, 2006), d'histone méthyl-transférases (Vaquero *et al.*, 2007) et de facteurs de transcription (Lagouge *et al.*, 2006, Brunet *et al.*, 2004, Yeung *et al.*, 2004). En particulier, la déacétylation de PGC1 α par SIRT1 permet l'activation du cofacteur de transcription, et donc l'activation de la biogenèse mitochondriale (Lagouge *et al.*, 2006, Nemoto *et al.*, 2005).

En plus de leur localisation nucléaire, Aquilano *et al.* ont démontré pour la première fois l'existence d'une localisation secondaire possible de SIRT1 et de PGC1 α au niveau mitochondrial, dans différentes lignées cellulaires et dans plusieurs organes murins dont le cerveau (Aquilano *et al.*, 2010). Les deux protéines apparaissent alors associées avec TFAM, au niveau de l'ADN mitochondrial (Bogenghen, 2012, Campbell *et al.*, 2012). Ces observations permettent d'émettre l'hypothèse selon laquelle SIRT1 et PGC1 α , en plus de leurs actions nucléaires, pourraient également agir directement sur la transcription de gènes mitochondriaux. Par ailleurs, les travaux de Gurd *et al.* indiquent que le taux de transcription de *Sirt1* n'est pas nécessairement corrélé à son activité. Les auteurs montrent en effet que si l'augmentation de l'activité de la déacétylase corrèle bien avec une augmentation de la densité mitochondriale, ce n'est pas le cas de la quantité de protéine SIRT1 présente au niveau nucléaire dans les cellules de muscle de rat (Gurd *et al.*, 2009, Gurd *et al.*, 2011). Ils observent de plus une corrélation négative entre l'expression de SIRT1 et celle de PGC1 α dans leur modèle, que l'on peut interpréter comme un possible rétrocontrôle de l'activité d'une protéine sur l'expression de l'autre (Gurd *et al.*, 2009).

Lorsqu'une cellule mature produit une trop grande quantité de pyruvate en comparaison de sa capacité mitochondriale, celui-ci est transformé en lactate. Cette réaction utilise également du NADH et génère du NAD⁺, augmentant ainsi le ratio NAD⁺/NADH cellulaire, ce qui favorise l'activation de SIRT1, et donc de PGC1 α (Rodgers *et al.*, 2005). L'activation de SIRT1 dans les cellules souches et progéniteurs (voir [partie I.3.2.5.](#)) peut ainsi être mise en parallèle avec leur métabolisme glycolytique, générateur de lactate et de NAD⁺ en proportions importantes (voir [partie III.3.](#)). L'activation de PGC1 α par SIRT1 pourrait aussi se faire de façon indirecte. En effet, la déacétylation de la sérine-thréonine kinase LKB1 entraîne la phosphorylation et activation de l'AMPK (*AMP-activated protein kinase*) (Lan *et al.*, 2008), elle-même impliquée dans la phosphorylation activatrice de PGC1 α (Jäger *et al.*, 2007). L'AMPK, activée par une faible concentration en ATP, semble par ailleurs pouvoir induire une augmentation du ratio NAD⁺/NADH via la β -oxydation des acides gras (Cantót *al.*, 2009), promouvant indirectement elle aussi la biogenèse mitochondriale via l'induction de SIRT1.

SIRT1 pourrait également être impliqué dans le processus de destruction de mitochondries, ou mitophagie. Plusieurs études ont en effet montré que la déacétylase peut jouer un rôle dans l'activation de la dégradation des mitochondries endommagées, notamment en cas de stress cellulaire (Yoshii et Mizushima, 2015, Ng et Tang, 2013). L'implication d'une même protéine dans l'induction de la mitogenèse et de la mitophagie peut sembler paradoxale, mais les deux phénomènes sont en réalité complémentaires. L'augmentation de la capacité et de l'activité mitochondriales passent en effet par une induction de l'ensemble des dynamiques mitochondriales,

y compris la destruction des organelles endommagées, permettant ainsi une meilleure efficacité énergétique globale et une limitation de la génération de ROS (Wai and Langer, 2016).

III.4.2. Fusion mitochondriale

La fusion mitochondriale consiste en la jonction de deux mitochondries distinctes au niveau de leurs membranes internes et externes (Figure 28). Lorsque ce processus est particulièrement actif, les mitochondries peuvent constituer un véritable réseau cytoplasmique, alors qualifié de trabéculaire. On considère généralement que les cellules possédant un tel réseau ont une plus grande capacité à répondre à une forte demande énergétique, grâce à une phosphorylation oxydative plus efficace. Plus précisément, un réseau de mitochondries fortement interconnectées permet (1) une communication accrue avec le réticulum endoplasmique, facilitant l'entrée de nouvelles protéines mitochondriales dans les organelles, et (2) une dilution du contenu matriciel, limitant ainsi les dommages causés par l'accumulation de mutations pouvant apparaître sur l'ADN mitochondrial (Youle et van der Blik, 2012).

La fusion est principalement contrôlée par trois protéines chez les mammifères, les mitofusines MFN1 et MFN2, et OPA1 (*optic atrophy 1*) (Cipolat *et al.*, 2004, Zorzano *et al.*, 2010), qui appartiennent à la famille des dynamines et à la sous-famille des *dynamain-like proteins* (DLP), très conservées au sein des organismes eukaryotes (Roy *et al.*, 2015, Logan, 2010). Ce sont des GTPases, c'est-à-dire qu'elles possèdent un domaine spécifique de liaison à la GTP (*guanosine triphosphate*), le domaine G, permettant l'hydrolyse de la GTP en GDP (*guanosine diphosphate*), sous condition de dimérisation protéique (Gasper *et al.*, 2009). MFN1 et MFN2 possèdent un domaine transmembranaire localisé dans la membrane mitochondriale externe, tandis que leurs extrémités N-terminale et C-terminale sont dirigées vers le cytoplasme (Rojo *et al.*, 2002). Lors d'un événement de fusion, les mitofusines 1 et 2 situées sur les deux mitochondries d'origine s'hétérodimérisent ou s'homodimérisent et hydrolysent les molécules de GTP qui leur sont liées (Carlucci *et al.*, 2008). Ces deux réactions permettent un rapprochement des deux organelles et l'assemblage de leurs bicouches lipidiques externes, probablement via ubiquitinylation et dégradation des dimères de mitofusines, comme cela a été montré chez la levure (Anton *et al.*, 2011, Cohen *et al.*, 2011). MFN1 et MFN2 sont toutes les deux nécessaires à la fusion et doivent être présentes sur les deux mitochondries pour que la fusion puisse avoir lieu (Chen *et al.*, 2003, Koshiba *et al.*, 2004).

Après la fusion de la membrane mitochondriale externe a lieu celle de la membrane interne, médiée par OPA1. OPA1 est une protéine existant sous plusieurs formes : des formes courtes (c-OPA1),

situées dans l'espace intermembranaire, et des formes longues (l-OPA1), intégrées à la membrane interne (Song *et al.*, 2007). Les différentes formes longues peuvent être produites par épissage alternatif, puis une partie d'entre elles seront clivées en c-OPA1 grâce à l'action de plusieurs protéases, OMA1 et YME1L chez les mammifères (Song *et al.*, 2007, Ehses *et al.*, 2009). Si certaines études ont indiqué que les formes courtes et longues étaient toutes les deux nécessaires à la fusion chez la levure (Zick *et al.*, 2009, Song *et al.*, 2007), il est aujourd'hui acquis que seule la forme longue est indispensable à la fusion chez les mammifères, tandis que la présence de la forme courte dans l'espace intermembranaire promeut la fission (Anand *et al.*, 2014, Wai *et al.*, 2016). La modulation de la quantité de formes longues et courtes semble donc essentielle à la régulation des dynamiques mitochondriales. Par exemple, en cas de stress cellulaire, l'activation de OMA1 induira le clivage de l-OPA1 en c-OPA1, favorisant la fission nécessaire à la mitophagie. Par ailleurs, OPA1 est également importante pour la phosphorylation oxydative : elle interagit directement avec les complexes I, II et III de la chaîne respiratoire (Zanna *et al.*, 2008) et joue un rôle essentiel dans leur assemblage au sein de la membrane interne, et plus généralement dans la structuration des crêtes mitochondriales (Cogliati *et al.*, 2013). Enfin il est intéressant de noter que la protéine HIGD1a (*hypoxia-induced gene domain protein-1a*), induite par des conditions hypoxiques et également située dans la membrane mitochondriale interne, inhibe la fission mitochondriale en empêchant le clivage de l-OPA1 dans les cellules HeLa (An *et al.*, 2013).

Plusieurs études ont montré que PGC1 α est aussi impliqué dans l'activation de la fusion mitochondriale. Martin *et al.* ont ainsi révélé une induction directe de la transcription de *Mfn1* par PGC1 α dans des cellules de muscle cardiaque de souris (Martin *et al.*, 2014b). L'inactivation de PGC1 α et de PGC1 β entraîne une diminution de l'expression de *Mfn1*, mais aussi de *Mfn2* et de *Opal* dans le même modèle (Martin *et al.*, 2014b). À l'inverse, une surexpression de PGC1 α induit la transcription de *Mfn1* dans des cellules neuronales de rats (Dabrowska *et al.*, 2015).

III.4.3. Fission mitochondriale

La fission est le processus par lequel les mitochondries sont fragmentées en plusieurs organelles indépendants (Figure 28). Elle peut avoir plusieurs fonctions, parmi lesquelles (1) ségréger les régions endommagées des mitochondries afin de les éliminer par mitophagie, et donc optimiser l'activité mitochondriale globale, (2) assurer une distribution mitochondriale dans l'ensemble du cytoplasme, en permettant le transport de plus petites structures via le cytosquelette, ou encore (3) répartir les mitochondries entre cellules-filles lors de divisions cellulaires (Westermann, 2010).

La DLP DRP1 (*dynamamin-related protein 1*) est l'effecteur principal de la fission. Elle possède un domaine GTPase en N-terminal et une région centrale permettant la polymérisation. À la suite de son activation, DRP1 est recrutée depuis le cytoplasme vers la membrane mitochondriale externe, où elle interagit avec plusieurs récepteurs, tels que FIS1 (*mitochondrial fission 1*), aujourd'hui le mieux caractérisé, MFF (*mitochondrial fission factor*), MiD49 et MiD51 (*mitochondrial dynamics proteins*, 49 / 51 kDA) (Wai *et al.*, 2016, Palmer *et al.*, 2013). La fission a principalement lieu au niveau de sites d'interactions entre les mitochondries et le réticulum endoplasmique, où est exprimée la protéine INF2 (*inverted formin 2*) (Korobova *et al.*, 2013). INF2 permet la polymérisation de filaments d'actine entre la mitochondrie et le réticulum endoplasmique, et facilite ainsi à la fois l'interaction de DRP1 avec la membrane mitochondriale, et le processus de fission en lui-même (Friedman *et al.*, 2011, Korobova *et al.*, 2013). Une fois liée à la surface mitochondriale, DRP1 se polymérise en chaînes protéiques, tout autour du site de clivage (Figure 28). L'hydrolyse de la GTP fournit alors l'énergie nécessaire à un changement de conformation de la chaîne de DRP1, entraînant le resserrement du polymère jusqu'à séparation des deux mitochondries filles (Carlucci *et al.*, 2008).

Plusieurs modifications post-traductionnelles régulent l'activité de DRP1. L'ubiquitine-ligase MITOL (*mitochondrial ubiquitin ligase*, ou MARCH5, *membrane associated ring-CH-type finger 5*) peut entraîner l'ubiquitinylation de DRP1, promouvant ainsi la fission (Escobar-Henriques, 2014), tandis que son inactivation entraîne la formation d'un réseau mitochondrial hyperfusionné (Zemirli *et al.*, 2014). MITOL cible également FIS1, mais aussi MFN1, et ne serait donc pas spécifique de l'activation de la fission (Park *et al.*, 2010). Une réaction de désSUMOylation par la protéase SENP5 (*SUMO1/sentrin specific peptidase 5*) semble favoriser la polymérisation de DRP1 et la fission (Zunino *et al.*, 2009). La fission peut également être stimulée par la SUMOylation de DRP1 par la ligase MAPL (*mitochondria-anchored protein ligase*), mais cette modification ne semble cependant pas indispensable (Braschi *et al.*, 2009). Plusieurs réactions de phosphorylation sont en revanche des déterminants majeurs de l'activation ou de l'inhibition de DRP1. Tandis que la phosphorylation du résidu sérine 616 (pDRP1^{S616}) par le complexe cycline B1-CDK1 (*cyclin-dependent kinase 1*) active DRP1 et promeut la fission (Taguchi *et al.*, 2007, Yamano et Youle, 2011, Tailor *et al.*, 2014), la phosphorylation de la sérine 637 (pDRP1^{S637}) par la protéine kinase A dépendante de l'AMPc (PKA) inactive la fission en bloquant l'activité GTPase (Chang et Blackstone, 2007, Cribbs et Strack, 2007, Labbé *et al.*, 2014). La déphosphorylation de la sérine 637 par la calcineurine permet sa réactivation et promeut la translocation de DRP1 vers la surface mitochondriale (Friedman et Nunnari, 2014).

Si la fission au niveau de la membrane mitochondriale externe est aujourd'hui bien caractérisée, on comprend encore mal si la division de la membrane interne n'est due qu'à l'action de constriction de DRP1 sur la membrane externe, ou si d'autres mécanismes moléculaires entrent en jeu. On sait cependant que les c-OPA1, situées dans l'espace intermembranaire et issues du clivage des l-OPA1 de la membrane interne, promeuvent la fission. Anand *et al.* ont ainsi montré que les c-OPA1 s'accumulent dans l'espace intermembranaire au niveau du site de fission, colocalisant avec les protéines de fission DRP1 et MiD49 (Anand *et al.*, 2014). Le clivage de l-OPA1 pourrait donc jouer un rôle dans la fission de la membrane interne, par un mécanisme restant à définir. Par ailleurs, la protéine MTP18 (*mitochondrial protein 18kDa*), principalement localisée dans la membrane interne, semble également promouvoir la fission et le recrutement de DRP1 (Tondera *et al.*, 2005), mais le mécanisme impliqué reste là aussi à élucider.

PGC1 α a également la capacité de moduler la fission mitochondriale. Guo *et al.* ont par exemple montré l'inhibition de DRP1 par PGC1 α dans des cellules rénales de rat (Guo *et al.*, 2015), tandis que Dabrowska *et al.* ont révélé la capacité de PGC1 α à inhiber, mais également à activer l'expression de DRP1, notamment en cas de stress cellulaire, par fixation directe sur le promoteur de son gène dans des neurones de rats (Dabrowska *et al.*, 2015). Une invalidation de PGC1 α et de PGC1 β entraîne également une diminution de l'expression de Drp1, ainsi que de Fis1, dans le cœur de rats (Martin *et al.*, 2014a). Par ailleurs, il a été montré *in vitro* dans des cellules issues de neurosphères qu'une inhibition spécifique de DRP1 entraîne une baisse du potentiel membranaire et de la production d'ATP (Kim *et al.*, 2015). Ce résultat montre l'importance de l'ensemble des dynamiques mitochondriales dans la régulation de la respiration mitochondriale.

III.4.4. Mobilité mitochondriale

La mobilité mitochondriale est nécessaire pour assurer une bonne distribution des organelles dans le cytoplasme et une production locale d'ATP efficace. Les processus de transport des mitochondries sont ainsi particulièrement importants dans les cellules possédant un cytoplasme étendu ou des prolongements cellulaires. C'est particulièrement le cas pour les neurones, dont les synapses, généralement situées aux extrémités des prolongements, ont une demande en énergie très importante (Saxton et Hollenbeck, 2012).

Le transport des mitochondries s'effectue au niveau des microtubules et des filaments d'actine. Il est facilité par une activation de la fission, qui permet le déplacement de plus petites structures. Ce processus a lieu grâce au couplage des mitochondries avec des complexes protéiques qualifiés de « moteurs », les kinésines, les dynéines et les myosines. Ces différents complexes protéiques sont

généralement constitués de deux sous-unités moteur, en contact avec le microtubule ou le filament d'actine à une extrémité, et liées par leur autre extrémité à des sous-unités de liaison à l'entité à transporter (par exemple les mitochondries). Les sous-unités moteur des protéines de transport possèdent chacune un site de liaison aux microtubules ou à l'actine, et un site de liaison à l'ATP, dont l'hydrolyse fournit l'énergie nécessaire au déplacement. Les étapes successives de liaison et d'hydrolyse de l'ATP, puis de relargage d'ADP, changent tour à tour la conformation de chacun des domaines moteur, permettant au complexe d'avancer (Rice *et al.*, 1999, Rayment *et al.*, 1993, Carter *et al.*, 2011). Les kinésines se déplacent principalement le long des microtubules depuis le centre de la cellule vers les extrémités, permettant un transport dit « antérograde » des mitochondries (Hirokawa *et al.*, 2010). Les mitochondries possèdent un complexe adaptateur spécifique le liant aux kinésines, et possiblement aux autres protéines de transport, constitué des protéines MIRO (Mitochondrial Rho-GTPase), ancré à la membrane mitochondriale externe (Macaskill *et al.*, 2009), et MILTON, qui lie MIRO et la protéine de transport (Glater *et al.*, 2006). Les dynéines permettent le transport des mitochondries sur les microtubules dans le sens opposé (transport « rétrograde »), depuis les extrémités vers le centre de la cellule. Les myosines peuvent, elles, permettre le déplacement des organelles de façon antérograde (par exemple la myosine V) ou rétrograde (myosine VI), uniquement sur les filaments d'actine (Lister *et al.*, 2004, Saxton et Hollenbeck, 2012).

III.5. Métabolisme mitochondrial des cellules cérébrales

Les cellules du système nerveux central comme du système nerveux périphérique ont des besoins importants en énergie, pour lesquels elles reposent presque exclusivement sur le métabolisme mitochondrial. Un mauvais fonctionnement des mitochondries des neurones périphériques et des cellules de Schwann, qui forment la myéline en périphérie, est ainsi associé à de nombreuses pathologies neurodégénératives (Carelli et Chan, 2014, Schon et Przedborski, 2011, Fernyhough *et al.*, 2010). Dans le cadre de cette thèse, nous nous consacrerons ici aux rôles du métabolisme mitochondrial dans la neurogenèse et au niveau cérébral.

III.5.1. Métabolisme mitochondrial et différenciation des CSNs

L'activation du métabolisme mitochondrial est essentielle à la différenciation des CSNs, dans le cadre du passage d'un métabolisme glycolytique à un métabolisme basé sur la phosphorylation

oxydative (Zheng *et al.*, 2016, Beckervordersandforth *et al.*, 2017, Llorens-Bobadilla *et al.*, 2015). Zheng *et al.* ont montré à partir de cellules souches pluripotentes induites (*induced pluripotent stem cells*, iPSCs) que ce changement métabolique s'accompagne d'une diminution importante de l'expression de la plupart des enzymes de la glycolyse durant la différenciation neuronale (Zheng *et al.*, 2016), tandis que d'autres études confirment l'augmentation concomitante de la respiration mitochondriale et de l'expression des gènes qui y sont associés (Beckervordersandforth *et al.*, 2017, Shin *et al.*, 2015, Llorens-Bobadilla *et al.*, 2015). Une perturbation du fonctionnement mitochondrial provoque des altérations importantes de la neurogenèse embryonnaire comme de la neurogenèse adulte, en empêchant la prolifération et la différenciation des CSNs et des progéniteurs (Khacho *et al.*, 2016, Beckervordersandforth *et al.*, 2017). Au contraire, une stimulation de la respiration mitochondriale peut participer à la restauration d'une neurogenèse normale dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer (Richetin *et al.*, 2017). Beckervordersandforth *et al.* ont ainsi montré qu'une inactivation de TFAM, essentiel pour l'augmentation des capacités mitochondriales, provoque une diminution drastique du nombre de progéniteurs et de neurones immatures produits dans l'hippocampe adulte (Beckervordersandforth *et al.*, 2017). Calingasan *et al.* ont, quant à eux, étudié l'impact sur la neurogenèse adulte d'une déficience en une enzyme du cycle de Krebs, l' α -cétoglutarate déshydrogénase. Les auteurs ont observé une réduction significative du nombre de neuroblastes produits dans la SGZ en cas d'empêchement du cycle de Krebs, et une tendance non-significative à la réduction du nombre de neuroblastes au sein de la SVZ (latéro-ventrale et dorsale) (Calingasan *et al.*, 2008). Mais l'impact du métabolisme mitochondrial sur la neurogenèse adulte au sein de la SVZ reste peu étudié.

De façon inattendue, Le Belle *et al.* ont montré chez la souris adulte que les CSNs activées produisent une quantité importante de ROS (Le Belle *et al.*, 2011). Ces ROS se sont révélés provenir en partie de l'activité de la NADPH oxydase 2 (NOX2), dont l'inhibition entraîne une diminution de la prolifération des CSNs. À l'inverse, une augmentation de l'activité de la NOX2 entraîne une augmentation de la prolifération dans la niche (Le Belle *et al.*, 2011). Les auteurs ont de plus montré que cette production de ROS permettait l'activation de la voie PI3K/Akt/mTOR, qui stimule la prolifération cellulaire (Le Belle *et al.*, 2011). Les CSNs possèdent également une forte expression de la glutathion peroxydase et d'UCP2, qui jouent un rôle d'antioxydant et protègent les cellules indifférenciées des dommages pouvant être causée par les ROS (Madhavan *et al.*, 2006, Madhavan *et al.*, 2008, Romanko *et al.*, 2004). De façon étonnante, les ROS provenant de l'activité mitochondriale ont un effet opposé aux ROS provenant de l'activité des NOXs dans les cellules souches. Il est en effet connu que l'augmentation de la production de ROS est nécessaire à la différenciation, comme cela a été montré dans de nombreux types de cellules souches chez

l'embryon et l'adulte (Bigarella *et al.*, 2014, Cho *et al.*, 2006, Saretzki *et al.*, 2008, Inoue *et al.*, 2010, Simsek *et al.*, 2010, Rharass *et al.*, 2014). Il a ainsi été montré *in vitro* que la différenciation de progéniteurs neuraux humains nécessite une augmentation de la production de ROS mitochondriaux, induite par une augmentation des transferts de Ca^{2+} entre le réticulum endoplasmique et les mitochondries (Rharass *et al.*, 2014). Dans les cellules de la SGZ murine adulte, l'induction de la différenciation des CSNs s'accompagne également d'une augmentation de la production de ROS (Walton *et al.*, 2012). Ainsi, si la production de ROS par la NOX2 dans les CSNs adultes promeut la prolifération cellulaire et le maintien des CSNs à un stade indifférencié (Le Belle *et al.*, 2011, Kokovay *et al.*, 2012), l'augmentation de la production de ROS mitochondriaux participe à l'enclenchement de la détermination et de la différenciation cellulaire (Walton *et al.*, 2012, Bigarella *et al.*, 2014, Prozorovski *et al.*, 2015, Kubli and Sussman, 2017).

Des changements dans la structure des mitochondries ont également été observés au cours de la différenciation des CSNs adultes. Dans la SGZ, elles apparaissent ainsi petites et fragmentées dans les CSNs, puis s'allongent au cours de la différenciation neuronale (Beckervordersandforth *et al.*, 2017). La transition entre métabolisme glycolytique et métabolisme basé sur la phosphorylation oxydative a donc lieu en parallèle d'une augmentation progressive de la taille des mitochondries et de leur trabécularisation dans le contexte de la SGZ adulte. Dans la SVZ embryonnaire en revanche, Khacho *et al.* observent des réseaux de mitochondries allongées dans les CSNs et les progéniteurs SOX2⁺, des mitochondries fragmentées dans les cellules s'engageant dans la différenciation neuronale, puis a nouveau un réseau de mitochondries plus longues dans les neurones (Khacho *et al.*, 2016). Ces changements morphologiques apparaissent comme nécessaires à l'augmentation de la phosphorylation oxydative et de la production de ROS, dont dépend la différenciation neuronale (Khacho *et al.*, 2016). On peut noter dans cette même étude que l'inactivation des modulateurs des dynamiques mitochondriales (MFN1/2, OPA1, DRP1) n'affectent pas le métabolisme des CSNs et progéniteurs en termes de production d'ATP, confirmant l'importance négligeable de la respiration mitochondriale dans ces cellules (Khacho *et al.*, 2016). Ainsi l'évolution des dynamiques mitochondriales est nécessaire aux changements métaboliques au cours de la différenciation neuronale, mais s'avère différente selon la niche et le stade neurogéniques (Khacho et Slack, 2017). Les changements de dynamiques mitochondriales au cours de la différenciation des cellules issues de la SVZ adulte restent à déterminer. On peut donc se poser la question de savoir si celles-ci évoluent dans la SVZ adulte de la même façon que dans la SVZ embryonnaire, ou au contraire de la même façon que dans la SGZ adulte. Les neuroblastes issus de la SVZ adulte migrent sur une distance plus importante que les neuroblastes de la SGZ ; or on sait que la présence de mitochondries fragmentées est bénéfique aux cellules migratoires, comme montré dans les

lymphocytes (da Silva *et al.*, 2014, Campello *et al.*, 2006). On peut donc penser qu'une fission mitochondriale importante soit nécessaire aux neuroblastes de la SVZ adulte, suggérant des dynamiques mitochondriales similaires à celles observées dans les cellules de la SVZ embryonnaire. Cette hypothèse est confortée par les travaux de Kim *et al.*, qui montrent que l'inhibition de DRP1 empêche la migration de cellules issues de neurosphères de SVZ adulte, et bloque leur différenciation en neurones (Kim *et al.*, 2015). Les auteurs ont de plus observé que l'inhibition de DRP1 entraîne une réduction importante du potentiel membranaire mitochondrial et de la respiration (Kim *et al.*, 2015). La mise en place d'un traitement à la L-carnitine, permettant de rétablir le potentiel membranaire et la production d'ATP, permet en revanche de rétablir une migration et une différenciation normales même en cas d'inhibition de DRP1 (Kim *et al.*, 2015). Si ce traitement ne permet habituellement pas de rétablir la fission mitochondriale (Cho *et al.*, 2012), il semble donc que l'augmentation de la production d'ATP par la L-carnitine soit suffisamment importante pour palier à la mauvaise répartition des mitochondries dans le cytoplasme. Par ailleurs, il a aussi été montré que la surexpression de MFN2 dans des iPSCs humaines promouvait la différenciation neuronale (Fang *et al.*, 2016), confirmant l'idée selon laquelle l'ensemble des dynamiques mitochondriales sont impliquées dans l'augmentation de la respiration.

III.5.2. Influence du métabolisme mitochondrial sur le choix de destin cellulaire

Comme nous l'avons vu, les progéniteurs issus des CSNs de la SVZ adulte peuvent se différencier vers un phénotype neuronal ou un phénotype oligodendrocytaire. Or plusieurs études montrent que les changements métaboliques qui se mettent en place lors de la détermination des cellules souches peuvent influencer le choix du destin cellulaire. Ainsi, Pistollato *et al.* ont montré que le taux d'oxygénation de progéniteurs issus de SVZ périnatale humaine avait un fort impact sur la détermination cellulaire (Pistollato *et al.*, 2007). En mettant en culture des cellules issues de la SVZ d'un nouveau-né décédé peu après la naissance du fait d'une insuffisance pulmonaire, les auteurs ont tout d'abord montré qu'une oxygénation maintenue à 5 % entraîne une forte augmentation de la prolifération cellulaire par rapport à une culture en conditions contrôle (20 % O₂). En revanche, en conditions de culture promouvant la différenciation cellulaire (absence de facteurs de croissance dans le milieu de culture), un taux de 20 % d'oxygène permet une différenciation plus efficace qu'à 5 % O₂ (Pistollato *et al.*, 2007). Ce résultat confirme le faible besoin d'oxygène des cellules prolifératives, et la nécessité d'une augmentation de la respiration cellulaire pour la différenciation. Un protocole de modification de l'oxygénation entre les phases de prolifération (7 jours) et de

différenciation (21 jours) a ensuite permis à l'équipe d'observer des différences importantes dans la proportion des cellules issues des différents lignages. Si les proportions de neurones matures et d'astrocytes sont restées identiques quelles que soient les conditions, un maintien à 20% O₂ tout au long de la culture (20 → 20 %) ou un passage de 20 % à 5 % au moment de la mise en différenciation (20 → 5 %) induit une diminution drastique de la proportion d'oligodendrocytes générés en comparaison des conditions 5 → 20 % et 5 → 5 % (Pistollato *et al.*, 2007). Des conditions de culture hypoxiques semblent donc favorables à une détermination des progéniteurs en OPCs, révélant un plus faible besoin de respiration cellulaire que pour la détermination des précurseurs neuronaux ou astrocytaires. Enfin, les auteurs ont montré un plus faible nombre d'OPCs PDGFR α^+ et un plus grand nombre d'oligodendrocytes matures O4⁺p21^{Cip1+} (p21^{Cip1} étant utilisé en tant que marqueur de l'arrêt du cycle cellulaire), en conditions 5 → 20 % qu'en conditions 5 → 5 % (Pistollato *et al.*, 2007). Une exposition des OPCs à 20 % O₂ favorise donc l'arrêt mitotique et promeut la différenciation et la maturation des oligodendrocytes.

En travaillant sur des progéniteurs neuronaux dérivés d'iPSCs humaines, Xie *et al.* ont, eux, montré que des conditions de culture à 2 % O₂ favorisent une différenciation gliale (astrocytes GFAP⁺) au détriment d'une différenciation neuronale (TUJ1⁺) (Xie *et al.*, 2014). L'utilisation d'un shARN (*short hairpin* ARN, permettant l'inactivation d'un gène) spécifique de HIF1 β promeut par ailleurs la différenciation vers un destin neuronal au détriment de la détermination gliale (Xie *et al.*, 2014). HIF1 β étant nécessaire au maintien d'un métabolisme glycolytique (voir [partie III.3](#)), ce résultat montre la nécessité d'un maintien à un taux faible de respiration cellulaire pour la détermination astrocytaire. De même, Kim *et al.* ont montré qu'une inhibition de la fission et de la respiration mitochondriale favorise la détermination de progéniteurs de la SVZ adulte vers un destin astrocytaire aux dépens de la détermination neuronale, confirmant un besoin moindre de production d'ATP dans ce lignage (Kim *et al.*, 2015).

Ainsi, la détermination des progéniteurs neuronaux vers un destin glial semble être corrélée au maintien d'un métabolisme glycolytique, avant une augmentation de la respiration dans les phases plus tardives de la différenciation, que cela soit pour les cellules de la SVZ périnatale ou lors de la différenciation d'iPSCs humaines. La détermination neuronale semble à l'inverse nécessiter une augmentation plus précoce du métabolisme oxydatif dans ces modèles. Cette implication de la rapidité avec laquelle le changement métabolique se met en place sur le choix de destin cellulaire dans le cadre de la neurogenèse sous-ventriculaire adulte nécessite en revanche des analyses plus approfondies.

L'état oxydatif de la cellule pourrait également avoir un impact sur le choix du destin cellulaire. Le Belle *et al.* ont ainsi montré que la production de ROS avait un impact sur le destin de cellules de

neurosphères issues de SVZ de souris adulte. Lorsque NOX2 est mutée, les auteurs observent en effet une augmentation d'environ 30 % du nombre de neurosphères composées uniquement de cellules gliales (astrocytes et oligodendrocytes) (Le Belle *et al.*, 2011). La diminution de la production de ROS par la NOX2, qui promeut habituellement la prolifération des CSNs, serait donc plus favorable à la détermination gliale qu'à la détermination neuronale (Le Belle *et al.*, 2011). En étudiant la différenciation de progéniteurs issus du cortex embryonnaire, Prozorovski *et al.* observent à l'inverse que l'utilisation d'un inhibiteur de la glutathion synthétase, en provoquant une augmentation de la concentration de ROS intracellulaire, entraîne une augmentation de la génération d'astrocytes matures GFAP⁺ au détriment de la formation de neurones (Prozorovski *et al.*, 2008). Cette promotion du destin astroglial en présence de ROS s'accompagne d'une induction de *Sirt1*, et est réprimée lorsque les cellules sont transfectées avec un siARN invalidant SIRT1, favorisant la détermination neuronale. Hisahara *et al.* ont au contraire montré que SIRT1 promouvait la différenciation neuronale des progéniteurs embryonnaires en conditions physiologiques (Hisahara *et al.*, 2008). Les auteurs n'ont cependant pas étudié la différenciation gliale. Ainsi il semblerait que SIRT1 puisse agir en tant que cofacteur de différents facteurs de transcription en fonction des conditions oxydatives, promouvant la différenciation neuronale en conditions physiologiques (interaction avec le corépresseur N-CoR) (Hisahara *et al.*, 2008), ou promouvant la différenciation astrocytaire en présence d'agents oxydants (interaction avec le facteur de transcription HES1) (Prozorovski *et al.*, 2008). Si ceci a été montré dans des cellules embryonnaires, l'implication des ROS dans le choix de destin des CSNs adultes montrée par Le Belle *et al.* laissent penser qu'un processus de régulation similaire pourrait exister dans la SVZ adulte (Le Belle *et al.*, 2011). Enfin, si le groupe de Rafalski a montré que l'inhibition de SIRT1 dans la SVZ adulte promouvait l'oligodendrogenèse, ils observent aussi une augmentation du nombre de neuroblastes DCX⁺ (Rafalski *et al.*, 2013). Leur résultat confirme donc l'importance de SIRT1 dans la prolifération des cellules non-déterminées, mais n'indique pas nécessairement une implication dans le choix du destin.

III.5.3. Métabolisme mitochondrial dans les neurones matures

Les neurones matures ont d'importants besoins en ATP, que cela soit pour le transport, souvent sur de longues distances, de macromolécules et d'organelles le long de leurs prolongements pour la prise en charge de neurotransmetteurs dans les vésicules synaptiques, ou encore pour le relargage de ces derniers dans l'espace intersynaptique. Les différentes régions du neurone, telles que le corps cellulaire, l'arbre dendritique, l'axone ou les boutons synaptiques, ont des demandes énergétiques

distinctes et nécessitent une population mitochondriale locale et réactive (Li *et al.*, 2004, MacAskill et Kittler, 2010). La morphologie des mitochondries est d'ailleurs différente d'une zone neuronale à l'autre : le réseau mitochondrial est allongé dans les dendrites et près du corps cellulaire, et plus fragmenté dans les axones (Popov *et al.*, 2005). La fission est ainsi plus fréquente que la fusion dans les axones (Berman *et al.*, 2009), facilitant le transport des mitochondries depuis le corps cellulaire, où l'on considère que la majorité de la biogenèse mitochondriale a lieu. La nécessité d'un apport énergétique pour ces déplacements est d'autant plus grande qu'il a été observé que, à l'inverse d'autres organelles transportés dans les axones, les mitochondries peuvent fréquemment s'arrêter ou changer de direction, voire revenir jusqu'au corps cellulaire après une période passée dans l'axone (Ligon et Steward, 2000, Chada et Hollenbeck, 2004, Chang *et al.*, 2006). Les mitochondries peuvent ainsi réguler de façon locale l'apport en ATP ainsi que la concentration en Ca^{2+} , très important pour le fonctionnement synaptique (Kann and Kovás, 2007). Enfin, les mitochondries neuronales semblent avoir une demi-vie plus importante que celles d'autres types cellulaires (Menzies et Gold, 1971, O'Toole *et al.*, 2008), ce que l'on peut lier au besoin d'un transport mitochondrial sur de longues distances. L'activité mitophagique des autophagosomes axonaux, également demandeuse d'énergie, est ainsi cruciale du fait de l'accumulation potentielle de dommages dans les mitochondries « anciennes » ; d'autant plus qu'elle nécessite un transport de retour jusqu'au corps cellulaire, où la fusion du phagosome avec le lysosome a lieu (Wang *et al.*, 2006).

III.5.4. Métabolisme mitochondrial oligodendrocytaire

Les oligodendrocytes ont également besoin du métabolisme mitochondrial pour leur différenciation. Schoenfeld *et al.* ont ainsi démontré une augmentation significative de la quantité d'ADN mitochondrial et du nombre de transcrits mitochondriaux au cours de la différenciation *in vitro* d'OPCs de rats nouveaux-nés en oligodendrocytes matures, ainsi que durant la différenciation de cellules issues de gliome humain (Schoenfeld *et al.*, 2010). Si l'inhibition de la respiration mitochondriale n'a que peu d'effets sur les cellules de gliomes indifférenciées, elle entraîne un fort taux de mort cellulaire et une forte diminution de la production d'ATP dans les cellules en cours de différenciation (Schoenfeld *et al.*, 2010, Silva *et al.*, 2009), montrant leur plus grande dépendance à l'énergie issue de l'activité mitochondriale.

La gaine de myéline formée par les oligodendrocytes matures autour des axones est en majorité composée de cholestérol et de glycolipides. Ainsi la biosynthèse de ces deux éléments est capitale, en particulier celle du cholestérol dont la concentration est limitante pour la formation de la myéline

(Saher *et al.*, 2011). Le cholestérol est formé à partir d'acétyl-CoA, qui peut provenir de la dégradation du pyruvate ou de la glutaminolyse, tandis que les glycolipides sont produits à partir de la céramide, formée à partir de l'acide aminé sérine (voir [Figures 21 et 27](#)). Les oligodendrocytes utilisent ainsi largement la respiration mitochondriale pour la formation de la myéline, bien que les intermédiaires du cholestérol et des glycolipides puissent aussi être produits par d'autres voies.

Si plusieurs études laissent penser que les prolongements cellulaires des oligodendrocytes contiennent moins de mitochondries que les prolongements neuronaux (environ 8.7 ± 1.1 mitochondries/ μm vs 14 mitochondries/ μm) (Chang *et al.*, 2006, MacAskill et Kittler, 2010, Rinholm *et al.*, 2016), les dynamiques mitochondriales ont globalement peu été étudiées dans les oligodendrocytes matures. Jusqu'à récemment la présence même de mitochondries au niveau de la gaine de myéline était mise en doute. Certaines études ont ainsi suggéré une production d'ATP indépendante des mitochondries au niveau de la gaine de myéline : des protéines de la chaîne respiratoire seraient présentes dans la membrane des oligodendrocytes au niveau de la gaine (Ravera *et al.*, 2009). Cependant les différences de pH de part et d'autre de la myéline remettent en cause cette idée (Harris et Attwell, 2013). Rinholm *et al.* ont depuis montré *in vitro* et *in vivo* chez la souris adulte la présence de mitochondries dans la gaine de myéline (Rinholm *et al.*, 2016). Celles-ci sont en revanche apparues comme étant près de quatre fois moins nombreuses que dans les prolongements reliant la myéline au corps cellulaire. Les auteurs ont identifié par microscopie électronique la présence de mitochondries comportant peu de crêtes dans la myéline, signe d'une faible activité (Rinholm *et al.*, 2016). Les mitochondries oligodendrocytaires apparaissent de plus comme moins mobiles que celles des neurones (Rinholm *et al.*, 2016). Tous ces éléments convergent vers l'idée d'une respiration mitochondriale moins importante dans les oligodendrocytes que dans les neurones matures.

Les oligodendrocytes ont la particularité d'utiliser une grande quantité de lactate, le transformant en pyruvate pour alimenter la production de lipides formant la gaine de myéline (Sánchez-Abarca *et al.*, 2001). Ainsi, il a été montré que les oligodendrocytes sont capables de se développer et de former la myéline *in vitro* en présence de lactate, même lorsque la concentration en glucose est basse (Rinholm *et al.*, 2011). Des conditions de culture en présence d'un faible taux de glucose (0.4mM, estimé comme la concentration la plus faible possible pour rester en conditions physiologique) entraînent un ralentissement du cycle cellulaire des OPCs du corps calleux, mais celui-ci est réactivé en présence de lactate (Ichihara *et al.*, 2017). De plus, la présence de lactate permet d'activer la différenciation des OPCs, que cela soit en présence d'une faible ou d'une forte concentration physiologique de glucose (Ichihara *et al.*, 2017). Ainsi, le lactate apparaît essentiel au métabolisme oligodendocytaire, depuis la différenciation des OPCs jusqu'à la formation de la

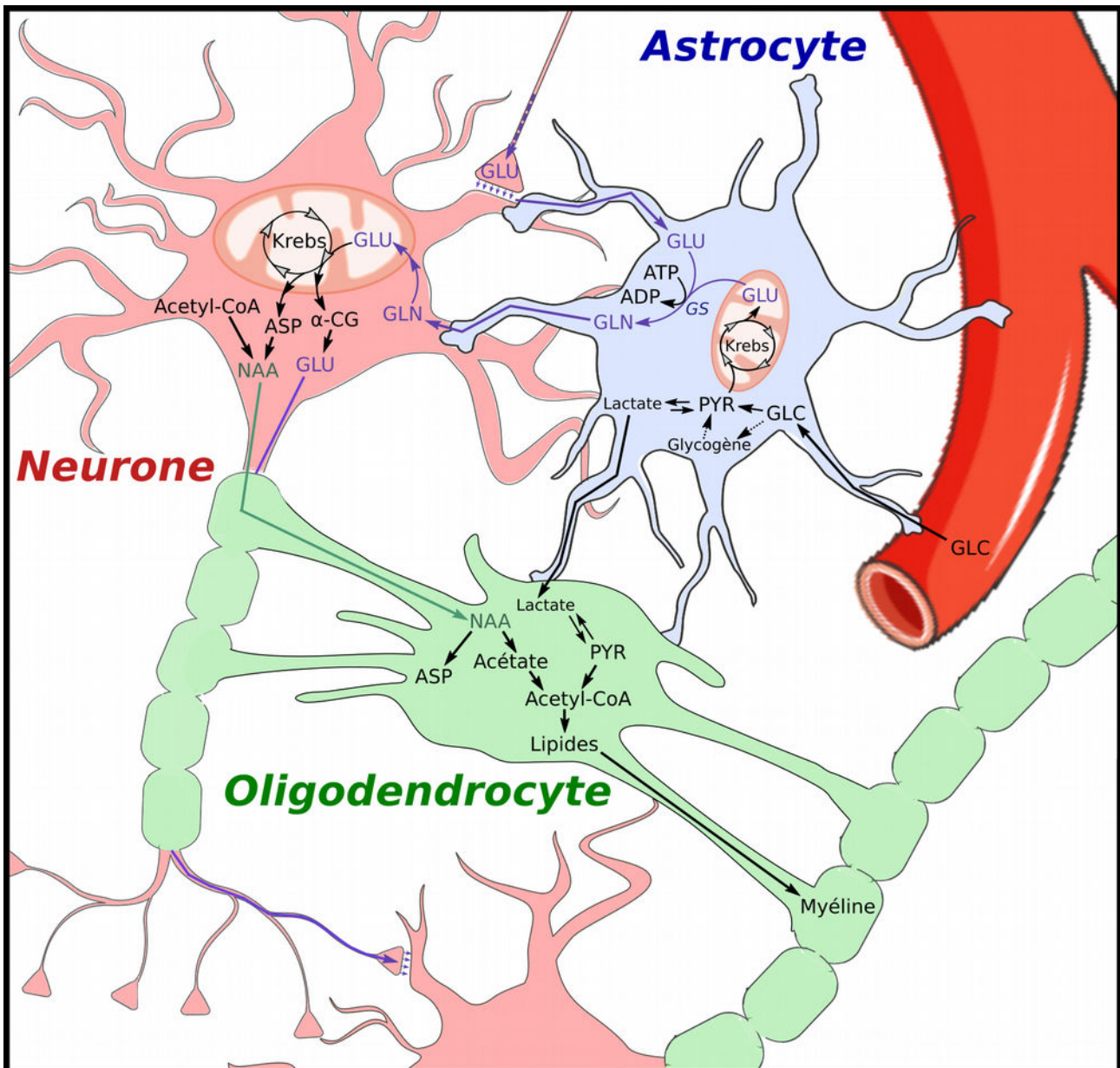


Figure 29: Cycles du glutamate et du N-acétylaspartate dans les astrocytes, les neurones et les oligodendrocytes.

Le glucose (GLC) circulant traverse la barrière hémato-encéphalique jusqu'aux astrocytes, qui peuvent le stocker sous forme de glycogène ou l'utiliser pour alimenter le cycle de Krebs. Le cycle de Krebs permet la formation de glutamate (GLU) par l'intermédiaire de l' α -cétoglutarate (α -CG). Le glutamate peut alors être transformé en glutamine dans le cytoplasme, grâce à l'enzyme glutamine synthétase (GS), avant d'être transmis aux neurones environnants. Au niveau neuronal, la glutamine peut alimenter le cycle de Krebs après retransformation en glutamate au niveau mitochondrial, puis être utilisée au niveau synaptique. Elle est alors relarguée par les vésicules synaptiques dans la fente synaptique, puis se fixe à des récepteurs spécifiques situés sur le neurone post-synaptique, permettant son excitation. Le glutamate est ensuite capté par les astrocytes dont les prolongements sont situés au niveau des synapses, puis il peut être retransformé en glutamine et à nouveau alimenter le cycle.

Le cycle de Krebs permet également aux neurones de générer de l'aspartate (ASP) à partir de l'intermédiaire oxaloacétate. Celui-ci peut interagir avec de l'acétyl-CoA et former ainsi du N-acétyl-aspartate (NAA). Le NAA est transféré aux oligodendrocytes au niveau de la gaine de myéline, où il peut à nouveau former de l'acétyl-CoA, alimentant ainsi la biosynthèse lipidique permettant la formation de la myéline. PYR : pyruvate.

myéline. Or comme nous l'avons vu, le métabolisme glycolytique permet une production plus importante de lactate que le métabolisme basé sur la phosphorylation oxydative. Cette importance du lactate dans le métabolisme des oligodendrocytes est donc cohérente avec une respiration mitochondriale moindre.

III.5.5. Interactions métaboliques des neurones, oligodendrocytes et astrocytes matures

Les interactions entre neurones et oligodendrocytes matures nécessitent également une optimisation du métabolisme mitochondrial, en particulier en lien avec la production de deux acides aminés, le glutamate et l'aspartate. Le glutamate est en effet utilisé par les neurones au niveau synaptique comme le principal neurotransmetteur cérébral (Meldrum, 2000). Il peut être synthétisé directement dans les neurones à partir de l'intermédiaire du cycle de Krebs α -cétoglutarate, ou dans les astrocytes environnants (Figure 29). Pour cela les astrocytes captent le glucose de la circulation et l'utilisent pour alimenter le cycle de Krebs, qui leur permet de produire le glutamate, ou le stockent sous forme de glycogène (Brown et Ransom, 2007). Celui-ci est ensuite transformé en glutamine grâce à la présence d'une enzyme absente des neurones, la glutamine synthétase (Norenberg et Martinez-Hernandez, 1979). La glutamine produite peut alors être transportée jusqu'aux zones de contact avec les neurones et leur être transmise, puis peut à nouveau être transformée en glutamate. Celui-ci peut alors alimenter le cycle de Krebs, et être utilisé au niveau des synapses. Le relargage de glutamate au niveau synaptique permet l'excitation des neurones post-synaptiques, par fixation à des récepteurs spécifiques. Il est ensuite réassimilé par les astrocytes dont les prolongements sont associés aux synapses (Danbolt, 2001, Williams *et al.*, 2005, Anderson et Swanson, 2000, LeMaistre et Anderson, 2009). Il peut alors être à nouveau transformé en glutamine, qui permet une réalimentation des neurones, ou est relarguée dans la circulation en cas d'excès. Le pyruvate produit au niveau astrocytaire peut également être transformé en lactate. Celui-ci peut alors être relargué dans la matrice extra-cellulaire par l'intermédiaire du transporteur MCT1 (*monocarboxylate transporter 1*), puis pénétrer dans les neurones grâce au transporteur MCT2. Là, la lactate déshydrogénase 1 reconvertit le lactate en pyruvate, qui peut alors alimenter le cycle de krebs et l'activité mitochondriale neuronale.

Les neurones produisent également en grande quantité un métabolite spécifique du système nerveux, le N-acétylaspartate (NAA), à partir d'aspartate et d'acétyl-CoA. Le NAA produit par les neurones est transmis aux oligodendrocytes au niveau des zones de contact entre l'axone et la myéline (Baslow, 2000, Baslow et Guilfoyle, 2006). Les oligodendrocytes peuvent par la suite

dégrader le NAA en aspartate et en acétate, qui après sa re-transformation en acétyl-CoA va permettre la biosynthèse de lipides nécessaires à la formation de la myéline, comme montré chez la souris adulte (Ledeen *et al.*, 2006). Ainsi l'activité mitochondriale des neurones permet de soutenir la production des intermédiaires de la formation du NAA (transformation de l'oxaloacétate en aspartate) comme de celle du glutamate (transformation de l' α -cétoglutarate en glutamate), confirmant son importance non-seulement pour la physiologie neuronale, mais également indirectement pour le bon fonctionnement des oligodendrocytes.

Comme nous l'avons vu, les oligodendrocytes utilisent également du lactate pour produire les lipides de la gaine de myéline, par l'intermédiaire de la formation de pyruvate et d'acétyl-CoA (Rinholm *et al.*, 2011). Le lactate peut être produit par la cellule elle-même, mais peut aussi être transféré depuis les astrocytes via des transporteurs de type MCT (MCT4 et MCT1) (Fünfschilling *et al.*, 2012, Rinholm *et al.*, 2011). Les astrocytes peuvent utiliser le lactate circulant ou le produire à partir du glucose ou du glycogène. Des souris chez qui une protéine du complexe IV de la chaîne respiratoire est invalidée spécifiquement dans les oligodendrocytes, ne pouvant donc pas réaliser la phosphorylation oxydative, présentent malgré tout une myéline normale (Fünfschilling *et al.*, 2012). En parallèle, la concentration cérébrale en lactate se trouve augmentée chez ces mutantes, confirmant la capacité des oligodendrocytes à utiliser le lactate pour la formation de la myéline, grâce à des transferts astrocytaires ou à la glycolyse (Fünfschilling *et al.*, 2012). Les oligodendrocytes peuvent de plus transférer du lactate aux axones via la gaine de myéline, jouant un rôle important dans le maintien de l'intégrité axonale (Lee *et al.*, 2012c, Fünfschilling *et al.*, 2012, Bélanger *et al.*, 2011). Le lactate transféré au niveau des axones est en effet retransformé en pyruvate, alimentant ainsi le cycle de Krebs dans les mitochondries des prolongements neuronaux et permettant la production locale d'ATP.

III.5.6. Implications du métabolisme mitochondrial dans les maladies neurodéveloppementales et neurodégénératives

III.5.6.1. Maladies neurodéveloppementales

La perturbation des dynamiques et de l'activité mitochondriales est une caractéristique de nombreuses maladies neurodéveloppementales. Ainsi, l'**atrophie optique de type 1**, où l'acuité visuelle et la vision des couleurs sont progressivement réduites à partir de l'enfance, est une maladie génétique causée par la mutation du gène *Opal* dans le nerf optique (Alexander *et al.*, 2000, Delettre *et al.*, 2000). Un modèle murin de la maladie a permis d'observer que la mutation d'*Opal*

entraîne une accumulation progressive de dysfonctionnements mitochondriaux et en conséquence une mauvaise respiration cellulaire (Kushnareva *et al.*, 2016, Williams *et al.*, 2011). Une expression réduite d'OPA1 est par ailleurs observée dans le cortex préfrontal des patients atteints de **schizophrénie** (Rosenfeld *et al.*, 2011), maladie également caractérisée par des dynamiques mitochondriales anormales (Flippo et Strack, 2017, Rajasekaran *et al.*, 2015).

Une mutation de DRP1 peut également causer de profondes altérations du développement cérébral. Chez l'homme a en particulier été décrit un cas de nouveau-né atteint de **microcéphalie** et d'**atrophie optique** dus à la présence d'un allèle dominant négatif de *DRP1* (Waterham *et al.*, 2007). Des cas d'**encéphalopathies** et d'**épilepsie** ont également été décrits (Fahrner *et al.*, 2016, Nasca *et al.*, 2016). Des études chez la souris n'exprimant pas DRP1 ont montré des défauts similaires de développement cérébral associés à un nombre réduit de neurites et à des synapses défectueuses (Ishihara *et al.*, 2009, Wakabayashi *et al.*, 2009). Les mutations de DRP1 entraînent une augmentation du nombre de mitochondries allongées, empêchant une distribution optimale des mitochondries dans les prolongements cellulaires (Chang *et al.*, 2010).

III.5.6.2. Maladies neurodégénératives

De nombreuses maladies neurodégénératives liées à l'âge sont caractérisées par un mauvais fonctionnement du métabolisme mitochondrial, accompagné de perturbations des dynamiques mitochondriales. Parmi celles-ci, la **maladie d'Alzheimer** se caractérise par une perte progressive des neurones du SNC chez le sujet atteint, l'hippocampe étant une des premières régions touchées. Wang *et al.* ont observé une réduction significative de l'expression de DRP1, OPA1, MFN1 et MFN2 et une augmentation de FIS1 dans l'hippocampe de patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Wang *et al.*, 2009). Les auteurs ont alors étudié les effets de la sur-expression et de la perte de fonction de ces cinq protéines dans des cultures de cellules neurales humaines (cellules M17). À l'inverse des cellules du groupe contrôle présentant une distribution mitochondriale dans l'ensemble du cytoplasme, les cellules ayant une expression réduite de DRP1 ont présenté une agglomération de mitochondries en périphérie du noyau, et une présence quasi-nulle de mitochondries dans les zones du cytoplasme plus éloignées (Wang *et al.*, 2009). Bien que leur morphologie mitochondriale soit différente, une large majorité des cellules sous-exprimant OPA1, MFN1 ou MFN2, ou de celles sur-exprimant FIS1, présentaient également une distribution mitochondriale périnucléaire, similaire aux cellules sous-exprimant DRP1 (Wang *et al.*, 2009). Ce résultat confirme la complémentarité des processus de fusion et de fission dans la distribution cytoplasmique des mitochondries. Ces perturbations des dynamiques mitochondriales, possiblement

provoquées par l'accumulation de peptides β -amyloïde (Wang *et al.*, 2008), typique de la maladie d'Alzheimer, empêchent de plus la formation d'un nombre normal d'épines dendritiques et de synapses (Wang *et al.*, 2009). Calkins *et al.* ont, eux, montré une augmentation de la fission et une diminution de la fusion mitochondriales dans des cultures primaires de neurones d'un modèle murin de la maladie d'Alzheimer (Calkins *et al.*, 2011). Les mitochondries des cellules concernées apparaissent alors plus petites et plus nombreuses, et présentent une réduction de l'activité de la chaîne respiratoire (Calkins *et al.*, 2011). La biogenèse mitochondriale médiée par PGC1 α est également réduite dans les cellules neuronales des patients atteints de cette maladie, et une surexpression de PGC1 α permet d'améliorer le phénotype cellulaire *in vitro* (Sheng *et al.*, 2012, Qin *et al.*, 2009).

La **maladie de Parkinson**, notamment caractérisée par une perte de neurones dopaminergiques (sécréteurs du neurotransmetteur dopamine), est elle aussi associée à d'importants dysfonctionnements mitochondriaux. Ainsi, une analyse à large échelle a permis d'observer une expression réduite de nombreux gènes cibles de PGC1 α dans les neurones de patients atteints de cette maladie, ces gènes étant tout particulièrement associés à la chaîne respiratoire et au métabolisme du glucose (Zheng *et al.*, 2010). La surexpression de PGC1 α *in vitro* permet de plus de protéger les neurones issus de souris modèles pour la maladie de Parkinson (Zheng *et al.*, 2010, Wareski *et al.*, 2009). L'ubiquitine ligase Parkin, fréquemment mutée chez les patients, joue un rôle important dans l'expression de PGC1 α . Dans des conditions physiologiques, Parkin permet en effet de maintenir un équilibre entre la destruction de mitochondries endommagées et la mitogenèse. Mais plusieurs mutations associées à la maladie de Parkinson entraînent une perte de fonction de Parkin, provoquant une diminution de la mitophagie et une accumulation de mitochondries endommagées (Castillo-Quan, 2011, Shin *et al.*, 2011). Des mutations de la protéine LRRK2 (leucine-rich repeat kinase 2) sont également associées à la maladie de Parkinson (Zimprich *et al.*, 2004, Paisán-Ruiz *et al.*, 2004). L'expression de LRRK2 provoque une augmentation de la fission mitochondriale via une interaction directe avec DRP1 (Wang *et al.*, 2012). Or, les formes mutées de LRRK2 associées à la maladie exacerbent cette interaction, entraînant une augmentation de la fission mitochondriale, et participant ainsi aux dysfonctionnements mitochondriaux des cellules malades (Wang *et al.*, 2012).

La **maladie de Huntington** est une maladie génétique qui se caractérise par la mutation de la protéine huntingtine (HTT), provoquant le développement progressif de troubles moteurs, cognitifs et psychiatriques. La HTT est impliquée dans l'expression et le transport du facteur BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*), important pour la survie, la croissance et la différenciation neuronale, et le développement des synapses (Acheson *et al.*, 1995, Huang et Reichardt, 2001). La HTT

interagit également avec la dynéine, et permet d'accélérer le transport des vésicules le long des microtubules (Caviston *et al.*, 2007). Song *et al.* ont montré dans les neurones d'un modèle murin de la maladie de Huntington et dans des fibroblastes *in vitro* que la HTT mutante (HTTm) provoque une augmentation de la fragmentation mitochondriale en interagissant avec DRP1 (Song *et al.*, 2011). L'interaction avec la HTTm stimule en effet l'activité de DRP1, augmentant la fission, tandis que le transport des mitochondries est réprimé (Song *et al.*, 2011). Les neurones des individus atteints présentent ainsi des mitochondries plus fragmentées, mais moins disséminées dans les prolongements cellulaires (Song *et al.*, 2011, Shirendeb *et al.*, 2012, Johri *et al.*, 2011). Il a par ailleurs été montré une réduction de l'expression de PGC1 α dans les cellules de patients et de souris atteints de la maladie de Huntington (Chaturvedi *et al.*, 2010, Cui *et al.*, 2006, Weydt *et al.*, 2006). La HTTm limite en effet l'expression de PGC1 α en interférant directement avec la fixation du complexe activateur de la transcription sur le promoteur du gène *Pgc1 α* (Cui *et al.*, 2006, McGill et Beal, 2006). Enfin, la HTTm interagit également directement avec PGC1 α , l'empêchant d'agir en tant que coactivateur de la transcription de ses gènes cibles (Weydt *et al.*, 2006, McGill et Beal, 2006).

La maladie héréditaire de **Charcot-Marie-Tooth** (CMT) peut être causée par une mutation du gène codant MFN2 (Züchner *et al.*, 2004). La CMT existe sous plusieurs formes, entraînant toutes une perturbation des messages nerveux périphériques, et pouvant mener à une atrophie musculaire progressive des extrémités. Les mutations de *Mfn2* semblent principalement impliquées dans la CMT de type 2 (CMT2), caractérisée par une vitesse de conduction nerveuse réduite non liée à un quelconque défaut de la myéline (contrairement à la CMT de type 1) (Züchner *et al.*, 2004, Xie *et al.*, 2016, Rossor *et al.*, 2013). Si les souris déficientes pour *Mfn2* ne sont pas viables (Chen *et al.*, 2003), les poisson-zèbres survivent à la mutation de *mfn2* et présentent des dysfonctionnements moteurs progressifs similaires à ceux observés chez les patients atteints de CMT2 (Chapman *et al.*, 2013). Ce phénotype s'accompagne au niveau neuronal d'une diminution du transport rétrograde des mitochondries (Chapman *et al.*, 2013), semblant indiquer un impact de la mutation de *mfn2* sur l'ensemble des dynamiques mitochondriales dans les axones du système nerveux périphérique. Une invalidation de *Mfn2* dans le cervelet murin empêche par ailleurs un développement normal des dendrites et impacte la survie des neurones du cervelet durant le développement et à l'âge adulte, confirmant la nécessité de la fission mitochondriale pour le développement et la fonction neuronales (Chen *et al.*, 2007).

Les dysfonctionnements mitochondriaux font également partie des caractéristiques des maladies démyélinisantes. La plus fréquente est la **sclérose en plaques** (SEP, ou sclérose multiple), qui se caractérise par des réactions d'inflammation auto-immunes entraînant la destruction de la myéline

dans le SNC. La SEP n'est pas une maladie liée au vieillissement, puisqu'elle se déclare le plus souvent entre l'âge de 20 et de 40 ans. L'inflammation à l'origine de la maladie se manifeste par l'activation des microglies (les macrophages du SNC) au niveau local, qui modifient alors la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, permettant l'entrée de macrophages circulants et de lymphocytes T dans le SNC (da Fonseca *et al.*, 2014). Les cellules immunitaires attaquent alors la myéline, entraînant une altération des influx nerveux, et provoquent des dommages aux axones pouvant aller jusqu'à la dégénérescence. La démyélinisation a généralement lieu par poussées, entre lesquelles la myéline peut se reformer en partie. La perte de la gaine de myéline empêche le maintien des échanges de métabolites entre les oligodendrocytes et les axones, et provoque alors une hausse de la demande d'énergie dans les axones. En effet, la perturbation des canaux à sodium axonaux résultant de la démyélinisation entraîne une augmentation de l'entrée de sodium, qui doit être pris en charge par les Na^+/K^+ ATPases, demandeuses d'énergie (Waxman, 2006, Smith, 2007). La production locale d'ATP dont est dépendant ce processus est alors assurée par une accumulation de mitochondries neuronales sur les sites démyélinisés. Des techniques d'imagerie en temps réel sur des cultures de cellules de rat ont ainsi permis de visualiser une vitesse de migration plus importante des mitochondries le long des axones démyélinisés en comparaison d'axones sains (Kiryu-Seo *et al.*, 2010). Le regroupement de mitochondries permet alors non seulement de fournir l'énergie nécessaire au relargage du Na^+ , mais également d'avoir un effet compensatoire au manque de métabolites habituellement fournis via la myéline (Kiryu-Seo *et al.*, 2010, Mahad *et al.*, 2009). Les cellules immunitaires attaquent également les mitochondries axonales au niveau des zones démyélinisées, endommageant notamment l'ADN mitochondrial et les complexes I, III et IV de la chaîne respiratoire, comme montré post-mortem chez des sujet atteints de SEP (Broadwater *et al.*, 2011, Dutta *et al.*, 2006, Campbell *et al.*, 2011). Petit à petit les mitochondries défectueuses s'accumulent alors dans l'axone et le corps cellulaire des neurones, les empêchant de faire face à la demande d'énergie et accélérant la dégénérescence axonale.

III.6. Rôles de la signalisation thyroïdienne

Les HTs sont reconnues depuis longtemps comme des modulateurs majeurs du métabolisme. Il a en effet été observé dès 1895 que les patients hyperthyroïdiens consommaient une quantité anormalement élevée d'oxygène, tandis que les patients hypothyroïdiens en consommaient particulièrement peu (Magnus-Levy, 1895). De nombreuses autres observations ont par la suite été faites de l'impact des HTs sur l'activation du métabolisme basal. Il a ainsi été observé que l'action

des HTs entraîne une augmentation de la production de chaleur corporelle (thermogenèse) (Bianco et Silva, 1987), du métabolisme des lipides (Müller *et al.*, 1990), de l'utilisation d'ATP (Davis *et al.*, 1983), et de la consommation d'oxygène (Tomasi, 1991). Les variations de sécrétion d'HTs contrôlées par l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien et la modulation fine de leur disponibilité locale permettent ainsi un maintien global de l'homéostasie énergétique aux niveaux tissulaire et cellulaire, et ce même en cas de changement du contexte physiologique, comme par exemple lors d'une restriction calorique (Vella *et al.*, 2011). On sait aujourd'hui qu'une grande partie de l'impact métabolique des HTs est dû à leur capacité d'activation des mitochondries (Yehuda-Shnaidman *et al.*, 2014, Lanni *et al.*, 2016).

Comme vu précédemment, les HTs peuvent exercer leurs actions directement en agissant sur l'expression de différents gènes, mais également de façon non-génomique (voir [partie II](#)). L'activation ou l'inhibition de gènes par les HTs peut mettre plusieurs jours à avoir un impact au niveau du métabolisme. Les actions non-génomiques des HTs peuvent au contraire avoir des effets plus précoces. Ces effets précoces et tardifs des HTs sont complémentaires et tous deux importants pour le métabolisme mitochondrial.

III.6.1. Effets précoces

Sterling *et al.* ont émis dès la fin des années 1970 l'hypothèse selon laquelle les HTs peuvent avoir un impact direct sur l'activité mitochondriale, sans induction génique au niveau nucléaire (Sterling *et al.*, 1977, Sterling *et al.*, 1980). L'exposition d'hépatocytes à de la T₃ marquée a permis d'observer que les mitochondries sont le compartiment cellulaire concentrant la plus grande partie de la T₃, devant le noyau, après seulement 30 minutes d'exposition (Sterling *et al.*, 1984) : les mitochondries ont une forte capacité à lier et à internaliser rapidement de grandes quantités de T₃ (Goglia *et al.*, 1981, Hashizume et Ichikawa, 1982). Trente minutes d'exposition suffisent également à induire une augmentation de la consommation d'oxygène et de la phosphorylation oxydative, et ce même lorsque la synthèse de protéines nucléaires est inhibée, confirmant une activation par les HTs indépendante de leur activité nucléaire (Sterling *et al.*, 1980, Palacios-Romero et Mowbray, 1979). Lorsque des mitochondries provenant de cellules d'animaux hypothyroïdiens sont isolées et exposées aux HTs, seules deux minutes sont suffisantes pour induire des effets similaires (Sterling *et al.*, 1977, Thomas et Mowbray, 1987). Les HTs induisent également une augmentation cytoplasmique et une diminution mitochondriale du ratio ATP/ADP dans les cellules hépatiques, dès 2 heures d'exposition à la T₃ (Seitz *et al.*, 1985). Ce phénomène peut être interprété comme étant dû à une activation rapide des transporteurs membranaires d'ATP et d'ADP, les ANTs, de façon

concomitante à l'augmentation de la respiration induite par la T_3 . L'augmentation de l'ADP mitochondrial permet ainsi de favoriser l'activité de l'ATP-synthase et donc celle de l'ensemble du métabolisme mitochondrial.

Comme vu précédemment, la T_3 peut interagir avec deux isoformes tronqués de TR α présents spécifiquement dans les mitochondries, p43 et p28, exprimés respectivement dans la matrice et au niveau de la membrane mitochondriale interne (Wrutniak-Cabello *et al.*, 2008). Si l'on sait que p28 présente une plus grande affinité pour la T_3 que p43 (Pessemesse *et al.*, 2014), sa fonction reste pour l'heure mal caractérisée. Il a cependant été observé que p28 est importée au niveau mitochondrial de façon dépendante de la T_3 , et qu'une surexpression dans des fibroblastes en culture induit une forte diminution de l'activité du complexe IV de la chaîne respiratoire, et plus généralement une altération des dynamiques mitochondriales (Pessemesse *et al.*, 2014). À l'inverse, il a été montré dans plusieurs lignées cellulaires que p43 stimule fortement l'activité et la biogenèse mitochondriales en présence de T_3 (Wrutniak *et al.*, 1995, Casas *et al.*, 1999, Rochard *et al.*, 2000, Grandemange *et al.*, 2005, Seyer *et al.*, 2011). L'augmentation de la transcription du génome mitochondrial via p43 est en effet détectable dès 5 minutes d'exposition à la T_3 de mitochondries isolées à partir de cellules de foie de rat (Casas *et al.*, 1999). La suppression du domaine de liaison à l'ADN de p43 empêche cette induction, confirmant la nécessité de la liaison T_3 /p43 pour cette stimulation précoce de l'activité mitochondriale (Casas *et al.*, 1999). Il est intéressant de noter que l'induction de l'activité mitochondriale par p43 stimule la différenciation de myoblastes en culture (Seyer *et al.*, 2011), rappelant l'importance de ces processus dans la différenciation cellulaire.

Plusieurs études ont par ailleurs montré que la 3,5- T_2 peut, elle aussi, induire la respiration mitochondriale de façon précoce (Arnold *et al.*, 1998, Lombardi *et al.*, 1998, O'Reilly et Murphy, 1992). La 3,5- T_2 , et dans une moindre mesure la T_3 , ont en effet la capacité de se lier à une sous-unité du complexe IV de la chaîne respiratoire (la cytochrome-c oxydase), et ce faisant d'empêcher l'inhibition qu'exerce habituellement l'ATP matriciel sur son activité (Goglia *et al.*, 1994, Lanni *et al.*, 1994, Arnold *et al.*, 1998). La boucle de rétrocontrôle de l'ATP sur l'activité du complexe IV n'a alors plus lieu et la chaîne respiratoire n'est plus freinée par une activité importante de l'ATP synthase. Plus récemment, de Lange *et al.* ont montré que la 3,5- T_2 active également SIRT1 dans des cellules hépatiques de rat *in vivo* et *in vitro*, dès 6 heures d'exposition (de Lange *et al.*, 2011). Les auteurs montrent que cette induction de SIRT1 n'est pas dépendante de la présence du récepteur TR β , et ne passe pas par une augmentation de la quantité d'ARNm de SIRT1 : elle a donc lieu de façon non-génomique. SIRT1 est en effet présent de façon plus importante au niveau nucléaire en présence de 3,5- T_2 , où il peut avoir son action de déacétylase et activer en particulier PGC1 α (de Lange *et al.*, 2011). Au contraire des effets génomiques, les effets précoces non-génomiques

peuvent ainsi être induits par d'autres formes d'HTs que la T₃, en particulier la 3,5-T₂, au niveau mitochondrial.

L'induction précoce de l'activité mitochondriale par les HTs peut également se faire de façon indirecte. L'action non-génomique des HTs entraîne en particulier une redistribution cellulaire du calcium, grâce à leur action au niveau des transporteurs des membranes plasmique et mitochondriale (Mylotte *et al.*, 1985, Davis *et al.*, 1989, Hummerich et Soboll, 1989, Del Viscovo *et al.*, 2012). Les HTs activent les pompes à calcium (Ca²⁺-ATPases) membranaires (Mylotte *et al.*, 1985, Davis *et al.*, 1989), permettant une augmentation de l'entrée de calcium dans la cellule. On peut ainsi supposer que l'augmentation du calcium intracellulaire provoquée par les HTs favorise l'activation rapide de la phosphorylation oxydative, mais aussi la fission mitochondriale et la concentration de mitochondries dans les zones riches en Ca²⁺ comme nous l'avons vu dans la **partie III.2.6**. Del Viscovo *et al.* ont montré que la T₃ et la 3,5-T₂ pouvaient induire une augmentation de la concentration en Ca²⁺ intracytoplasmique ([Ca²⁺]_c) non seulement grâce à l'activation de transporteurs membranaires, mais également grâce à une sortie de Ca²⁺ des mitochondries par l'activation de pompes Na⁺/Ca²⁺ mitochondriales (Del Viscovo *et al.*, 2012). Dans ce contexte, on peut interpréter ce phénomène d'induction de la sortie de calcium des mitochondries comme un moyen de diminuer les effets délétères de la production accrue de ROS lors d'une surcharge mitochondriale en calcium.

III.6.2. Effets tardifs

Comme vu précédemment, les HTs activent la biogenèse mitochondriale via l'activation de gènes nucléaires. La T₃ peut en particulier activer l'expression du gène *Pgc1α* via un TRE présent dans sa région promotrice, et ce dès 4 à 6 heures d'exposition comme montré dans les cellules du foie, permettant par la suite une augmentation de l'expression de la protéine (Wulf *et al.*, 2008). Il a également été montré chez le rat que la T₃ induit la transcription de TFAM dans le foie après 24 heures de traitement (Garstka *et al.*, 1994). Cependant aucun TRE permettant une activation directe de TFAM n'a été décrit : cette activation a donc probablement lieu via PGC1α (voir **partie III.4.1.1.**). Sinha *et al.* ont observé ce double effet sur PGC1α et TFAM au niveau cérébral chez des rats (P8) : les petits dont les mères ont subi un hypothyroïdisme gestationnel présentent en effet une baisse drastique de l'expression des deux protéines dans le cervelet, ainsi qu'une très forte diminution de l'expression des protéines mitochondriales (Sinha *et al.*, 2010). Une phosphorylation activatrice précoce de différentes kinases par la T₃ peut également entrer en jeu dans l'induction de PGC1α. Les kinases AMPK et p38, connues comme étant activatrices de l'expression de PGC1α

(Akimoto *et al.*, 2005, Irrcher *et al.*, 2003), peuvent ainsi être phosphorylées grâce à l'action non-génomique de la T₃, dès deux heures d'exposition, comme cela a été montré dans le muscle chez le rat (Irrcher *et al.*, 2008). Cette activation précoce de p38 et AMPK entraîne alors une transcription accrue de *Pgc1α*, visible 12 heures après injection intrapéritonéale de l'hormone (Irrcher *et al.*, 2008).

En plus de la biogenèse, les HTs peuvent promouvoir une augmentation de la localisation de DRP1 au niveau mitochondrial, où ce dernier peut induire la fission, comme observé dans des cultures d'hépatocytes humains après 48 heures de traitement à la T₃ (100nM) (Sinha *et al.*, 2015). Les auteurs de cette étude n'ont cependant pas analysé un éventuel changement de l'expression de la protéine DRP1, et le mécanisme par lequel la T₃ promeut la présence de DRP1 au niveau mitochondrial n'a pas été déterminé à ce jour. Plusieurs hypothèses pourraient toutefois être avancées : l'activation de DRP1 par la T₃ pourrait avoir lieu via l'activation de PGC1α, qui peut moduler son expression (Dabrowska *et al.*, 2015) ; elle pourrait également avoir lieu via la promotion de l'entrée de calcium dans la cellule, favorisant l'activation de la calcineurine, elle-même activatrice de DRP1 (Cereghetti *et al.*, 2008).

Les HTs semblent également impliquées dans le découplage mitochondrial, c'est à dire la baisse du ΔΨ de façon indépendante de l'activité de l'ATP-synthase. Les UCPs, qui peuvent être présentes au niveau de la membrane mitochondriale interne, permettent le passage de protons de l'espace intermembranaire vers la matrice et peuvent ainsi être responsables de ce découplage. Or il a été montré que la T₃ stimule UCP1 de façon dose-dépendante dans le tissu adipeux brun de rat et les adipocytes humains (Fliers et Boelen, 2010, Ribeiro *et al.*, 2010, Lee *et al.*, 2012b), ainsi que UCP3 dans le muscle squelettique et le cœur de rat (de Lange *et al.*, 2001). On sait également que l'hypothyroïdisme est associé à une diminution de l'expression d'UCP2 dans le tissu adipeux humain (Gjedde *et al.*, 2010), tandis qu'une injection sous-cutanée de T₄ entraîne une augmentation de la transcription de *Ucp2* dans le muscle chez le rat (Vazquez-Anaya *et al.*, 2017).

Les HTs peuvent également induire l'expression de l'ANT2, qui, tout comme l'ANT1 et l'ANT3, pourrait également participer au découplage mitochondrial (Brand *et al.*, 2005). La quantité d'ARNm codant pour ANT2 est en effet multipliée par 7 à 9 dans le foie et le cœur chez le rat dans les 12 à 48 heures après injection intrapéritonéale de T₃ (Dümmmler *et al.*, 1996). Aucun changement significatif dans l'expression d'*Ant2* n'a en revanche été observé en analysant le cerveau des rats hypothyroïdiens dans leur totalité (Dümmmler *et al.*, 1996). Schönfeld *et al.* ont par ailleurs mesuré une multiplication par deux de l'activité des ANTs dans les mitochondries du foie chez des rats hypothyroïdiens après injection de T₃, associée à une augmentation de la respiration et du découplage mitochondriaux (Schönfeld *et al.*, 1997). Ces aspects viennent compléter ce que l'on sait

de l'influence précoce des HTs sur les transferts d'ATP et d'ADP, qui ont également lieu via les ANTs (Seitz *et al.*, 1985) : en activant les ANTs, les HTs favorisent à la fois la sortie d'ATP dans le cytoplasme et l'entrée d'ADP dans les mitochondries, et le transfert de protons depuis l'espace intermembranaire vers la matrice.

Les échanges ATP/ADP entre mitochondries et cytoplasme nécessitent également l'activation du transporteur VDAC (*voltage-dependent anion channel*), qui permet le passage des deux molécules entre l'espace intermembranaire et le cytoplasme. Or on sait que, dans le contexte de l'ouverture de pores de transition de perméabilité, plusieurs protéines des membranes mitochondriales, parmi lesquelles VDAC et les ANTs, permettent la sortie de Ca^{2+} de la matrice vers le cytoplasme (Hüser et Blatter, 1999, Gincel *et al.*, 2001, Brookes *et al.*, 2004). On peut ainsi penser que l'augmentation de la sortie d'ATP des mitochondries vers le cytoplasme provoquée par les HTs via les ANTs et VDAC pourrait également favoriser les échanges de Ca^{2+} . Cela pourrait expliquer l'augmentation de la sortie de Ca^{2+} des mitochondries en présence d'HTs décrite par Del Viscovo *et al.* (augmentation de $[\text{Ca}^{2+}]_c$ et diminution de $[\text{Ca}^{2+}]_m$) (Del Viscovo *et al.*, 2012).

La mGPDH, impliquée dans les transferts d'électrons de la chaîne respiratoire (voir [partie III.2.3.](#) et [Figure 24](#)), est elle aussi directement activée par les HTs. Le gène *Gpd2* codant pour la mGPDH possède en effet un TRE dans sa région promotrice, permettant l'activation de sa transcription grâce à un dimère TR/RXR (Dümmler *et al.*, 1996, Weitzel *et al.*, 2001). L'expression de la mGPDH est très variable selon les tissus et le contexte physiologique. Elle est entre autres particulièrement exprimée au niveau du cerveau comme cela a été montré chez la souris (Koza *et al.*, 1996), et une expression diminuée pourrait être associée à un retard mental chez l'homme (Daoud *et al.*, 2009). Dümmler *et al.* ont observé une forte induction de l'ARNm de la mGPDH chez des rats hyperthyroïdiens dans le cœur et le foie, et une diminution chez les hypothyroïdiens (Dümmler *et al.*, 1996). En revanche, aucune différence significative n'a été mesurée au niveau du cerveau analysé dans sa totalité (Dümmler *et al.*, 1996). Ce résultat n'exclut cependant pas une régulation fine de mGPDH à un niveau plus local : on peut par exemple penser que ce processus pourrait aussi entrer en jeu dans la régulation par les HTs du métabolisme mitochondrial des cellules de la SVZ. Enfin, une forte $[\text{Ca}^{2+}]_c$ pourrait également favoriser l'activité de la mGPDH (MacDonald et Brown, 1996), laissant imaginer une activation précoce possible de la mGPDH par les HTs via l'entrée de calcium dans la cellule.

Enfin, plusieurs études ont démontré un impact des HTs sur la production de ROS (Villanueva *et al.*, 2013, Videla *et al.*, 2015, Grant, 2007, Sinha *et al.*, 2015). Sinha *et al.* ont montré que l'action des HTs favorisait de façon concomitante une augmentation de l'activité mitochondriale et de la production de ROS, mais également une augmentation de la mitophagie, que cela soit dans des

cellules hépatiques en culture après 48 heures d'exposition à la T₃, ou *in vivo* dans le foie de souris hyperthyroïdiennes dès 24 heures de traitement (Sinha *et al.*, 2015). Une inhibition de la mitophagie induite par la T₃ empêche l'augmentation de la respiration mitochondriale et favorise le stress oxydatif. L'activation du processus de mitophagie apparaît ainsi particulièrement important dans l'activation des mitochondries et dans la protection contre la production de ROS (Sinha *et al.*, 2015). Différentes expériences de western-blot ont permis d'établir que l'augmentation de la production de ROS induite par l'activité de la T₃ permettait l'activation de la sous-unité PRKAA1 de l'AMPK, importante pour l'induction de la mitogenèse, mais également une augmentation de DRP1, médiateur de la fission (Sinha *et al.*, 2015).

Ainsi, les nombreuses actions des HTs au niveau mitochondrial semblent permettre l'enclenchement d'une réaction en chaîne d'activation de la respiration mitochondriale, de la mitogenèse, de la fission et de la mitophagie, permettant à la fois de soutenir l'augmentation de la phosphorylation oxydative et de lutter contre la production de ROS provenant de mitochondries endommagées. Au vu de l'importance de la signalisation thyroïdienne dans la régulation de la neurogenèse adulte, et compte tenu de l'importance des changements mitochondriaux au cours de la différenciation des CSNs, on peut donc émettre l'hypothèse que l'influence des HTs sur les mitochondries joue un rôle important dans la détermination et la différenciation des CSNs adultes. Les différences de métabolisme entre les lignages cellulaires et entre les types de cellules matures qui en sont issues (neurones et glies) laissent supposer que l'impact des HTs pourrait être déterminant sur le choix de destin des CSNs adultes.



IV. Problématique de recherche

IV.1. Influence croisée de l'activité mitochondriale et des HTs sur le choix de destin des CSNs au sein de la SVZ adulte

Une meilleure compréhension des mécanismes régulant la neurogenèse adulte est nécessaire à une meilleure conceptualisation des mécanismes qui contrôlent la prolifération et la détermination des CSNs adultes, et à terme au développement de nouveaux traitements pour les maladies neurodégénératives. De nombreux signaux extrinsèques et intrinsèques régulent la neurogenèse adulte. Parmi ces signaux, les hormones thyroïdiennes sont connues pour être impliquées dans la prolifération des CSNs localisées au sein de la SVZ, ainsi que dans la différenciation et la maturation des neurones et des oligodendrocytes (Lemkine *et al.*, 2005 ; Lopez-Juarez *et al.*, 2012 ; Kapoor *et al.*, 2012 ; Barres *et al.*, 1994 ; Calza *et al.*, 2015 ; Farsetti *et al.*, 1991). Notre équipe a montré que la signalisation thyroïdienne est tout particulièrement impliquée dans la détermination des progéniteurs de la SVZ en neuroblastes (Lopez-Juarez *et al.*, 2012). On sait par ailleurs que l'engagement des CSNs nécessite d'importants changements métaboliques, celles-ci évoluant d'un fonctionnement essentiellement basé sur une forte glycolyse et une faible activité mitochondriale à un métabolisme principalement basé sur la phosphorylation oxydative (Zheng *et al.*, 2016 ; Ito et Suda, 2014). La transformation du métabolisme cellulaire semble de plus avoir lieu à un rythme différent selon le destin cellulaire (Pistollato *et al.*, 2007 ; Xie *et al.*, 2014), en faisant un élément clé de la différenciation. Étant donnée l'implication des HTs dans la différenciation des CSNs et dans la régulation du métabolisme mitochondrial, j'ai testé l'hypothèse selon laquelle le choix du destin des CSNs de la SVZ adulte se ferait par le biais de l'influence de la signalisation thyroïdienne sur la transition métabolique (Figure 30).

J'ai ainsi étudié la détermination cellulaire des CSNs et leur activité mitochondriale *in vivo* et *in vitro*, dans différentes conditions de disponibilité en HTs. Pour cela, j'ai tout d'abord cherché à caractériser l'expression de DLX2 dans les cellules de la SVZ, afin de déterminer si cette protéine peut être utilisée comme un marqueur spécifique des précurseurs neuronaux (NPCs), comme suggéré par les travaux de Jones *et al.* (Jones *et al.*, 2016). J'ai ensuite étudié l'impact de la disponibilité en HTs sur le choix de destin des CSNs, en quantifiant le nombre de NPCs, de neuroblastes et d'OPCs, *in vivo* dans la SVZ après la modulation du statut thyroïdien de souris adultes, et *in vitro* dans des cellules issues de cultures primaires de CSNs de SVZ adulte. Puis j'ai cherché à évaluer l'importance du métabolisme mitochondrial des différents types de cellules de la

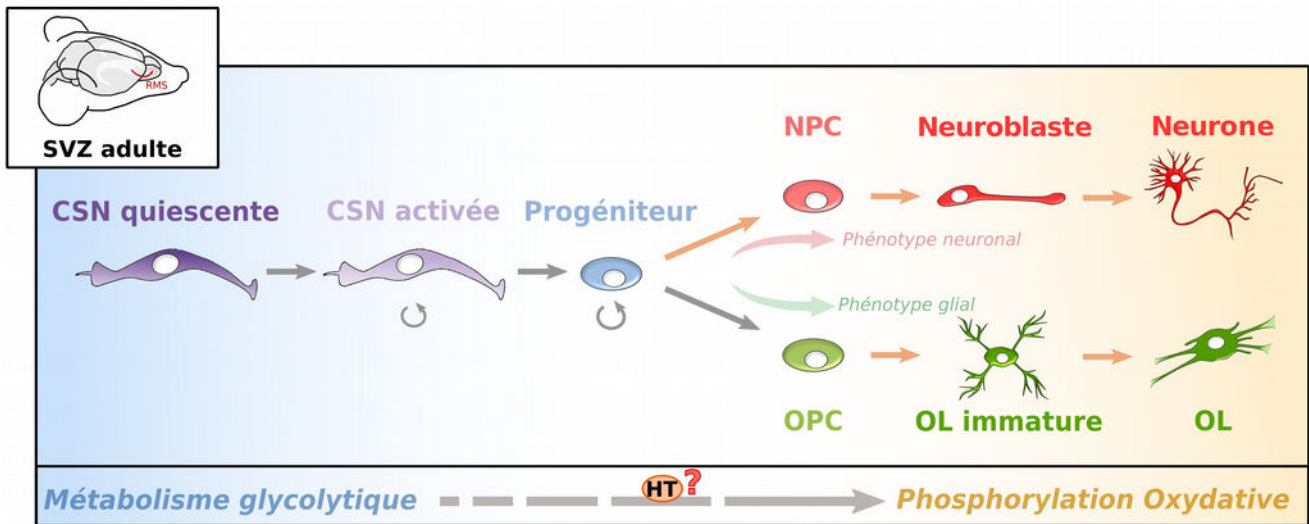


Figure 30: Problématique de recherche. Nous cherchons à savoir si les hormones thyroïdiennes (HTs) influencent le choix du destin des cellules souches neurales (CSN) de la SVZ adulte via leur action d'activation du métabolisme mitochondrial et de la phosphorylation oxydative. Les flèches oranges représentent les étapes de différenciation pour lesquelles les HTs sont connues pour être importantes. OPC : précurseur oligodendrocytaire ; NPC : précurseur neuronal ; OL : oligodendrocyte.

niche, *in vivo* grâce à l'utilisation d'un colorant cellulaire spécifique de l'activité mitochondriale, le JC-1, et *in vitro* par l'étude de la production de ROS. Étant donné que SIRT1, activateur de la mitogenèse, a été décrit comme étant un coactivateur des TRs (Suh *et al.*, 2013 ; Thakran *et al.*, 2013), j'ai également étudié le patron d'expression de SIRT1 *in vivo* et *in vitro* dans différentes conditions de disponibilité en HTs, afin de déterminer si le maintien de son expression après le stade progéniteur pourrait participer au changement métabolique. Par ailleurs, les HTs promouvant la localisation mitochondriale de DRP1 (Sinha *et al.*, 2015), j'ai analysé son expression et son activation dans les différents types cellulaires de la SVZ et dans différents contextes thyroïdiens pour évaluer l'implication de la fission mitochondriale dans la différenciation des CSNs.

En utilisant un anticorps anti-TOM20 pour visualiser les mitochondries, j'ai par ailleurs cherché à visualiser et à quantifier les mitochondries des cellules des deux lignages cultivées avec différentes concentrations en HTs. J'ai par ailleurs également mis au point un protocole de tri cellulaire (*fluorescence activated cell sorting*, FACS) pour séparer les cellules du lignage glial et du lignage neuronal, à partir de cultures *in vitro* réalisées dans différentes conditions de disponibilité en HTs et différents contextes métaboliques. Ces deux dernières techniques nous ont permis d'obtenir des résultats préliminaires qui demanderont plus d'investigation par la suite.

IV.2. Effets combinés de l'activité physique et de l'hypothyroïdisme sur l'activation des CSNs au sein de la SVZ adulte

Enfin, dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe du Pr. Y. Gotoh, avec qui j'ai travaillé environ 2 mois à l'Université de Tokyo (bourse JSPS), j'ai étudié l'implication des HTs dans l'activation des CSNs de la SVZ adulte, encore largement inconnue à ce jour. L'équipe du Pr. Gotoh a montré que p57 contrôle la quiescence et l'activation des CSNs (Furutachi *et al.*, 2013). D'autre part, des données de la littérature indiquent une capacité des HTs à inhiber p57 de façon transcriptionnelle (Wood *et al.*, 2002). L'étude d'autres types de cellules souches a par ailleurs montré que les HTs peuvent être impliquées dans le processus d'activation (Dentice *et al.*, 2014). L'ensemble de ces données laisse ainsi envisager un lien entre HTs et activation des CSNs. Pour étudier cette interaction, nous avons induit l'activation des CSNs de la SVZ de façon physiologique grâce à la technique de l'enrichissement de milieu, déjà connue comme permettant l'activation des CSNs de l'hippocampe (Furutachi *et al.*, 2013), chez des souris adultes euthyroïdiennes et hypothyroïdiennes. L'utilisation d'anticorps dirigés contre p57 (marqueur des CSNqs), PCNA (marqueur de prolifération) et DCX (marqueur des neuroblastes) nous a ainsi permis d'obtenir des résultats préliminaires concernant l'impact du statut thyroïdien sur l'activation des CSNs de la SVZ.

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

I. Études *in vivo*

I.1. Choix de destin des CNSs de la SVZ adulte

I.1.1. Étude de l'influence du statut thyroïdien sur le choix de destin des CSNs

Pour étudier l'influence du statut thyroïdien sur le destin des CSNs *in vivo*, des souris mâles C57BL/6 âgées de deux mois ont été nourries avec un régime hypothyroïdien ou hyperthyroïdien durant deux ou trois semaines avant perfusion au PFA et dissection des cerveaux. Pour induire l'hypothyroïdisme, les souris ont été nourries avec un régime PTU durant deux ou trois semaines avant sacrifice. Pour induire l'hyperthyroïdisme, de la T₄ a été ajoutée dans les biberons d'eau à une concentration finale de 12ng/μL pendant deux semaines (Figure 31).

Voir section « 2. Materials and methods », sous-section « 2.2.3. Immunohistochemistry (IHC) *in vivo* » de l'article « Adult neural stem cell fate is determined by thyroid hormone activation of mitochondrial metabolism » dans la partie Résultats I pour les détails de procédure de fixation, cryoprotection, coupes, immunohistochimies et imagerie.

La quantification des marqueurs cytoplasmiques (DCX, pDRP1^{S616}) a été faite par mesure de la densité intégrative, c'est-à-dire la somme des valeurs des pixels du signal de l'anticorps, dans la SVZ dorsale. Les marqueurs nucléaires ont permis un comptage direct du nombre de cellules positives, au niveau de la SVZ dorsale (DLX2, SIRT1) ou latérale (OLIG2). Les corrélations d'intensités de signaux nucléaires ont été mesurées grâce à des doubles (SIRT1/DLX2, SIRT1/SOX2, SIRT1/SOX10) ou des triples (SOX2/DLX2/OLIG2) colorations par

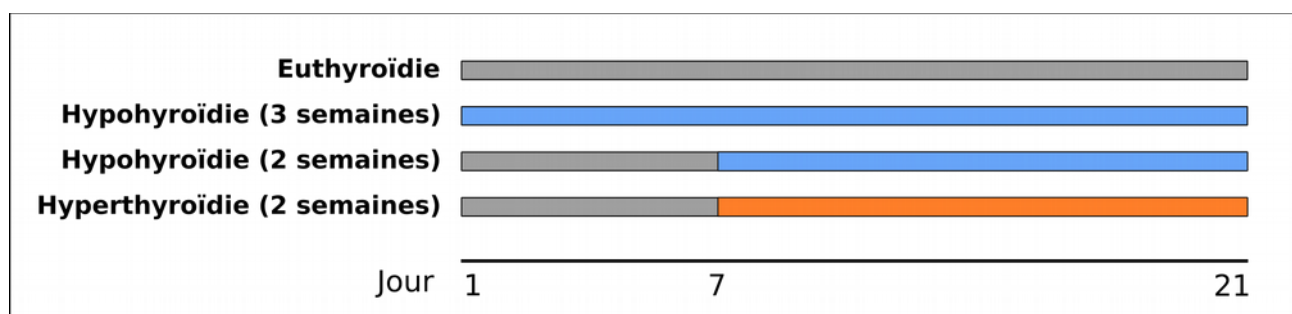


Figure 31: Protocole d'induction de l'hypothyroïdie ou de l'hyperthyroïdie chez la souris adulte. Les souris C57BL/6 mâles âgées de deux mois sont mises sous régime contrôle, sous régime hypothyroïdien pendant deux à trois semaines consécutives (nourriture PTU), ou sous régime hyperthyroïdien pendant deux semaines (eau de boisson supplémentée en T₄).

immunohistochimie. Des mesures de l'intensité moyenne du signal de chaque noyau ont été faites pour chaque marquage, dans la zone latéro-dorsale de la SVZ.

I.1.2. Étude du métabolisme mitochondrial dans les cellules de la SVZ

I.1.2.1. Utilisation du colorant JC-1 par stéréotaxie

Le colorant cellulaire JC-1, qui permet la distinction des cellules possédant une forte ou une faible activité mitochondriale, a été utilisé pour mesurer la respiration des cellules de la SVZ *in vivo*. 2 μ L de JC-1 dilué en DMSO à 1 μ g/ μ L ont été injectés dans un des deux ventricules latéraux (injection intra-cérébro ventriculaire, ICV) par stéréotaxie, chez des souris eu- et hypothyroïdiennes préalablement anesthésiées à l'isofluorane et maintenues sous anesthésie durant toute la procédure (Figure 32A). Les coordonnées de stéréotaxie, relativement à lambda, sont les suivantes : antérieur, 3.65mm ; latéral, 1mm ; profondeur, 2.1mm. L'expérience a été réalisée cinq fois, pour un total de 16 animaux euthyroïdiens, 14 animaux hypothyroïdiens (2 semaines) et 9 animaux hypothyroïdiens (3 semaines). Des contrôles ont été faits en réalisant une injection de DMSO pur par ICV. Quatre heures après injection, les cerveaux sont prélevés et fixés dans du PFA 4%, puis cryoprotégés et coupés comme de la même façon qu'en I.1.1.

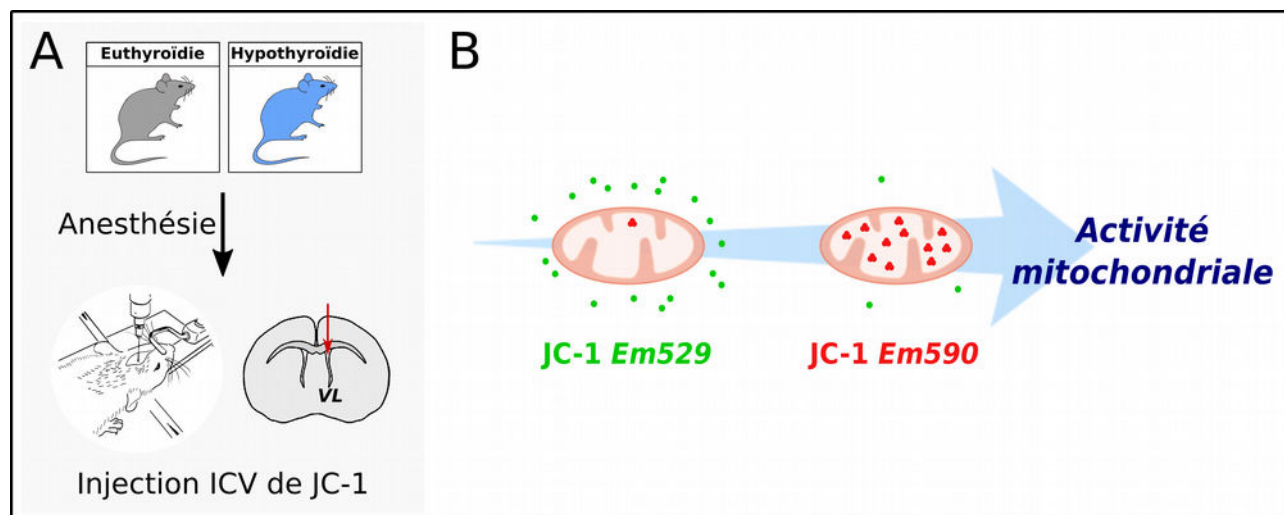


Figure 32: Injection de JC-1 et principe du colorant. (A) Protocole d'injection du JC-1. Les souris eu- et hypothyroïdiennes sont anesthésiées à l'isofluorane et le JC-1 (2 μ L, 1 μ g/ μ L) est injecté par stéréotaxie dans le ventricule latéral (VL). (B) Principe du colorant JC-1. Les molécules de JC-1 qui pénètrent dans le cytoplasme sont présentes sous forme de monomères et émettent une fluorescence verte (longueur d'onde d'émission de 529nm). Elles peuvent pénétrer dans les mitochondries de façon proportionnelle au potentiel membranaire $\Delta\Psi$, où elles s'agrègent et émettent une fluorescence rouge (émission à 590nm). La mesure de la fluorescence rouge et de la fluorescence verte permet ainsi d'estimer le potentiel membranaire des mitochondries d'une cellule, et donc son activité mitochondriale.

Le JC-1 est une molécule chargée positivement, qui a de ce fait la capacité de pénétrer dans les mitochondries de façon proportionnelle au potentiel de membrane $\Delta\Psi$ (Cossarizza *et al.*, 1993). Sous forme monomérique dans le cytoplasme, JC-1 émet une fluorescence de longueur d'onde 529nm. Plus les mitochondries sont actives, plus JC-1 peut traverser les membranes mitochondriales. Dans la mitochondrie, JC-1 s'accumule en agrégats et sa longueur d'onde d'émission passe à une longueur d'onde de 590nm (Figure 32B). Ainsi la mesure des fluorescences des deux longueurs d'onde permettent d'estimer l'activité mitochondriale d'une cellule ou d'une population cellulaire.

Des coupes coronales de 30 μ m des cerveaux eu- et hypothyroïdiens ont été réalisées à l'aide d'un cryostat, puis stockées à 4°C en PBS ou à -20°C dans une solution cryoprotectante avant de procéder aux colorations par immuno-histochimie. Les immunomarquages sur les coupes JC-1 ont été réalisés avec des anticorps dirigés contre des protéines spécifiques de différents types cellulaires de la niche (EGFR pour les cellules prolifératives (principalement CSNs actives et progéniteurs), DCX pour les neuroblastes, et NG2 pour les OPCs et oligodendrocytes immatures). Après imagerie, le signal rouge et le signal vert du JC-1 ont pu être quantifié spécifiquement dans le cytoplasme des cellules d'intérêts, au niveau de la SVZ latéro-dorsale des coupes situées entre les positions stéréotaxiques bregma +0.4 mm et +0.9 mm. La zone de fluorescence des anticorps (correspondant aux cytoplasmes de la population de cellules d'intérêt) a pu être délimitée automatiquement avec le logiciel FIJI, permettant la mesure des fluorescences du JC-1 spécifiquement sur cette zone. Le cytoplasme des cellules de la SVZ ne pouvant pas être délimités précisément de façon indépendante pour chaque cellule, seule une mesure globale par coupe a pu être réalisée.

1.1.2.2. Immuno-histochimies

Voir section « 2. *Materials and methods* », sous-section « 2.2.3. *Immunohistochemistry (IHC) in vivo* » de l'article « *Adult neural stem cell fate is determined by thyroid hormone activation of mitochondrial metabolism* » dans la partie **Résultats** pour les détails de procédure.

Des anticorps dirigés contre HIF1 α , SIRT1, pDRP1^{S616}, CDK1 et CDK5 ont été utilisés en combinaison avec des anticorps spécifiques de différents types cellulaires de la niche (SOX2, DLX2, DCX, SOX10, OLIG2), permettant de visualiser dans quels types cellulaires sont exprimées les différentes protéines, et dans quelles cellules la forme phosphorylée de DRP1 est présente. Les noyaux ont été marqués avec du DAPI. Des comarquages ont été réalisés avec les différents marqueurs nucléaires, pour détecter des corrélations grâce à la mesure de l'intensité de différents signaux pour une même cellule.

I.2. Activation des cellules souches neurales de la SVZ adulte

Ces expérimentations ont été réalisées avec l'équipe du Pr. Gotoh dans le laboratoire de biologie moléculaire de la *Graduate school of Pharmaceutical Sciences* de l'Université de Tokyo, Japon. Afin d'étudier l'activation des CSNs, deux groupes de six souris C57BL/6 mâles âgées de deux mois (jeunes adultes) ont été nourries avec un régime contrôle ou avec des granulées dépourvues d'iode et contenant 0.15 % de propylthiouracile (PTU, Harlan Tekland, Madison, WI), composé inhibant la thyroperoxydase et donc la formation d'HTs. Après 7 jours passés dans des cages de taille moyenne, les souris suivant chaque régime ont été divisées en deux groupes (3 souris par groupe) : un groupe contrôle dans de petites cages, et un groupe dans de grandes cages contenant deux roues (**Figure 33**). Au bout de 12 jours, les souris des quatre groupes ont été anesthésiées puis perfusées au niveau cardiaque avec du PBS puis du paraformaldéhyde (PFA) 4 % en PBS. Les cerveaux ont été prélevés puis post-fixés au PFA 4 % à 4°C pendant 2 heures, puis cryoprotégés à 4°C dans une solution de sucrose 10 % en PBS pendant 2 heures, puis dans une solution de sucrose 20 % pendant une nuit (*overnight*, ON) et dans une solution de sucrose 30 % pendant 24 heures. Ils ont ensuite été incorporés en OCT (*optimal cutting temperature compound*) et maintenus à -80°C jusqu'à utilisation. Des coupes coronales de 30µm ont été réalisées à l'aide d'un cryostat et les coupes récupérées sur lame sont stockées à -80°C avant de procéder à des coloration par immunohistochimie.

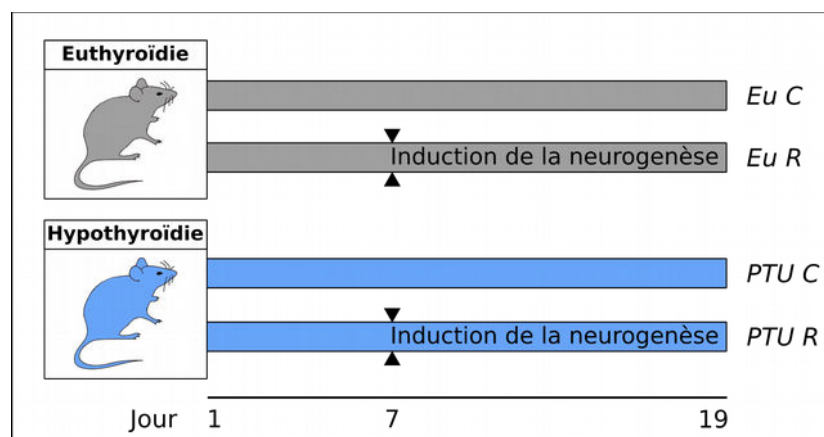


Figure 33: Protocole d'induction de la neurogenèse chez l'adulte euthyroïdien et hypothyroïdien. Les souris C57BL/6 mâles âgées de deux mois sont mises sous régime contrôle (Eu) ou régime hypothyroïdien (PTU) pendant 19 jours. Après sept jours, les souris suivant chaque régime sont séparées en deux sous-groupes, le premier étant placé dans de petites cages (Contrôle, C) et le second dans de grandes cages avec accès à deux roues (*Running*, R). L'enrichissement du milieu et l'exercice physique doivent permettre d'induire la neurogenèse par l'activation des cellules souches neurales.

Pour les colorations, les lames ont été incubées 30 minutes à température ambiante dans une solution de TBS (*Tris-buffered saline*) contenant 0.1 % Triton pour dissoudre l'OCT, puis incubées dans une solution de blocage composée de PBS (*phosphate buffered saline*) contenant 3 % d'albumine de sérum bovin (BSA, *bovine serum albumin*). Les lames ont ensuite été incubées avec les anticorps primaires (anti-PCNA *mouse*, 1:1000 ; anti-p57 *rabbit*, 1:500 ; anti-DCX *goat*, 1:200) dans le tampon de blocage à 4°C ON, puis, après rinçages, avec les anticorps secondaires (1:500) et le colorant nucléaire Hoechst dans le tampon de blocage 1 heure à température ambiante, avant montage au mowiol. Les colorations utilisant un anticorps anti-PCNA ont nécessité une étape de démasquage d'antigène, consistant en une incubation de 10 minutes à l'autoclave à 105°C dans une solution spécifique (*Target retrieval solution*, DAKO).

Après coloration, les sections de SVZ des coupes situées entre les positions stéréotaxiques bregma +0.4 mm et +0.9 mm ont été imagées à l'aide d'un microscope confocal Leica TCS-SP5 à l'objectif x40 (images mosaïques). Le nombre de cellules PCNA⁺ et p57⁺-DCX⁺ a été quantifié tout le long de la SVZ (SVZ dorsale et latéro-ventrale) pour chacune des coupes.

Le sang de chaque animal a été prélevé au moment de la perfusion, puis centrifugé à 3200rpm à température ambiante pendant 15 minutes pour récupérer le sérum. Les sérums ont été stockés à -20°C puis utilisés pour contrôler le statut thyroïdien des animaux des différents groupes, à l'aide d'un kit T₄ ELISA (Labor Diagnostika Nord (LDN), Nordhorn, Germany).

II. Études *in vitro*

II.1. Cultures primaires de neurosphères à partir de CSNs de la SVZ adulte

Pour les détails de procédure concernant les cultures primaires, voir section « 2. *Materials and methods* », sous-section « 2.3.1. *Primary adult NSC neurosphere culture* » de l'article « *Adult neural stem cell fate is determined by thyroid hormone activation of mitochondrial metabolism* » dans la partie **Résultats**.

II.2. Principe de la culture primaire de CSNs adultes

Des coupes coronales du cerveau de souris C57Bl/6 âgées de deux mois sont réalisées à l'aide d'un moule strié, puis la SVZ est disséquée sous loupe binoculaire dans un milieu contenant du DMEM-F12-glutamax 1/50 Glucose 45 %. Après digestion enzymatique (papaïne durant 30 minutes à

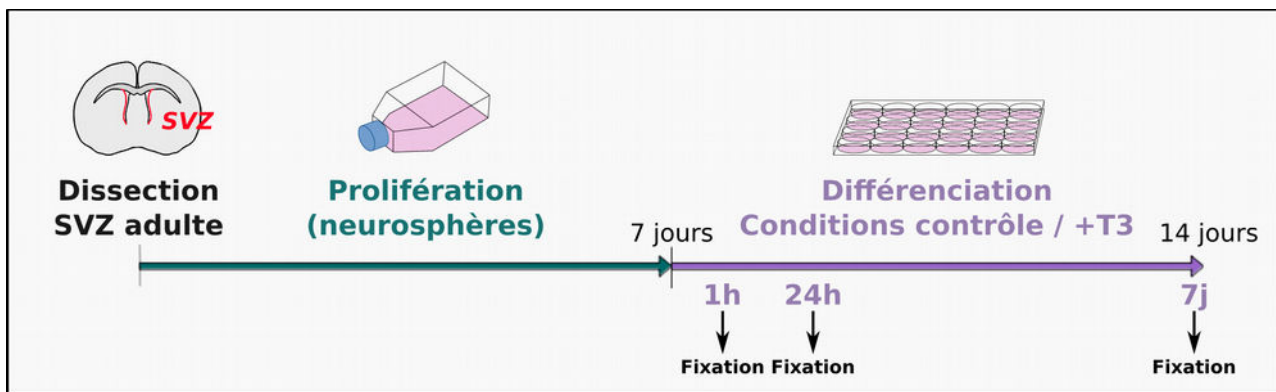


Figure 34: Protocole de culture primaire de CSNs adultes *in vitro*. La SVZ est disséquée et les cellules sont dissociées puis mises en culture en conditions prolifératives durant sept jours. Les neurosphères sont ensuite dissociées et cultivées en plaques 24 puits en conditions de différenciation, en milieu contrôlé ou traitées par ajout de T₃, durant une heure, 24 heures ou sept jours, puis fixées.

37°C), les cellules sont récupérées par centrifugation et resuspendues dans des flasques de culture en milieu complet contenant les facteurs de croissance EGF et FGF2. Les flasques sont maintenues à 37°C dans un environnement à 5 % CO₂ durant 7 jours. Les facteurs de croissance permettent la prolifération des CSNs et des progéniteurs, qui forment des neurosphères en suspension dans le milieu. Les neurosphères sont ensuite dissociées à l'aide d'une micropipette. Les cellules sont alors déposées sur des lamelles enduites de poly-D-lysine en plaques 24 puits. Du milieu de culture complet, dépourvu de facteurs de croissance, est ajouté après adhésion des cellules 30 minutes à 37°C. Les cellules en plaques 24 puits sont alors placées à 37°C pour induire leur différenciation pendant 1 heure, 24 heures ou 7 jours (Figure 34). Pour tester les effets de la T₃ sur le destin cellulaire et le métabolisme, le milieu de différenciation est supplémenté en T₃, à une concentration de 5nM ou 50nM, durant toute la différenciation. Les cellules sont ensuite fixées au PFA 4 % 10 minutes à température ambiante et maintenues à 4°C jusqu'à utilisation.

II.3. Étude de la production de ROS

Pour étudier la production de ROS, les cellules ont été exposées à de l'hydroéthidine (HEt, aussi appelée dihydroéthidium) 40µM pendant les 30 minutes précédant leur fixation. L'HEt est une molécule qui est transformée en éthidium bromide (EB) lorsqu'elle est oxydée, par exemple en présence d'ions superoxydes. L'EB est un intercalant de l'ADN qui émet une fluorescence rouge (pic d'émission à 605nm). L'utilisation de l'HEt sur des cellules vivantes permet ainsi une transformation en EB proportionnelle à la quantité de ROS présents dans la cellule, quantifiable après fixation par

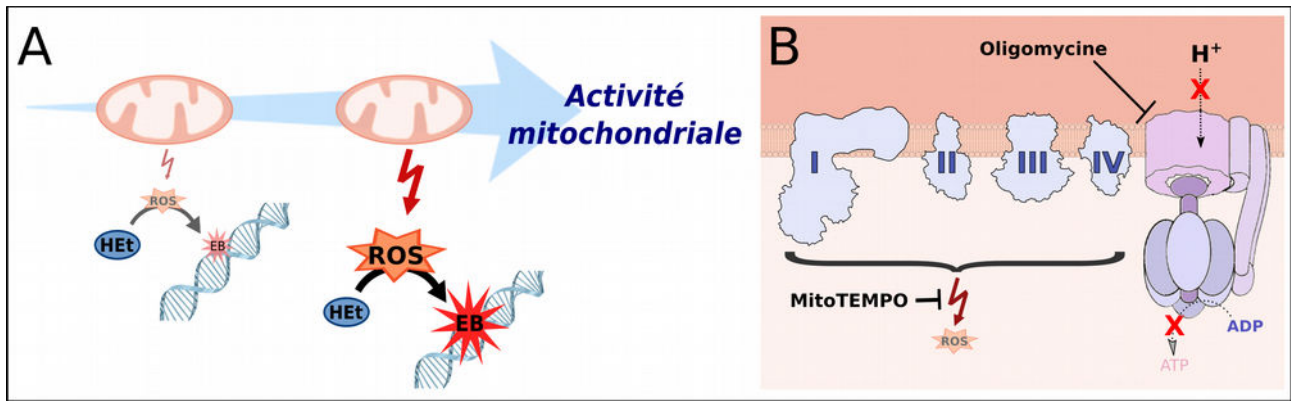


Figure 35: Principe de l'hydroéthidine, du mitoTEMPO et de l'oligomycine. (A) En présence de ROS, l'hydroéthidine (HET) se transforme en éthidium bromide (EB), intercalant de l'ADN qui émet alors une fluorescence rouge. Plus l'activité mitochondriale est forte plus la production de ROS par les mitochondries sera importante, entraînant une fluorescence nucléaire de l'EB plus forte. (B) Le mitoTEMPO inhibe spécifiquement la production des ROS mitochondriaux, provenant de l'activité de la chaîne respiratoire. L'oligomycine inhibe l'activité de l'ATP synthase au niveau de la sous-unité F₀, empêchant le passage des protons H⁺ et la production d'ATP.

mesure de l'intensité de fluorescence nucléaire (Figure 35A). Les mitochondries étant le lieu de production de ROS le plus important, nous pouvons estimer que les changements de fluorescence observés en fonction des conditions de culture et du temps de différenciation après traitement à l'HET sont principalement dus à des changements d'activité mitochondriale. Afin de vérifier ce postulat, le composé mitoTEMPO, une SOD (superoxyde dismutase) de synthèse entraînant l'élimination des ROS produits spécifiquement par les mitochondries, a également été utilisé (Figure 35B). Le mitoTEMPO a été ajouté au milieu de différenciation à une concentration de 20µM, avec ou sans ajout de T₃, et avec ajout d'HET en fin de différenciation pour visualiser la production de ROS.

II.4. Inhibition de la chaîne respiratoire

Pour analyser *in vitro* l'importance de l'activité mitochondriale sur le choix de destin cellulaire, nous avons utilisé le composé oligomycine. Celui-ci a été ajouté au milieu de culture durant la différenciation cellulaire. L'oligomycine est un inhibiteur spécifique de l'ATP synthase, parfois utilisé comme antibiotique. Il bloque l'activité de la sous-unité F₀, empêchant le passage de protons de l'espace intermembranaire vers la matrice mitochondriale, et donc la production d'ATP (Figure 35B). L'ensemble de la chaîne respiratoire est ainsi freinée. L'oligomycine a été utilisée à 1µM, une dose de 10µM entraînant une mort cellulaire en moins de 24 heures. La différenciation cellulaire en présence d'oligomycine 1µM entraîne malgré tout un taux très important de mort cellulaire après

sept jours : nous n'avons quantifié les types cellulaires qu'après 24 heures de différenciation, avec ou sans ajout de T₃.

II.5. Immuno-cytochimies

Voir section « 2. *Materials and methods* », sous-section « 2.3.2. *Immunostaining in vitro* » de l'article « *Adult neural stem cell fate is determined by thyroid hormone activation of mitochondrial metabolism* » dans la partie **Résultats** pour les détails de procédure.

Des anticorps permettant la détection spécifique de SIRT1, PGC1 α , TOM20, DRP1 et pDRP1^{S616} ont été utilisées *in vitro* en combinaison avec les marqueurs cellulaires SOX2, DLX2, DCX, SOX10 et OLIG2 (doubles ou triples colorations). Les noyaux ont été marqués avec du DAPI. L'utilisation de DRP1 et pDRP1^{S616} m'a permis de quantifier l'expression de la protéine de sa phosphorylation activatrice, dans les différents types cellulaires et dans différentes conditions de culture, ce qui n'a pas été possible *in vivo* où l'anticorps dirigé contre DRP1 ne permettait pas d'obtenir un signal satisfaisant. La quantification de ces deux marqueurs cytoplasmiques a été faite manuellement dans les différentes cellules d'intérêt.

L'intensité des marqueurs nucléaires SIRT1, SOX2 et OLIG2 a été mesurée de façon semi-automatique, grâce à l'utilisation du signal DAPI, permettant de définir les zones nucléaires à quantifier. Les noyaux des cellules apoptotiques ont été exclus manuellement des zones à quantifier. Les analyses d'images ont été réalisées à l'aide de FIJI, à partir de la projection en Z d'images réalisées en stack sur 4 μ m d'épaisseur. Au moins dix images ont été prises par lamelle, réparties de façon aléatoire sur l'ensemble de la lamelle.

Un anticorps spécifique de TOM20, protéine de la membrane mitochondriale externe, a été utilisé pour visualiser la conformation des mitochondries dans les différents types cellulaires. Des images prises en stack ont permis des reconstructions en trois dimensions sous le logiciel IMARIS. La détection du signal en 3D nous a permis d'analyser des mesures de volume mitochondrial des cellules OLIG2⁺ et DCX⁺ après 24 heures de différenciation cellulaire en conditions contrôle ou en présence de T₃ (données préliminaires).

II.6. Transfections de plasmides CMV-H1-shDRP1

Les shARN (*short hairpin* ARN) sont des séquences palindromiques qui, lorsqu'ils sont présents dans le cytoplasme d'une cellule, sont clivés en siARN (*small interfering* ARN). Un siARN a la capacité de se lier de façon spécifique à l'ARNm d'un gène cible par complémentarité de séquence,

permettant le recrutement d'enzymes entraînant la destruction de l'ARNm ou l'inhibition de sa traduction. Afin d'étudier l'influence de DRP1 sur le choix de destin cellulaire des CSNs *in vitro*, deux plasmides codant pour des shARN dirigés contre DRP1 ont été synthétisés et transfectés dans des cellules issues de neurosphères.

Deux séquences de shDRP1 publiées par Wang *et al.* ont été testées (Wang *et al.*, 2014). Chaque séquence a été insérée dans un plasmide CMV-H1 (synthétisés par Eurofins Genomics). Des bactéries compétentes (*One shot Mach1-T1*) ont ensuite été transformées avec chacun des plasmides (ou avec un plasmide contrôle) par choc thermique, puis étalées sur boîtes de Petri (milieu LB + Ampiciline). Après une nuit à 37°C, une colonie isolée de chaque culture a été mise en milieu LB liquide 24 h à 37°C sous agitation pour permettre la prolifération bactérienne. Les bactéries ont ensuite été récupérées par centrifugation, puis les plasmides ont été extraits à l'aide du kit *Qiagen QIAfilter Maxi kit*, selon le protocole du fournisseur. La qualité des plasmides a été vérifiée au Nanodrop, puis ces derniers ont été aliquotés et stockés à -20°C jusqu'aux transfections cellulaires. Les transfections ont été réalisées sur cellules issues de neurosphères dissociées comme indiqué en II.2. Les cellules ont été co-transfectées avec les plasmides d'intérêt et un plasmide rapporteur CMV-GFP, en utilisant le kit de transfection non-virale jetPRIME (Polyplus) selon les instructions du fournisseur. Les cellules ont été transfectées en suspension puis incubées 4h à 37°C. Elles ont ensuite été réparties en plaques 24 puits et mises en différenciation pendant 48 h, en présence de différentes concentrations de T₃. Après fixation, les cellules ont été immuno-marquées avec des anticorps anti-OLIG2 ou anti-DCX. Un des deux plasmides CMV-H1-shDRP1 a été exclu de nos tests du fait de l'absence de cellules transfectées visibles après fixation. Le nombre de cellules GFP⁺OLIG2^{+/+} a été quantifié dans les groupes de cellules différenciées en présence de différentes concentrations de T₃, pour évaluer l'influence de la réduction de l'expression de DRP1 et de la T₃ sur la détermination cellulaire. Très peu de cellules GFP⁺DCX⁺ ont été observées, ne permettant pas de faire de quantifications fiables.

II.7. Cytométrie en flux (FACS)

Un protocole de tri cellulaire par FACS a été mis en place afin de pouvoir effectuer des analyses plus précises sur chaque lignage cellulaire. Le but de l'utilisation de cette technique était dans un premier temps de pouvoir quantifier le nombre de cellules appartenant à chaque lignage après différenciation dans différentes conditions ; puis dans un deuxième de temps de trier les cellules en vue d'analyser l'expression de certains gènes et de certaines protéines cibles (acteurs de la signalisation thyroïdienne, du métabolisme et de la détermination cellulaire neurone/glie) par qPCR

et western-blot. Enfin, une telle séparation des différents types cellulaires nous aurait permis, après remise en culture des cellules triées, d'analyser certains paramètres tels que la respiration cellulaire (technique Seahorse).

Dans le cadre de ce travail de doctorat, j'ai réussi à établir un protocole et obtenu des résultats d'analyse préliminaires, qui demanderont cependant des travaux complémentaires afin de pouvoir mettre en place le tri cellulaire.

II.7.1. Principe général

La cytométrie en flux permet de trier les cellules d'une population hétérogène grâce à l'utilisation d'anticorps couplés à des fluorochromes. Succinctement, le principe consiste à faire passer la population de cellules en suspension dans un fluide sous pression (le liquide de gaine), entraînant le rétrécissement du flux et permettant le passage des cellules une à une devant des lasers excitateurs (Figure 36A). Les lasers permettent non seulement la détection de la ou des longueur(s) d'onde(s) émise(s) par le ou les anticorps couplé(s) à la cellule, mais également une mesure de la taille de la cellule par diffraction (*forward scattered light*, FSC) et de sa granulosité par réfraction et réflexion (*side scattered light*, SSC). La mesure de la taille et de la granulosité permettent de distinguer les caractéristiques de la population cellulaire, et d'exclure de l'analyse les cellules mortes et les débris cellulaires. Lors de l'utilisation d'un trieur, la détection des longueurs d'ondes d'émission provenant de chaque cellule permet au système informatique de leur appliquer une charge, permettant leur tri (Figure 36A). Une optimisation des paramètres sur un appareil d'analyse (sans tri effectif des cellules) est nécessaire avant d'utiliser un trieur.

II.7.2. Choix des fluorochromes

Après le test de plusieurs combinaisons de fluorochromes et d'anticorps, j'ai optimisé le protocole avec la combinaison décrite ci-après. Afin d'analyser les cellules du lignage oligodendrocytaire, j'ai travaillé sur une souche de souris C57BL/6 exprimant la protéine PDGFR α couplée à une eGFP (Jackson laboratory), permettant aux cellules PDGFR α ⁺ d'émettre une fluorescence verte (longueur d'onde d'émission maximale à 507nm). Pour repérer les cellules du lignage neuronal, j'ai utilisé un anticorps dirigé contre la protéine membranaire CD24 couplé à un fluorochrome « Brilliant Violet 421 » (BioLegend, pic d'émission à 421nm). J'ai également utilisé le marqueur de viabilité « Zombie NIR » (BioLegend), pour m'assurer de ne pas inclure de cellules mortes dans nos analyses (pic d'émission à 746nm) (Figure 36B).

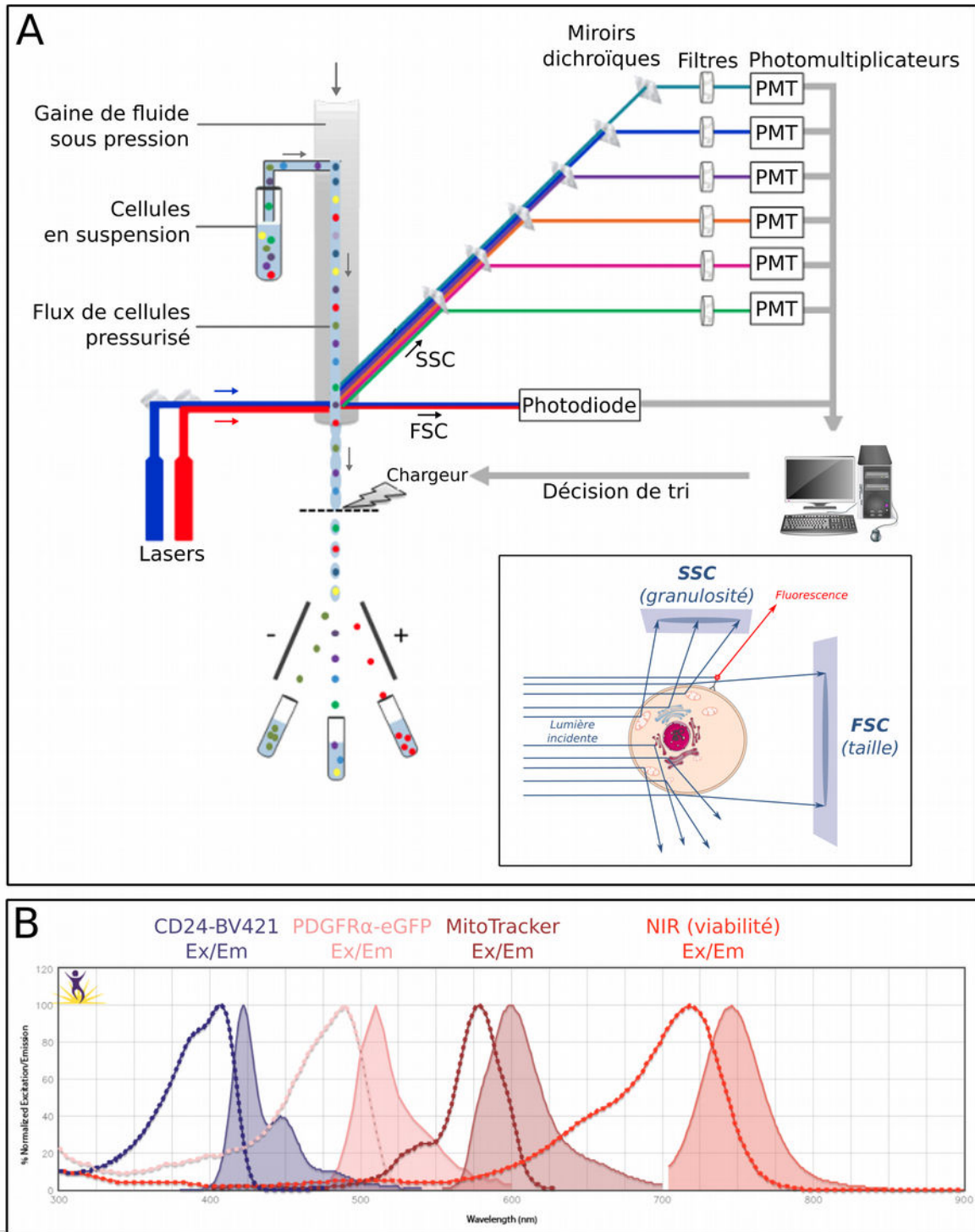


Figure 36: Principe de la cytométrie en flux et combinaison de fluorochromes utilisée. (A) Les cellules en suspension sont poussées par pression d'air comprimé vers un injecteur permettant leur injection dans le liquide de gaine, lui-même sous pression. La pression exercée sur le liquide de gaine est inférieure à celle exercée sur la suspension cellulaire. La différence de pression entre les deux liquides (effet Venturi) permet un étranglement du flux de cellules, qui s'alignent les unes derrière les autres. Le flux passe alors devant des lasers excitateurs, qui permettent une mesure de granulométrie grâce à la détection de la lumière réfractée et réfléchiée (SSC), une mesure de taille par la détection de la lumière diffractée (FSC), et l'excitation des fluorochromes. Le signal émis par les fluorochromes excités traverse des miroirs et filtres dichroïques, laissant passer uniquement certaines longueurs d'ondes et en réfléchissant d'autres, jusqu'à des photomultiplicateurs qui transmettent le signal à un ordinateur, permettant le traitement des données. Lors de l'utilisation d'un trieur, l'ordinateur transmet en temps réel l'information de fluorescence, permettant d'induire une charge sur la cellule, ensuite déviée de sa trajectoire pour être récoltée dans un tube différent en fonction de la fluorescence de départ. (B) Longueurs d'onde d'excitation et d'émission des différents fluorochromes utilisés. CD24-BV421 : excitation (Ex) maximale / émission (Em) maximale = 407/421nm ; PDGFR α -eGFP : 488/510nm ; MitoTracker Red CMXRos : 579/599nm ; NIR : 633/746nm. Visualisation des profils obtenus en ligne sur le *BioLegend Fluorescence Spectra Analyzer*.

Enfin j'ai également souhaité quantifier l'activité mitochondriale en utilisant un MitoTracker durant l'analyse par cytométrie. Les colorants de type MitoTracker ont un fonctionnement similaire au JC-1 mais n'ont qu'une longueur d'onde d'émission. Ils pénètrent dans les mitochondries proportionnellement à leur activité, et le rinçage des cellules permet d'éliminer les résidus présents en dehors des organelles. Je n'ai pas pu utiliser le JC-1 dans le cadre du FACS du fait de longueurs d'ondes d'émission incompatibles avec l'utilisation des autres fluorochromes. Afin de conserver les cellules dans un état physiologique aussi proche que possible de leur état d'origine, et donc de maintenir telle quelle leur morphologie mitochondriale, j'ai choisi de fixer les cellules avant l'analyse et d'utiliser un colorant MitoTracker maintenu après fixation. Après comparaison de différents MitoTracker répondant à ce critère, j'ai choisi d'utiliser le MitoTracker Red CMXRos (LifeTechnology M7512, pic d'émission à 599nm).

II.7.3. Protocole expérimental

La SVZ de souris C57BL/6 PDGFR α -eGFP mâles ont été disséquées et leurs cellules ont été dissociées et mises en prolifération comme décrit précédemment. Quatre groupes ont été créés lors de la mise en différenciation : un groupe en milieu contrôle, un groupe en milieu supplémenté en T₃ (50nM), un groupe en milieu supplémenté en oligomycine (0.5 μ M), et un groupe en milieu supplémenté en T₃ et oligomycine. Après 24 heures de différenciation, les cellules ont été mises en présence du MitoTracker 100nM en DMSO, pendant 30 minutes à 37°C. Après rinçage rapide avec du milieu complet, les cellules ont été détachées des puits à l'aide de Trypsine 1X, laissée 1 minute 30 à 2 minutes à 37°C avant inactivation par ajout de milieu complet + FBS 10 % (*fetal bovine serum*). Les cellules ont ensuite été transférées dans des tubes et centrifugées (1500rpm, 5min), et les culots cellulaires rincés en PSB-EDTA, avant une nouvelle centrifugation et reprise du culot en PBS-EDTA. Après comptage sur cellule de Malassez, le marqueur de viabilité NIR et l'anticorps CD24-BV421 ont été ajoutés aux cellules et maintenus à 4°C durant 20 minutes à l'abri de la lumière. Les cellules ont ensuite été centrifugées et rincées, puis fixées au PFA 4 % 10 minutes à température ambiante. Après un dernier rinçage, les cellules ont été reprises dans 400 μ L de PBS-EDTA et maintenues à 4°C. Les tubes ont ensuite été utilisés sur l'appareil BD Canto II pour l'analyse FACS, utilisant le logiciel Diva (BD Biosciences).

La mise au point des paramètres d'analyse a été faite grâce à plusieurs expériences préliminaires, avec des cellules différenciées en conditions contrôles mises en présence d'un seul des fluorochromes ou de tous les fluorochromes moins un (*fluorescence minus one*, FMO). Des essais ont par ailleurs été réalisés à partir de cellules obtenues après différents temps de différenciation *in*

in vitro. J'ai choisi d'optimiser le protocole à 24 heures de différenciation afin de pouvoir analyser les phases précoces de différenciation cellulaire. De plus, j'ai pu observer que les temps de différenciation plus longs (4 à 7 jours) entraînaient une proportion plus importante de cellules mortes et de débris, gênant l'analyse. Cela est probablement dû à deux facteurs. D'une part, l'augmentation du temps de différenciation dans nos conditions de culture conduit à une hausse de la proportion de cellules apoptotiques, comme nous l'avons déjà observé dans nos cultures par immuno-cytochimie. D'autre part, les cellules plus différenciées ayant un cytoplasme plus étendu sur le fond du puits de culture, l'étape de trypsination entraîne nécessairement la formation de plus de débris après un long temps de différenciation.

Les résultats ont été analysés à l'aide du logiciel FlowJo (Treestar). Les débris cellulaires et les cellules mortes ont été exclues par une première sélection sur une répartition SSC/FSC, puis à l'aide du marqueur de viabilité NIR (voir [Résultats](#)). L'intensité des différentes fluorescences m'a ensuite permis de distinguer les cellules CD24⁺PDGFR α ⁻ (population de cellules à destinée neuroblaste) et les cellules CD24⁺PDGFR α ⁺ (population de cellules à destinée oligodendrocytaire). Le signal émis par le MitoTracker nous a permis d'obtenir une estimation de l'activité mitochondriale des cellules des différents groupes.

Résultats

I. La signalisation thyroïdienne détermine le choix de destin des cellules souches neurales de la SVZ adulte par l'activation du métabolisme mitochondrial

I.1. Introduction à l'article

Les hormones thyroïdiennes sont impliquées dans la différenciation des cellules souches de la SVZ chez la souris adulte et dans l'activation du métabolisme mitochondrial. Or le métabolisme mitochondrial évolue considérablement au cours de la différenciation, et la quantité d'oxygène consommé par les cellules est déterminante dans le choix de destin cellulaire. Le travail présenté dans cette section a pour but de déterminer si l'action des HTs sur les cellules de la niche a une influence sur leur métabolisme mitochondrial, et en conséquence sur l'orientation des CSNs et progéniteurs vers détermination neuronale ou gliale.

Tout d'abord, j'ai analysé l'influence des HTs sur le choix de destin des CSNs. Pour cela, j'ai modulé la disponibilité en HTs *in vivo* en rendant les animaux hypothyroïdiens, et *in vitro* en augmentant la concentration en HTs du milieu de différenciation de cellules issues de cultures primaires de CSNs, et quantifié les cellules s'engageant dans chacun des lignages (Figure 1 de l'article). *In vivo*, j'ai ainsi observé qu'un hypothyroïdisme entraîne une diminution des cellules s'engageant vers la voie neuronale (NPCs) et une augmentation des cellules s'engageant vers la voie gliale (OPCs) dans la SVZ, *In vitro*, des conditions hyperthyroïdiennes conduisent à un résultat inverse, les cellules se différenciant majoritairement en neuroblastes. Les HTs sont donc nécessaires à la détermination des CSNs de la SVZ en NPCs, tandis qu'une absence d'HTs favorise la détermination en OPCs.

J'ai ensuite mis au point un protocole permettant de visualiser l'activité mitochondriale des cellules de la SVZ *in situ*. Pour cela, j'ai réalisé des injections du colorant JC-1 par stéréotaxie dans les ventricules latéraux de souris contrôle et hypothyroïdiennes. Après 4 heures de récupération, les tissus ont été fixés au PFA, puis des colorations immuno-histochimiques m'ont permis de quantifier le signal JC-1 spécifiquement dans les différents types cellulaires. J'ai par ailleurs quantifié la production de ROS *in vitro* en présence de différentes concentrations en HTs. Ainsi, j'ai observé une activité mitochondriale et une production de ROS non seulement plus importantes dans les cellules à destinée neuronale, mais également augmentées en présence d'HTs (Figure 2 de l'article). Par ailleurs, l'utilisation d'un inhibiteur de l'activité mitochondriale, l'oligomycine, m'a permis de constater que l'influence des HTs sur le destin cellulaire nécessitait l'activation de la respiration

mitochondriale. Les cellules à destinée oligodendrocytaire se sont de plus révélées beaucoup plus résistantes à l'inhibition de l'activité mitochondriale que les NPCs et les neuroblastes, montrant leur moins grande dépendance à une augmentation de la phosphorylation oxydative.

Enfin, nous avons observé et quantifié des différences de dynamiques mitochondriales entre les deux lignages cellulaires, *in vivo* et *in vitro*. L'initiateur de la fission, DRP1, s'est ainsi révélé activé de façon préférentielle dans les cellules à destinée neuronale (Figure 4 de l'article). La forme phosphorylée pDRP1^{S616} n'est en effet visible *in vivo* que dans les cellules à destinée neuronale, et une quantification dans le cytoplasme des différents types cellulaires *in vitro* a confirmé une phosphorylation nettement plus importante dans ce lignage. Les HTs favorisent de plus l'activation de DRP1. J'ai par ailleurs montré que SIRT1, exprimé dans les cellules pluripotentes (Saharan *et al.*, 2013 *et al.* ; Yoon, 2014 *et al.* ; Williams *et al.*, 2016 ; Han *et al.*, 2008) mais également cofacteur des TRs (Suh *et al.*, 2013 ; Thakran *et al.*, 2013) et inducteur indirect de la mitogenèse (Lagouge *et al.*, 2006 ; Nemoto *et al.*, 2005), reste préférentiellement exprimé dans la lignée neuronale (Figures 3 et S3 de l'article). Le maintien de SIRT1 dans les cellules se déterminant en NPCs pourrait s'interpréter comme un moyen de favoriser la mitogenèse, dans le cadre d'une augmentation globale des dynamiques et de l'activité mitochondriales.

Ainsi, mes données montrent que la signalisation thyroïdienne permet une augmentation des dynamiques et de la respiration mitochondriales au cours de la spécification des CSNs de la SVZ adulte, et ainsi favorise la détermination vers un destin neuronal.

I.2. Article : *Adult neural stem cell fate is determined by thyroid hormone activation of mitochondrial metabolism*

Article soumis le 31 juillet, révisé le 11 août et accepté pour publication le 14 août 2017 dans le journal *Molecular Metabolism*.

J.D. Gothié, A. Sébillot, C. Luongo, M. Legendre, C. Nguyen Van, K. Le Blay, M. Perret-Jeanneret, S. Remaud, B.A. Demeneix. *Mol Metab.* 2017 Aug. 14 ; doi : 10.1016/j.molmet.2017.08.003.

Adult neural stem cell fate is determined by thyroid hormone activation of mitochondrial metabolism

J.D. Gothié, A. Sébillot, C. Luongo, M. Legendre, C. Nguyen Van, K. Le Blay, M. Perret-Jeanneret, S. Remaud^{**},¹, B.A. Demeneix^{*},¹

ABSTRACT

Objective: In the adult brain, neural stem cells (NSCs) located in the subventricular zone (SVZ) produce both neuronal and glial cells. Thyroid hormones (THs) regulate adult NSC differentiation towards a neuronal phenotype, but also have major roles in mitochondrial metabolism. As NSC metabolism relies mainly on glycolysis, whereas mature cells preferentially use oxidative phosphorylation, we studied how THs and mitochondrial metabolism interact on NSC fate determination.

Methods: We used a mitochondrial membrane potential marker *in vivo* to analyze mitochondrial activity in the different cell types in the SVZ of euthyroid and hypothyroid mice. Using primary adult NSC cultures, we analyzed ROS production, SIRT1 expression, and phosphorylation of DRP1 (a mitochondrial fission mediator) as a function of TH availability.

Results: We observed significantly higher mitochondrial activity in cells adopting a neuronal phenotype *in vivo* in euthyroid mice. However, prolonged hypothyroidism reduced not only neuroblast numbers but also their mitochondrial activity. *In vitro* studies showed that TH availability favored a neuronal phenotype and that blocking mitochondrial respiration abrogated TH-induced neuronal fate determination. DRP1 phosphorylation was preferentially activated in cells within the neuronal lineage and was stimulated by TH availability.

Conclusions: These results indicate that THs favor NSC fate choice towards a neuronal phenotype in the adult mouse SVZ through effects on mitochondrial metabolism.

© 2017 The Authors. Published by Elsevier GmbH. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Keywords Adult neurogenesis; Mitochondrial metabolism; Thyroid hormone; Neural stem cell fate

1. INTRODUCTION

Neurogenesis persists in the brain of adult mammals in two well-defined niches, the hippocampus and the sub-ventricular zone (SVZ) [1,2]. In both areas, NSCs can differentiate to form neurons or glial cells (oligodendrocytes and astrocytes) [3]. NSCs produce transit amplifying progenitors that predominantly differentiate to neuroblasts which migrate to the olfactory bulb forming interneurons [4]. Progenitors can also acquire an oligodendroglial phenotype, becoming oligodendrocyte precursor cells (OPCs) that mature to oligodendrocytes (OLs) [5]. Diverse internal and external signals modulate NSC differentiation, with thyroid hormones (THs) having a crucial role in promoting neuroblast determination [6]. Understanding homeostatic controls of neuron/glial cell fate decisions is necessary to address how adult neurogenesis is modified in physiological and pathological conditions.

It is well established that NSCs principally rely on aerobic glycolysis before differentiation, contrasting with mature cells, in which metabolism is mainly based on mitochondrial oxidative phosphorylation (OXPHOS) [7,8]. Though generating less ATP, high glycolysis can provide proliferating cells with increased production of nucleotides and lipids [9]. Hypoxia also contributes to maintaining an undifferentiated state, influencing proliferation and cell-fate commitment [10,11]. In turn, changes in metabolic status influence NSCs pluripotency and differentiation [12,13]. According to energy requirements, mitochondria change shape, number and connections, through mitochondrial biogenesis, fission, and fusion. These processes modulate mitochondrial production, growth, interconnections, intracellular dissemination, and destruction of damaged mitochondria [14]. Factors enhancing OXPHOS will involve an increase in these processes. Amongst factors regulating mitochondrial dynamics, DRP1 induces mitochondrial fission. When phosphorylated, DRP1 interacts with FIS1

CNRS, UMR 7221, Sorbonne Universités, Muséum National d'Histoire Naturelle, F-75005 Paris France

¹ Co-last authors.

*Corresponding author. E-mail: bdem@mnhn.fr (B.A. Demeneix).

**Corresponding author. E-mail: sremaud@mnhn.fr (S. Remaud).

Received July 31, 2017 • Revision received August 11, 2017 • Accepted August 14, 2017 • Available online xxx

<http://dx.doi.org/10.1016/j.molmet.2017.08.003>

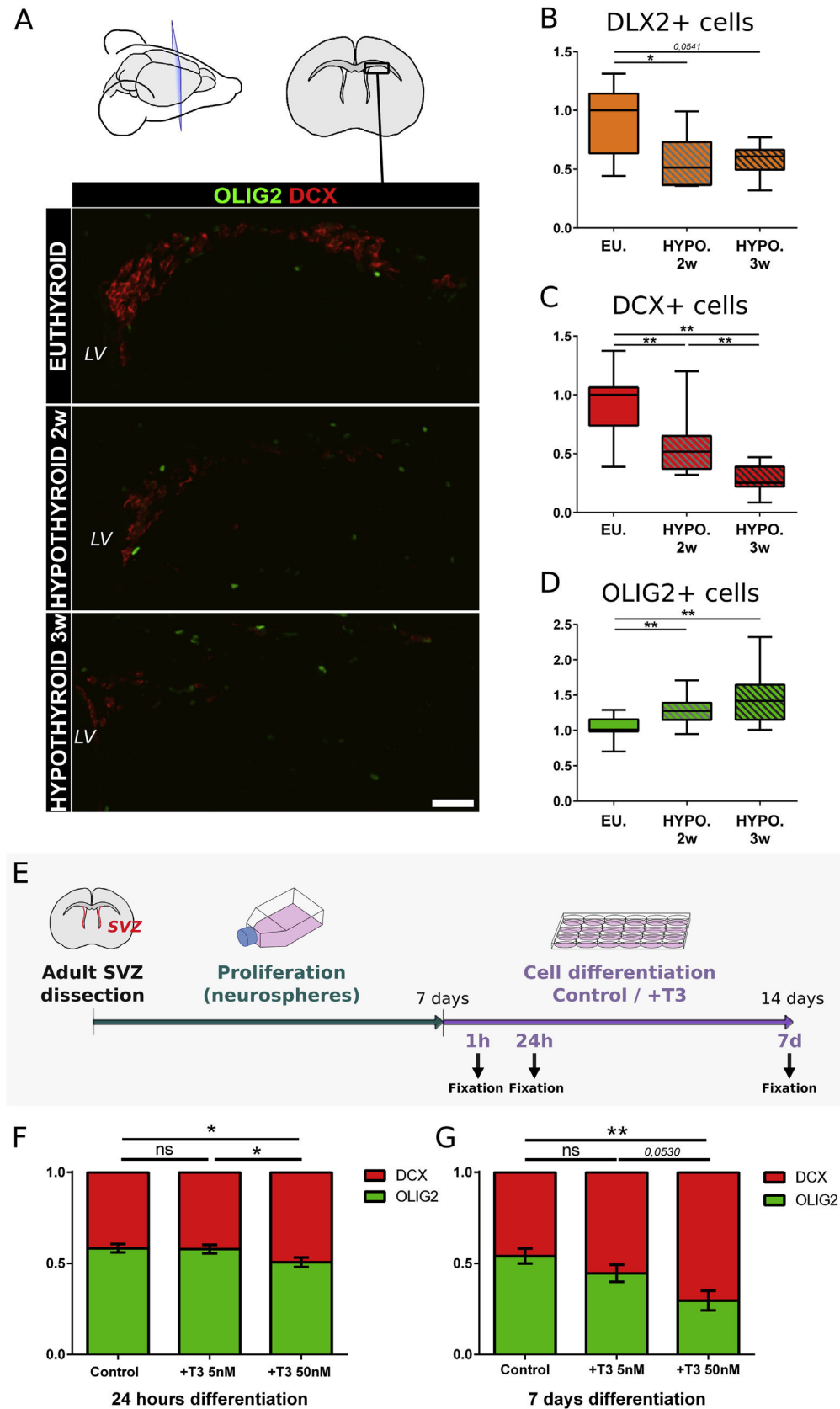


Figure 1: Thyroid hormones favor neuronal over glial fate decision *in vivo* and *in vitro*. (A) Coronal sections of dorsal SVZ in euthyroid versus hypothyroid adult mice (two and three weeks, see materials and methods) treated by IHC (OLIG2, in green and DCX, in red). Representative images. Scale bar: 50 μ m. LV: Lateral ventricle. (B) Quantification of DLX2+ cell numbers in the adult SVZ of euthyroid and hypothyroid mice. $n=4$ euthyroid, hypothyroid 2 weeks and hypothyroid 3 weeks. (C–D) Quantification of DCX+ (integrative

at the mitochondrial surface to induce division [15]. Triiodothyronine (T_3), the active form of THs, promotes DRP1 localization to mitochondria [16], where the protein activates fission. Finally, it is well-documented that THs are major regulators of cell and mitochondrial metabolism [17,18].

Given the twin roles of THs in NSC biology and mitochondrial metabolism, we hypothesized that TH determination of NSC fate could implicate modulation of the glycolysis to OXPHOS metabolism transition. To test this hypothesis, we studied NSC determination both *in vivo* and *in vitro* as a function of TH availability. We provide a number of novel results on the role of TH in activating mitochondria and inducing a neuronal, as opposed to a glial, cell fate. First, we show that TH influences mitochondrial activity and ROS production, being higher in cells adopting a neuronal fate. Second, we find that the mitochondrial fission-inducer DRP1 is activated preferentially in cells differentiating toward a neuroblast phenotype, a process influenced by TH availability. Finally, if mitochondrial activity is blocked by oligomycin, neuronal determination is dramatically reduced. In conclusion, the data show that TH signaling increases mitochondrial dynamics and activates mitochondrial respiration during NSC differentiation, thus directing adult NSC determination to a neuronal fate.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Animals

C57BL/6 wild-type male mice, 8 weeks old, were purchased from Janvier (Le Genest St. Isle, France). Food and water were available ad libitum. All procedures were conducted according to the principles and procedures in Guidelines for Care and Use of Laboratory Animals and validated by local and national ethical committees.

2.2. *In vivo* studies

2.2.1. Hypothyroid treatments

To induce hypothyroidism, 8 week-old male mice were given iodine-deficient food containing 6-n-propyl-2-thiouracil (PTU) at 0.15% (Harlan Tekland, Madison, WI) for two to three weeks. This method of inducing hypothyroidism is recommended by the American Thyroid Association (ATA) in their rodent guide [19]. It is possible that inducing long-term hypothyroidism or hyperthyroidism affects food intake and body weight. We did not measure the amount of food eaten by hypothyroid mice, but we saw no obvious changes in body weight during the time span of treatment. Hypothyroidism was checked by measuring serum T_4 concentrations at sacrifice, using a T_4 ELISA test (Labor Diagnostika Nord (LDN), Nordhorn, Germany) (Figure S1A) or using RIA (carried out by Academic Medical Center, University of Amsterdam, Netherlands) (Figure S1B).

2.2.2. JC-1 *in vivo* staining

JC-1 dye (2 μ L 1 μ g/ μ L) was stereotaxically injected in the lateral ventricle (anterior: 3.65 mm, lateral: 1 mm and depth: 2.1 mm relative to lambda) of 2 month-old euthyroid and hypothyroid mice anesthetized with isoflurane. Mice were sacrificed 4 h after injection and brains fixed in 4% paraformaldehyde (PFA) in PBS (0.1 M, pH 7.4). JC-1 red and green fluorescence were quantified in the cytoplasm of

EGFR+, NG2+ and DCX+ cells located in the dorso-lateral part of the SVZ after specific immunostainings. JC-1 red on green fluorescence values were standardized with the global SVZ red on green signal.

2.2.3. Immunohistochemistry (IHC) *in vivo*

Mice were anesthetized with Pentobarbital (130 mg/kg, Centravet) and perfused rapidly through the left heart ventricle with PBS, then with 4% PFA in PBS (0.1 M, pH 7.4). Brains were harvested and post-fixed at 4 °C overnight in the same fixative solution. Brains were cryoprotected in 30% sucrose in PBS at 4 °C, embedded in OCT, frozen, and stored at -80 °C until processed. Brain coronal sections (30 μ m thick) were incubated for 1 h in a blocking solution of 10% normal donkey serum (Sigma) and 1% BSA (Sigma) in PBS at room temperature (RT), then incubated with primary antibody diluted in blocking solution at 4 °C overnight. After three 10 min washes in PBS at RT, sections were incubated with fluorescent secondary antibodies (1/500, Invitrogen) in 1% donkey serum and 1% BSA in PBS for 2 h RT. Sections were washed three times 10 min in PBS at RT, incubated with DAPI for 5 min at RT, and mounted onto SuperFrost glass slides (Fisher) Prolong Gold with antifade reagent (Invitrogen). Fluorescence images were acquired using a Leica TCS-SP5 confocal microscope. Images were processed using the FIJI software [20]. All *in vivo* quantifications were done on brain slices located between bregma +0.4 mm and +0.9 mm stereotaxic coordinates.

2.2.4. Characterization of DLX2 as specific marker of adult SVZ neuronal precursors

In the adult SVZ, well-defined markers of oligodendrocyte precursor cells (OPC) are SOX10, NG2, and OLIG2, the latter two being maintained in immature OL [4,21]. If localized in the SVZ, OLIG2+ and NG2+ cells can be considered OPCs as these markers are expressed prior to migration. A well-established marker for differentiating neuroblasts is DCX [22]. DLX2 over-expression acts as a pro-neurogenic factor in the adult SVZ [23], making it a good candidate for being specific to early neuronal commitment in the adult. To ascertain this point, we immuno-assayed adult SVZ for DLX2, OLIG2 and for SOX2, a pluripotency marker expressed in NSC and progenitor cells, the expression of which decreases during differentiation [6]. DLX2 and OLIG2 signals in the SVZ showed sharp mutual exclusion (Figure S2A–C). The only cells expressing both markers also displayed high SOX2 levels (Figure S2C), suggesting that the rare co-expression of OLIG2/DLX2 occurs prior to differentiation. Inversely, nearly all SVZ DCX+ neuroblasts express low levels of DLX2 (Figure S2D). Thus, DLX2 expression decreases with neuronal differentiation enabling DLX2 to be used as a marker of adult SVZ neuronal precursors.

2.3. *In vitro* studies

2.3.1. Primary adult NSC neurosphere culture

Five male mice were sacrificed per neurosphere culture. Brains were removed and lateral SVZ dissected under a binocular dissection microscope in DMEM-F12-glutamax 1/50 Glc 45% and incubated with papain for 30 min at 37 °C with pipette dissociation every 10 min to obtain a single-cell suspension. Cells were collected by centrifugation

density) and OLIG2+ cell numbers in the adult SVZ of euthyroid and hypothyroid mice. $n = 12$ euthyroid and hypothyroid 2 weeks, $n = 7$ hypothyroid 3 weeks. (E) Schematic timeline illustrating the experimental design for *neurosphere assay* derived from adult mouse SVZ. Dissected cells are grown with proliferating factors (bFGF and EGF) for 7 days to form neurospheres. After plating, dissociated cells from neurospheres differentiate in multi-well plates for 1 h to 7 days without proliferation factors, in control medium or with T_3 (5 and 50 nM). (F–G) Relative proportion of OLIG2+ and DCX+ cells after 24 h and 7 days of differentiation at each T_3 dose. Pool of three experiments. p -value: * <0.05 , ** <0.01 , ns: non-significant. Kruskal–Wallis followed by Mann–Whitney tests.

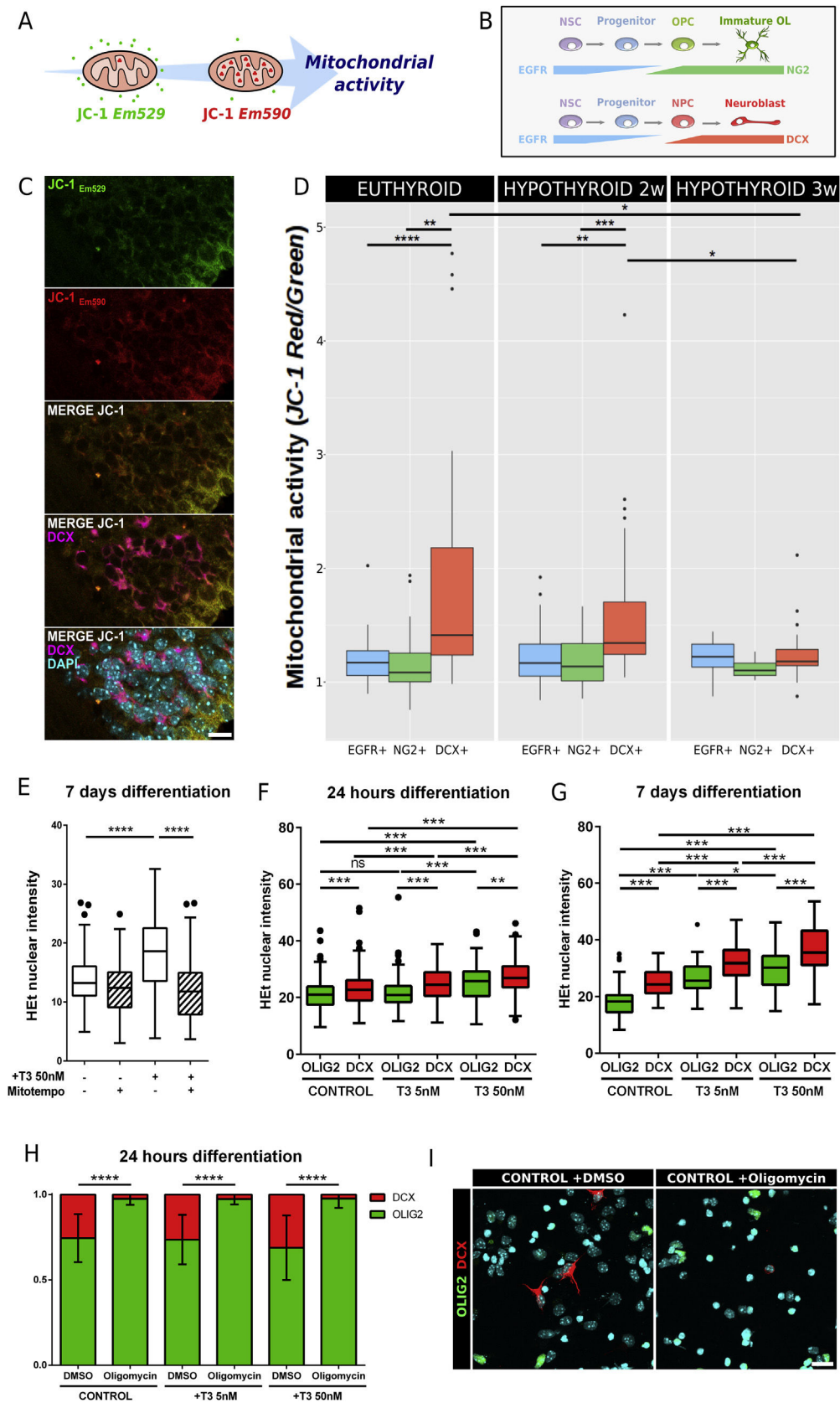


Figure 2: Mitochondrial activity and ROS production are higher in cells adopting a neuronal fate and are influenced by thyroid hormones. (A–D) Mitochondrial activity is higher in cells adopting a neuronal fate and is decreased by hypothyroidism specifically in neuroblasts *in vivo*. (A) Schematic representation of JC-1 dye mechanism of action. Excited at a wavelength of 488 nm, JC-1 monomers outside of mitochondria exhibit green fluorescence, whereas JC-1 aggregates inside mitochondria exhibit a red fluorescence

(1000 rcf, 5 min). After resuspension, cells were cultured in complete culture medium (DMEM-F12 [Gibco], 40 $\mu\text{g/ml}$ insulin [Sigma], 1/200 B-27 supplement [Gibco], 1/100 N-2 supplement [Gibco], 0.3% glucose, 5 nM HEPES, 100 U/ml penicillin/streptomycin) containing 20 ng/ml of EGF and 20 ng/ml of FGF2 (Peprotech), in a 5% CO_2 environment at 37 $^\circ\text{C}$ for 7 days to obtain primary neurospheres. To analyze cell differentiation, neurospheres were dissociated into single cells and 50 000 cells were plated per well on Poly-D-Lysine-coated glass coverslips in 24-well plates in complete culture medium without EGF/FGF2 for 7 days maximum.

To test the effect of T_3 on cell differentiation, T_3 was added to the differentiation medium (5 nM or 50 nM). Medium was renewed every two to three days during differentiation. Cells were then fixed with 4% paraformaldehyde for 10 min RT at different differentiation time points and used for immunocytochemistry (see below).

To inhibit mitochondrial superoxide production, MitoTEMPO (Sigma) 20 μM was added to culture medium during 7 days of cell differentiation. To measure cellular ROS production, cells were exposed to Hydroethidine (HET) (ThermoFisher) 40 μM 0.4% DMSO in culture medium during 30 min before fixation. HET transformation to ethidium bromide in presence of superoxide ions has been quantified in cells nuclei. To inhibit ATP synthase and OXPHOS, oligomycin (Sigma) 1 μM was added to culture medium during cell differentiation.

2.3.2. Immunostaining *in vitro*

Cells fixed on glass coverslips were blocked with 10% donkey serum and 1% BSA in PBS for 30 min at RT. Incubation with primary antibody was performed in blocking solution overnight at 4 $^\circ\text{C}$ or for 2 h at RT. After three 5 min washes in PBS at RT, cells were incubated with fluorescent secondary antibodies in 1% donkey serum and 1% BSA in PBS for 1 h at RT. Cells were washed three times in PBS, incubated with DAPI for 5 min at RT and mounted on SuperFrost glass slides with Prolong Gold antifade reagent. Fluorescence images were acquired using a Leica TCS-SP5 confocal microscope and processed using the Fiji software [20]. All *in vitro* quantifications were done on Max Intensity Z projection of 4 μm stack images. At least 10 40 \times images were quantified per slide per experiment.

2.4. Statistical analysis

Statistical analyses were carried out with R and GraphPad Prism. Statistical differences were analyzed with appropriate tests, indicated in figure legends, to compare control and treated groups.

2.5. Antibodies and reagents

A complete list of antibodies and reagents used is presented in supplemental experimental procedures.

3. RESULTS

3.1. Thyroid hormone availability differentially modulates mitochondrial activity and ROS production in neuronal and glial lineages

To understand the implication of mitochondrial metabolism in thyroid hormone (TH) control of NSC fate, we analyzed mitochondrial activity *in vivo* and *in vitro* in neuronal and glial lineages. A first step was to verify that THs favor neuronal over glial fate decision in a dose and time dependent manner *in vivo* and *in vitro*. This objective required an unambiguous marker of neuronal precursor, shown in Figure S2 (see details in Experimental procedures). We quantified cell populations in mice fed control or hypothyroid diet for two (2w) or three weeks (3w). Hypothyroidism time-dependently decreased both DLX2+ neuronal precursor cell (NPC) and DCX+ neuroblast numbers, whilst increasing OLIG2+ OPCs in the latero-dorsal SVZ (Figure 1A–D). Thus, low TH availability *in vivo* favors adult NSCs determination to an oligodendrocyte fate, at the expense of DLX2+ NPCs and DCX+ neuroblasts. To test the consequences of TH excess on NSC fate, we used an *in vitro* assay, in which adult SVZ-derived proliferating NSCs and progenitors form neurospheres in the presence of growth factors. After 7 d, neurospheres were dissociated and differentiation induced without growth factors (Figure 1E). We quantified DCX+ and OLIG2+ cells after 24 h and 7 d in differentiating conditions $\pm\text{T}_3$, (5 or 50 nM). After 24 h, T_3 (50 nM) decreased the proportion of OLIG2+ cells ($p < 0.05$). This decrease in OLIG2+ cells was highly significant ($p < 0.01$) at 7 d differentiation with T_3 (50 nM), accompanied by increased proportions of DCX+ neuroblasts (Figure 1F and G). Thus, *in vivo* and *in vitro* T_3 availability controls neuronal vs glial fate in the adult SVZ.

To quantify mitochondrial activity in cells committed towards a glial or a neuronal fate in the SVZ, we used JC-1. This dye enters mitochondria as a function of their membrane potential. In active mitochondria, the respiratory chain transfers protons into the inter-membrane space, increasing membrane potential and favoring JC-1 entry. JC-1 particles emit a green fluorescence in the cytoplasm, and aggregate to emit a red fluorescence inside mitochondria (Figure 2A). Following intracerebro-ventricular injection (ICV), we determined JC-1 ratios (red/green) as a function of cell type using cytoplasmic immuno-staining for proliferating cells (EGFR), for NPCs and neuroblasts (DCX) and for OPCs (NG2) (Figure 2B and C). Figure 2C shows a representative example of JC-1 red/green signals in DCX+ SVZ cells in the niche. To determine how TH availability affected JC-1 ratios in different cell types, we compared euthyroid to hypothyroid mice (2 or 3 weeks) (Figure 2D). In euthyroid mice, quantifying JC-1 ratio showed that mitochondrial activity was significantly higher in DCX+ neuroblasts than in EGFR+ proliferating NSCs and progenitors ($p < 0.001$) or in NG2+ OPCs

that is proportional to mitochondrial membrane potential. (B) Membrane and cytoplasmic markers were used to quantify red and green JC-1 signals in the SVZ in respectively, neural stem cells and progenitors (EGFR), neuronal precursor cells and neuroblasts (DCX), oligodendrocyte precursor cells and immature oligodendrocytes (NG2). (C) Representative image of JC-1 red and green fluorescence after ICV injections of the dye into the lateral ventricle of a euthyroid mice. Coronal sections were treated for immunohistochemistry using antibodies against DCX (purple). Scale bar: 10 μm (D) JC-1 red on green fluorescence values for EGFR+, NG2+ and DCX+ cells located in the latero-dorsal part of the SVZ of euthyroid and hypothyroid (2 or 3 wks) adult mice. EUTHYROID: $n = 16$, HYPOTHYROID 2 wks: $n = 14$, HYPOTHYROID 3 wks: $n = 9$. p-Value: * <0.05 , ** <0.01 , *** <0.001 , **** <0.0001 . Kruskal–Wallis test followed by a Dunn's multiple comparison post-hoc test. (E–I) ROS production is increased by T_3 *in vitro* and is higher in DCX+ cells. (E) HET nuclear intensity after 7 d differentiation of adult NSC in different conditions of T_3 availability and in the presence or absence of MitoTEMPO (20 μM). Administration of MitoTEMPO counteracts T_3 -induced increase in ROS production. (F) HET nuclear intensity after 24 h of adult NSC differentiation in control medium or with T_3 (5 or 50 nM) in DCX+ and OLIG2+ cells. (G) HET nuclear intensity after 7 d of adult NSC differentiation in control medium or with addition of T_3 (5 or 50 nM) in DCX+ and OLIG2+ cells. (H) Relative proportion of OLIG2+ and DCX+ cells after 24 h differentiation for each dose of T_3 , in presence or absence of oligomycin (1 μM). (I) Representative immunocytochemistry on cells differentiated for 24 h in control conditions (DMSO) or oligomycin (1 μM) (OLIG2: green, and DCX: red). p-Value: * <0.05 , ** <0.01 , *** <0.001 , **** <0.0001 . ns: non-significant; Kruskal–Wallis followed by Mann–Whitney tests.

Original Article

($p < 0.01$) (Figure 2D, left panel). The significantly higher level of JC-1 ratios in DCX+ neuroblasts *versus* EGFR+ NSC/progenitors or NG2+ OPCs was lost in hypothyroid mice (3w, Figure 2D right panel), due to a strong decrease in mitochondrial activity in the DCX+ cells that was more marked as a function of duration of hypothyroidism. Three weeks hypothyroidism significantly reduced JC-1 ratios in DCX+ cells compared to 2 w ($p > 0.5$) (Figure 2D).

Increased mitochondrial activity drives reactive oxygen species (ROS) production. We used hydroethyryne (HET) to measure ROS production within different cell types derived from adult NSCs *in vitro*. In the presence of the superoxide anion (O_2^-), the main species of ROS, HET, is oxidized to form ethidium bromide (EB), which intercalates with DNA, staining nuclei red [24]. To confirm that HET signal relates to mitochondrial activity, we quantified nuclear HET in cells differentiated in the presence of MitoTEMPO, a mitochondria specific ROS-scavenger, $\pm T_3$ (50 nM). ROS scavenging by MitoTEMPO did not significantly reduce HET nuclear intensity in control cells but significantly abrogated the T_3 -dependent increase in ROS production (Figure 2E). Thus, T_3 -dependent mitochondrial activity increases ROS production in neurospheres that have been dissociated and allowed to differentiate. We used HET to quantify ROS production in OLIG2+ and DCX+ cells after 24 h and 7 d *in vitro* differentiation. DCX+ neuroblasts produced more ROS than OLIG2+ OPC and immature OL at both differentiation times in control conditions (Figure 2F and G), confirming results obtained with JC-1 *in vivo* (Figure 2D). Adding T_3 to the differentiation medium increased ROS production in both lineages, at each time point, but DCX+ cells always displayed significantly higher ROS production (Figure 2F and G). Additionally, neuroblasts were more T_3 sensitive: DCX+ cells responding significantly to 5 nM T_3 at 24 h whereas OLIG2+ OPCs did not (Figure 2F). To investigate whether blocking mitochondrial activity affected cell fate choice, we used oligomycin [25]. Figure 2H and I shows that oligomycin significantly increased the proportion of OLIG2+ cells at the expense of DCX+ neuroblasts in all conditions. Thus, 50 nM T_3 is not sufficient to counteract the effect of blocking mitochondrial activity with oligomycin.

Overall, these results show T_3 availability to induce mitochondrial activity and ROS production, steps required for adult NSC determination to a neuroblast phenotype. In contrast, OLIG2+ cells are less sensitive to T_3 , only responding to high concentrations (24 h, 50 nM T_3). Even after 7 d OLIG2+ cells still displayed lower mitochondrial activity than DCX+ neuroblasts.

3.2. The mitochondrial activity regulator SIRT1 is expressed in a fate-specific manner

We next analyzed interactions between TH and another regulator of cell metabolism and mitochondrial biogenesis, the protein-deacetylase SIRT1. SIRT1 maintains the undifferentiated state of adult NSCs/progenitors and its expression decreases as a function of neuronal and oligodendrocyte differentiation [26,27]. As SIRT1 is a coactivator of TR β and Tr α [28] it could influence TH effects on metabolic changes during NSC fate decisions.

SIRT1 was expressed in a large subset of SOX2+ cells *in vivo*, but virtually excluded from SOX10+ OPCs (Figure 3A, upper panels). In contrast, we found a positive correlation between SIRT1 and DLX2 and SIRT1 expression in most, but not all, SVZ DCX+ neuroblasts (Figure 3A lower panels). We then tested how TH availability modulated SIRT1+ cell numbers in the dorsal SVZ. Hypothyroidism (3w) significantly decreased SIRT1+ numbers (Figure 3B). To investigate this further, we carried out *in vitro* experiments analyzing SIRT1 expression as a function of lineage. Figure 3C shows that after 1 h, 24 h or 7 d

differentiation, SIRT1 was expressed in most high SOX2-expressing OLIG2+ OPCs (proliferating OPCs), but was largely excluded from OLIG2+SOX2- cells maturing toward an oligodendrocyte phenotype. Notably, DCX+ neuroblasts predominantly expressed SIRT1, while less than 10% OLIG2+SOX2- cells expressed it (Figure 3D). All DLX2+ NPCs expressed SIRT1 at 1 h, 24 h and 7 d differentiation with or without T_3 (Figure S3A and B). These results confirm the *in vivo* observations of preferential maintenance of SIRT1 in cells undergoing determination toward a neuronal rather than an oligodendrocyte phenotype. Interestingly, TH availability did not appear to affect SIRT1 expression within each lineage (Figure 3E).

3.3. T_3 preferentially activates the fission-inducing factor DRP1 in cells acquiring a neuronal fate

We next tested whether T_3 availability modulates mitochondrial fission through DRP1 activation (phosphorylation) during neurogenesis and if this process occurs in a fate-specific manner during the glycolysis to OXPHOS metabolic switch. We first analyzed which cell types express the Ser616 phosphorylated form of DRP1 (pDRP1^{S616}), usually associated with fission. pDRP1^{S616} was mainly found in a sub-population of SOX2_{low} committed progenitors and in neuronal lineage cells (DLX2+ and DCX+), but not in SOX10+ or OLIG2+ OPCs (Figure 4A). Further, there was an overall decrease in the pDRP1^{S616} signal in hypothyroid mice (Figure 4B), revealing a global reduction of pDRP1^{S616} cells, consistent with decreased neuroblast numbers (Figure 1B and C). CDK1 mediates Ser616 activating DRP1 phosphorylation [29,30] while CDK5-mediated Ser616 phosphorylation of DRP1 inhibits mitochondrial fission during neuronal maturation [31]. To assess the activating or inhibiting nature of pDRP1^{S616} in the adult SVZ cells *in vivo*, we analyzed CDK5 and CDK1 expression. While CDK1 was found in DCX+ neuroblasts, CDK5 was not, confirming the fission-activating nature of pDRP1^{S616} in differentiating neuroblasts (Figure S4).

To characterize more precisely phosphorylation-dependent DRP1 activation in each cell lineage, we used *in vitro* studies to quantify total DRP1 and pDRP1^{S616} in differentiating cells. After 24 h, pDRP1^{S616} was low in SOX2+ progenitors and increased significantly as a function of differentiation in both lineages (Figure 4C). Although significant, the increase was only 20% during differentiation from SOX2+/OLIG2- to SOX10+, and from OLIG2+ OPCs and immature OLs. In contrast, during SOX2+ cell determination to DLX2+ NPCs and DCX+ neuroblasts it was >300% (Figure 4C–E and Figure S5A–C). Quantifying total DRP1 in different cell types showed that DRP1 protein levels were opposite to changes in pDRP1^{S616} signal, underlining that increased DRP1 phosphorylation correlates with differentiation (Figure 4F and Figure S5D–F). After 7 d differentiation, pDRP1^{S616} levels were reduced in DCX+ neuroblasts, showing no difference with those in OLIG2+ cells (Figure 4H). Thus, DRP1 activation peaks during neuronal determination, and decreases with maturation.

T_3 effects on DRP1^{S616} in DCX+ neuronal versus OLIG2+ glial cells at 24 h and 7 d differentiation were assessed next. At 24 h differentiation, T_3 (5 nM) significantly increased pDRP1^{S616} in DCX+ cells, but not in OLIG2+ cells (Figure 4G). After 7 d differentiation, the only increase in pDRP1^{S616} intensity was seen in the neuronal lineage, again in response to T_3 (5 nM) (Figure 4H). Differences in pDRP1^{S616} signal were not accounted for by increased DRP1 expression as there were no major differences in DRP1 levels in OLIG2+ and DCX+ cells. Similarly, smaller responses to T_3 (5 nM) were limited to neuroblasts (Figure S5H and I). Overall, these results demonstrate that T_3 specifically induces DRP1 phosphorylation at early stages of NSC/progenitor cell determination toward a neuronal fate.

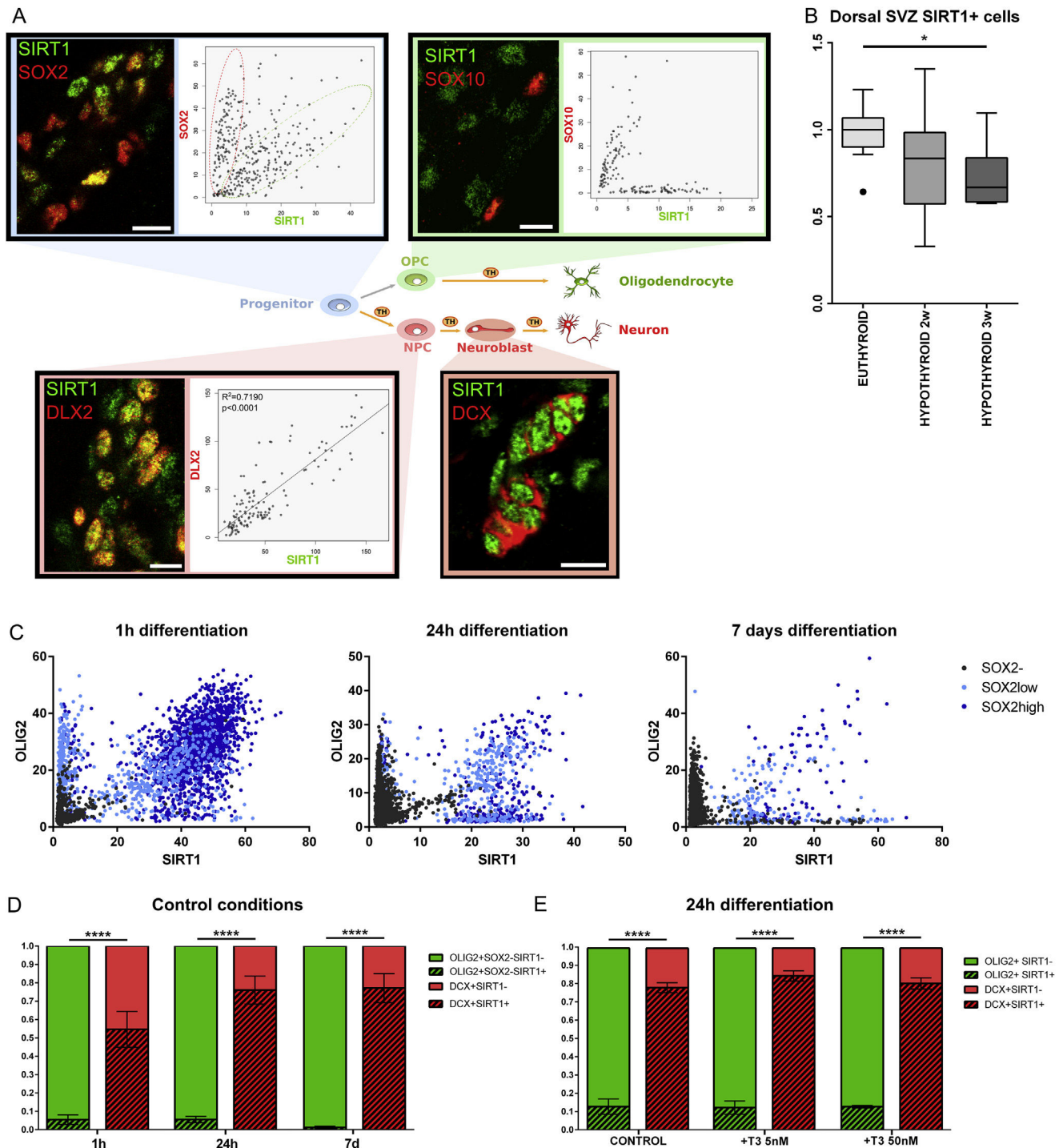


Figure 3: SIRT1 expression is maintained at early stages of neuroblast determination. (A) *In vivo* co-immuno-stainings performed on wild-type adult mice SVZ. SIRT1 (green) expression is detected in a sub-population of SOX2+ progenitors and is mainly excluded from SOX10+ OPCs. SIRT1 is positively correlated with DLX2 expression in neuronal precursor cells ($R^2 = 0.719$, $p < 0.0001$), and expression is maintained in most DCX+ neuroblasts. (B) Quantification of the number of SIRT1+ cells in the dorsal SVZ of euthyroid and hypothyroid (2 and 3 wks) adult mice. Four experiments were pooled, $n = 12$ euthyroid, $n = 10$ hypothyroid 2 wks, $n = 6$ hypothyroid 3 wks (C) SIRT1/OLIG2 cell by cell nuclear relative fluorescence after 1 h, 24 h or 7 d of differentiation *in vitro*. SOX2 positive cells are represented by blue dots. (D) Proportion of DCX+ and OLIG2+ cells positive for SIRT1 after 1 h, 24 h and 7 d differentiation in control conditions. (E) Proportion of DCX+ and OLIG2+ cells positive for SIRT1 after 24 h differentiation in control medium or with T_3 (5 and 50 nM). p-Value: * <0.05 , **** <0.0001 . Kruskal–Wallis followed by Mann–Whitney tests.

4. DISCUSSION

Adult NSC-driven neurogenesis generates both neurons and glial cells [4], processes that require precise control of NSC fate decisions. THs

commit NSCs to a neuronal phenotype [6]. Here we show that TH signaling favors neuronal fate in the adult SVZ through induction of mitochondrial respiration. Studying how TH signaling and mitochondrial metabolism affect NSC decisions requires specific markers of

Original Article

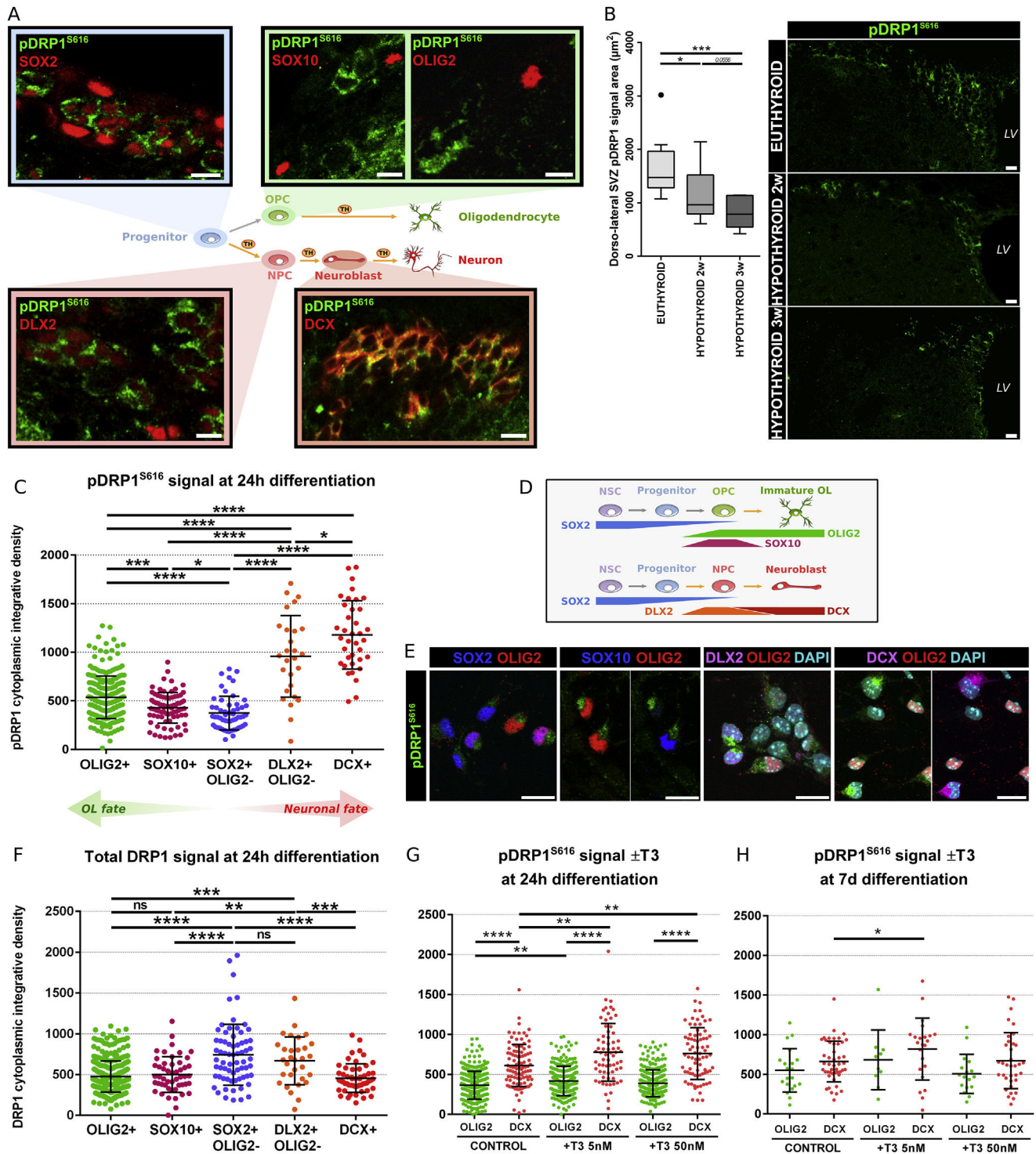


Figure 4: Thyroid hormones activate DRP1 phosphorylation in cells adopting a neuronal fate. (A–B) pDRP1^{S616} is mainly expressed in cells adopting a neuronal fate *in vivo* and decreased following a short-term hypothyroidism. (A) Immunohistochemistry stainings performed on wild-type adult mice SVZ using antibodies against pDRP1^{S616} (green), DLX2, DCX, SOX2, SOX10, and OLIG2 (red). pDRP1^{S616} is expressed in SOX2^{low} more committed progenitor cells, DLX2+ neuronal precursor cells (NPC) and DCX+ neuroblasts. pDRP1 is not detectable in SOX2^{high} early progenitors nor in SOX10+ and OLIG2+ oligodendrocyte precursor cells (OPC). (B) Immunohistochemistry showing pDRP1^{S616} expression in dorsal SVZ and quantification of pDRP1^{S616} signal in dorsal SVZ of euthyroid and hypothyroid (2 and 3 wks) adult mice. n = 12 (EUTHYROID and HYPOTHYROID 2 wks) or n = 7 (HYPOTHYROID 3 wks). Scale bar: 10 μm (C–H) DRP1 Ser616 phosphorylation is higher in the neuronal lineage and T₃ activate DRP1 phosphorylation. (C) Quantification of pDRP1^{S616} cytoplasmic signal of SOX2+, SOX10+, OLIG2+, DLX2+, and DCX+ cells after 24 h of NSC differentiation *in vitro*. Co-immunostainings were done with antibodies directed against pDRP1^{S616}, OLIG2, and a third marker (SOX2, SOX10, DLX2, DCX). (D) Markers used for specific cell type detection. (E) Representative images of pDRP1^{S616} immunostainings at 24 h differentiation. Scale bar: 10 μm. (F) Quantification of total DRP1 cytoplasmic signal in SOX2+, SOX10+, OLIG2+, DLX2+ and DCX+ cells after 24 h differentiation. (G–H) Quantification of the cytoplasmic signal of pDRP1^{S616} in OLIG2+ and DCX+ cells after 24 h and 7 d differentiation in control conditions or with T₃ (5 nM or 50 nM). p-Value: * < 0.05, ** < 0.01, *** < 0.001, **** < 0.0001. Kruskal–Wallis followed by Mann–Whitney tests.

early neuroblast determination. We demonstrate that DLX2 expression is specific to NPCs in the adult mouse SVZ, allowing the use of this marker to distinguish between NPC and OPC.

NSC rely primarily on glycolytic metabolism, whereas most mature neural cells use mainly OXPHOS-based energy [7]. Furthermore, oxygen availability impacts NSC differentiation capacity and whether the NSC becomes a neuron, an astrocyte, or an oligodendrocyte [13,32]. We show first, that the transition toward an OXPHOS-based metabolism occurs in the neurogenic lineage during early cell-fate commitment and, second, that it is a TH-dependent process. Further, our results show that this metabolic switch occurs simultaneously with activation of mitochondrial fission through phosphorylation of DRP1, also induced by THs. Lastly, expression of the metabolic regulator SIRT1 is preferentially maintained in cells differentiating to neuroblasts. These experiments thus underline the importance of TH-dependent activation of mitochondrial OXPHOS during adult NSC determination to a neuronal phenotype. In the glial lineage, there is also a switch to OXPHOS-based metabolism, but this occurs later in the differentiation process.

We also show mitochondrial activity and ROS production to be higher in cells differentiating to a neuronal than to a glial lineage in the adult brain. This result corroborates the observation that, in contrast to neurons, mature glial cells maintain high rates of glycolysis, allowing a better adaptability to metabolic stress [33,34]. Further, the JC-1 data showed that the decreased numbers of cells differentiating to neuroblasts in hypothyroid conditions was accompanied by a diminished cellular respiration in this cell type, confirming the crucial role of TH signaling in modulating mitochondrial respiration during cell determination. Another result showing that mitochondrial activity is essential for TH-induction of NSC fate determination came from use of oligomycin, an inhibitor of mitochondrial ATP synthase. Applying this drug overrode TH induction of neuroblast determination. Thus, TH induction of neuroblast cell fate requires mitochondrial OXPHOS activity.

Differential expression of TR coregulators could be another important modulator of TH influence on NSC fate choice. The NAD⁺-dependent deacetylase SIRT1 can act as a coactivator for TR β and TR α [28,35]. SIRT1 is known to be involved in regulating several metabolic pathways, especially mitochondrial function through PGC1 α and AMPK [36–38]. SIRT1 also has an important role in stemness maintenance by directly regulating SOX2 [39], OCT4 [40] and NANOG [41], three major transcription factors required for pluripotency and inhibition of differentiation. As expected, our results show that SIRT1 is largely expressed in adult NSC-derived SOX2⁺ progenitors, but also preferentially maintained in early differentiation stages of the neuronal lineage. In contrast, virtually no SOX10⁺/OLIG2⁺ engaged OPCs still expressed this deacetylase. Although a decrease in the total number of SIRT1⁺ cells was observed *in vivo* in the SVZ of hypothyroid mice, we saw no significant change in SIRT1 expression in either OLIG2⁺ or DCX⁺ cells when modifying T₃ availability *in vitro*. The decrease seen in hypothyroid mice *in vivo* correlates with the observed decrease in DLX2⁺ and DCX⁺ cells, confirming SIRT1 expression maintenance in the neuronal lineage. It can be hypothesized that while SIRT1 is repressed in pluripotency of SOX2⁺ progenitors when differentiation starts, its roles as TR coactivator and mitochondrial metabolism modulator are boosted during early neuronal but not early OL determination. Which factors induce SIRT1 in the neuronal lineage will be an interesting question to address in future studies.

Besides SIRT1, TH signaling impacts other modulators of mitochondrial metabolism, either through TH nuclear receptors or through non-genomic processes. T₃ promotes DRP1 localization on mitochondria [16], where the protein can induce fission. We showed that T₃ induces

DRP1 activation through phosphorylation of its Ser616 residue, an event that enables DRP1 translocation to the mitochondrial membrane. Though our results showed a slight decrease in DRP1 expression during NSC differentiation, we observe a clear increase in the amount of pDRP1^{S616}, that is much larger in DLX2⁺ NPCs than in SOX10⁺ OPCs. It is worth noting that repression of DRP1 *in vitro* is known to lead to a reduction in oxygen consumption [42]. Thus, cell fate-dependent induction of mitochondrial activity by THs occurs through changes in mitochondrial dynamics, and particularly modulation of mitochondrial fission. This result adds to previous published findings showing that DRP1 is required for reduction of *Sox2*, *Oct4*, and *Nanog* pluripotency genes during embryonic neurogenesis [43]. Furthermore, it is consistent with the increased mitochondrial dissemination observed during neuronal differentiation and maturation [44]. Fission allows mitochondria to disperse inside the cell, a process likely linked to axonal and dendritic development.

These results lead to the conclusion that local control of TH signaling affects mitochondrial activity and cell fate determination. THs could impact mitochondrial metabolism of differentiating NSCs through different modes of action. Through nuclear TR, T₃ can activate expression of both PGC1 α and TFAM, two factors inducing mitochondrial protein expression and biogenesis, processes, which in turn increase mitochondrial dynamics [45–47]. But THs have also been shown to increase mitochondrial respiration efficiency through non-nuclear early effects [48,49]. What is more, two truncated variants of TR α , p28 and p43, are found specifically in mitochondria [50,51]. T₃ induces p28 import into mitochondria inner membrane, where the respiratory chain is located, but the precise function of p28 is not yet known [52]. However, it is known that p43 activates mitochondrial protein synthesis and mitochondrial biogenesis in presence of T₃ [53–56]. Thus, these processes could be important for early influence of THs on mitochondrial metabolism and further accompany nuclear receptor-mediated T₃ effects on mitochondrial biogenesis during NSC determination.

5. CONCLUSIONS

Our results show that THs favor adult NSC fate choice toward a neuronal phenotype in the adult sub-ventricular zone (SVZ) through induction of mitochondrial respiration. Mitochondrial activity and ROS production are higher in cells differentiating to a neuronal than to a glial lineage in the adult brain and are influenced by THs. SIRT1 is preferentially maintained in cells engaged in a neuronal differentiation, but does not appear to be directly impacted by TH availability. We also show that THs promote DRP1 activating phosphorylation preferentially in cells acquiring a neuronal fate, in line with the idea of an increase in mitochondrial dynamics and dissemination during cell determination. Further research on how metabolic controls contribute to NSC fate decision processes in the adult brain will be critical in the context of neurodegenerative diseases, both to understand mechanisms underlying disease susceptibility and progression and to develop strategies to direct neurogenesis to neuronal or glial cell fates.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization, J.-D.G., B.A.D. and S.R.; Methodology, J.-D.G., S.R. and A.S.; *In vivo* experiments, J.-D.G., S.R., M.L., M.P.-J.; *In vitro* experiments, A.S., J.-D.G., C.L., C.N.V., K.L.B.; Image acquisition, J.-D.G., A.S., M.L., C.N.V., M.P.-J.; Analyses, J.-D.G., A.S., M.L., C.N.V.; Writing, J.-D.G., B.A.D. and S.R.

Original Article

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), the Museum National d'Histoire Naturelle (MNHN), the EU FP7 contract Thyrage (Grant no. 666869), ANR grants Thrast (ANR-11-BSV2-019-02) and OLGA (ANR-14-CE13-0022). J.-D.G. received PhD grants from région Île-de-France DIM Cerveau&Pensée and fondation pour la recherche médicale (FRM) (FDT20160435031). We thank M.-S. Aigrot for advice on experimental techniques, M. Gêze for technical assistance, S. Sosinsky and F. Uridat for the excellent animal care.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest that would prejudice the impartiality of this scientific work.

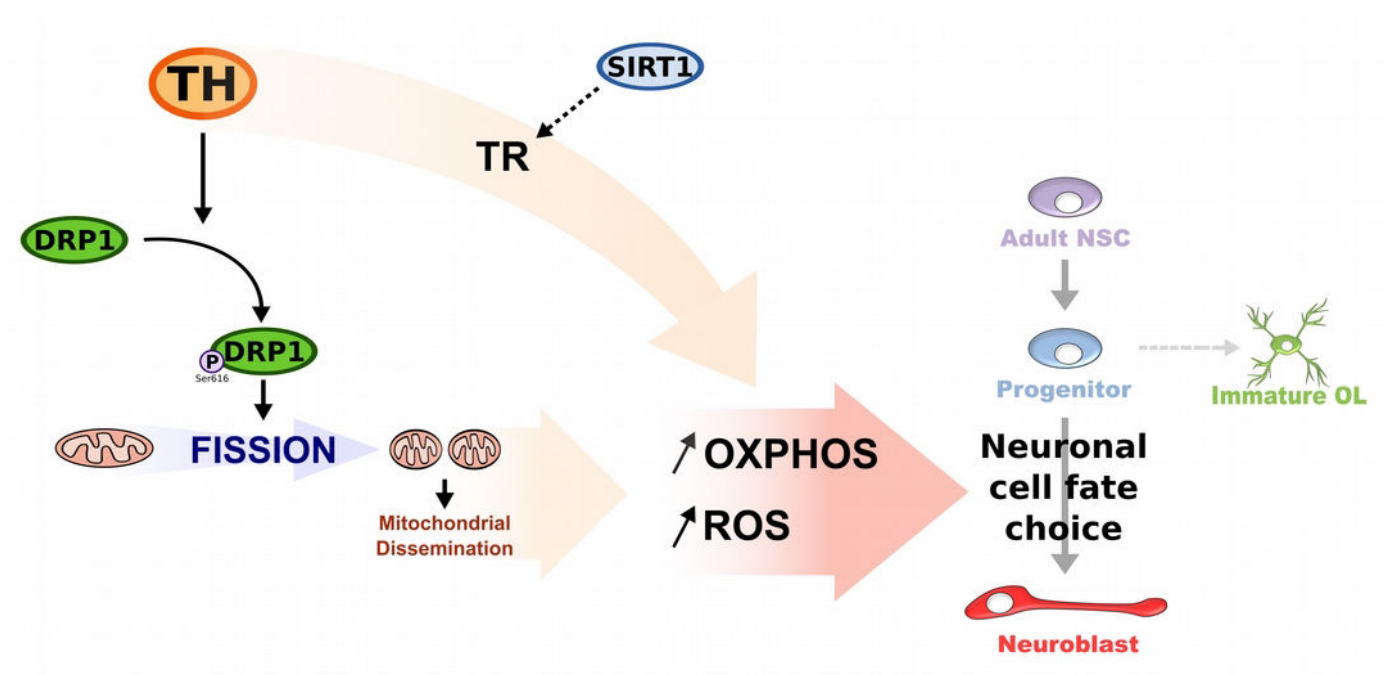
APPENDIX A. SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary data related to this article can be found at <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmet.2017.08.003>.

REFERENCES

- [1] Altman, J., 1962. Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science* 135(3509):1127–1128.
- [2] Doetsch, F., Caillé, I., Lim, D.A., Garcia-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 1999. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* 97(6):703–716.
- [3] Doetsch, F., Petreanu, L., Caille, I., Garcia-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 2002. EGF converts transit-amplifying neurogenic precursors in the adult brain into multipotent stem cells. *Neuron* 36(6):1021–1034.
- [4] Menn, B., Garcia-Verdugo, J.M., Yaschine, C., Gonzalez-Perez, O., Rowitch, D., Alvarez-Buylla, A., 2006. Origin of oligodendrocytes in the subventricular zone of the adult brain. *Journal of Neuroscience* 26(30):7907–7918.
- [5] Suzuki, S.O., Goldman, J.E., 2003. Multiple cell populations in the early postnatal subventricular zone take distinct migratory pathways: a dynamic study of glial and neuronal progenitor migration. *Journal of Neuroscience* 23(10):4240–4250.
- [6] López-Juárez, A., Remaud, S., Hassani, Z., Jolivet, P., Pierre-Simons, J., Sontag, T., et al., 2012. Thyroid hormone signaling acts as a neurogenic switch by repressing Sox2 in the adult neural stem cell niche. *Cell Stem Cell* 10(5):531–543.
- [7] Zheng, X., Boyer, L., Jin, M., Mertens, J., Kim, Y., Ma, L., et al., 2016. Metabolic reprogramming during neuronal differentiation from aerobic glycolysis to neuronal oxidative phosphorylation. *Elife* 5.
- [8] Ito, K., Suda, T., 2014. Metabolic requirements for the maintenance of self-renewing stem cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 15(4):243–256.
- [9] Lunt, S.Y., Vander Heiden, M.G., 2011. Aerobic glycolysis: meeting the metabolic requirements of cell proliferation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 27:441–464.
- [10] Shyh-Chang, N., Daley, G.Q., Cantley, L.C., 2013. Stem cell metabolism in tissue development and aging. *Development* 140(12):2535–2547.
- [11] Mohyeldin, A., Garzón-Muvdi, T., Quiñones-Hinojosa, A., 2010. Oxygen in stem cell biology: a critical component of the stem cell niche. *Cell Stem Cell* 7(2):150–161.
- [12] Pistollato, F., Chen, H.L., Schwartz, P.H., Basso, G., Panchision, D.M., 2007. Oxygen tension controls the expansion of human CNS precursors and the generation of astrocytes and oligodendrocytes. *Molecular and Cellular Neuroscience* 35(3):424–435.
- [13] De Filippis, L., Delia, D., 2011. Hypoxia in the regulation of neural stem cells. *Cellular and Molecular Life Sciences* 68(17):2831–2844.
- [14] da Silva, A.F., Mariotti, F.R., Máimo, V., Campello, S., 2014. Mitochondria dynamism: of shape, transport and cell migration. *Cellular and Molecular Life Sciences* 71(12):2313–2324.
- [15] Losó, O.C., Song, Z., Chen, H., Chan, D.C., 2013. Fis1, mff, Mid49, and Mid51 mediate Drp1 recruitment in mitochondrial fission. *Molecular Biology of the Cell* 24(5):659–667.
- [16] Sinha, R.A., Singh, B.K., Zhou, J., Wu, Y., Farah, B.L., Ohba, K., et al., 2015. Thyroid hormone induction of mitochondrial activity is coupled to mitophagy via ROS-AMPK-ULK1 signaling. *Autophagy* 11(8):1341–1357.
- [17] Weitzel, J.M., Iwen, K.A., 2011. Coordination of mitochondrial biogenesis by thyroid hormone. *Molecular and Cellular Endocrinology* 342(1–2):1–7.
- [18] Vaitkus, J.A., Farrar, J.S., Celi, F.S., 2015. Thyroid hormone mediated modulation of energy expenditure. *International Journal of Molecular Sciences* 16(7):16158–16175.
- [19] Bianco, A.C., Anderson, G., Forrest, D., Galton, V.A., Gereben, B., Kim, B.W., et al., 2014. American thyroid association guide to investigating thyroid hormone economy and action in rodent and cell models. *Thyroid* 24(1):88–168.
- [20] Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., et al., 2012. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods* 9(7):676–682.
- [21] Pozniak, C.D., Langseth, A.J., Dijkgraaf, G.J., Choe, Y., Werb, Z., Pleasure, S.J., 2010. Sox10 directs neural stem cells toward the oligodendrocyte lineage by decreasing Suppressor of Fused expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* 107(50):21795–21800.
- [22] Brown, J.P., Couillard-Després, S., Cooper-Kuhn, C.M., Winkler, J., Aigner, L., Kuhn, H.G., 2003. Transient expression of doublecortin during adult neurogenesis. *Journal of Comparative Neurology* 467(1):1–10.
- [23] Jones, K.S., Connor, B.J., 2016. The effect of pro-neurogenic gene expression on adult subventricular zone precursor cell recruitment and fate determination after excitotoxic brain injury. *Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine* 12(1):25–35.
- [24] Zhao, H., Kaivendi, S., Zhang, H., Joseph, J., Nithipatikom, K., Vázquez-Vivar, J., et al., 2003. Superoxide reacts with ethidium but forms a fluorescent product that is distinctly different from ethidium: potential implications in intracellular fluorescence detection of superoxide. *Free Radical Biology and Medicine* 34(11):1359–1368.
- [25] Lardy, H.A., Johnson, D., McMurray, W.C., 1958. Antibiotics as tools for metabolic studies. I. A survey of toxic antibiotics in respiratory, phosphorylative and glycolytic systems. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 78(2):587–597.
- [26] Rafalski, V.A., Ho, P.P., Brett, J.O., Ucar, D., Dugas, J.C., Pollina, E.A., et al., 2013. Expansion of oligodendrocyte progenitor cells following SIRT1 inactivation in the adult brain. *Nature Cell Biology* 15(6):614–624.
- [27] Saharan, S., Jhaveri, D.J., Bartlett, P.F., 2013. SIRT1 regulates the neurogenic potential of neural precursors in the adult subventricular zone and hippocampus. *Journal of Neuroscience Research* 91(5):642–659.
- [28] Suh, J.H., Sieglaff, D.H., Zhang, A., Xia, X., Cvor, A., Winnier, G.E., et al., 2013. SIRT1 is a direct coactivator of thyroid hormone receptor β 1 with gene-specific actions. *PLoS One* 8(7):e70097.
- [29] Yamano, K., Youle, R.J., 2011. Coupling mitochondrial and cell division. *Nature Cell Biology* 13(9):1026–1027.
- [30] Taguchi, N., Ishihara, N., Jofuku, A., Oka, T., Mihara, K., 2007. Mitotic phosphorylation of dynamin-related GTPase Drp1 participates in mitochondrial fission. *Journal of Biological Chemistry* 282(15):11521–11529.
- [31] Cho, B., Cho, H.M., Kim, H.J., Jeong, J., Park, S.K., Hwang, E.M., et al., 2014. CDK5-dependent inhibitory phosphorylation of Drp1 during neuronal maturation. *Experimental & Molecular Medicine* 46:e105.
- [32] Rafalski, V.A., Brunet, A., 2011. Energy metabolism in adult neural stem cell fate. *Progress in Neurobiology* 93(2):182–203.
- [33] Zhang, Y., Chen, K., Sloan, S.A., Bennett, M.L., Scholze, A.R., O'Keefe, S., et al., 2014. An RNA-sequencing transcriptome and splicing database of glia, neurons, and vascular cells of the cerebral cortex. *Journal of Neuroscience* 34(36):11929–11947.

- [34] Rone, M.B., Cui, Q.L., Fang, J., Wang, L.C., Zhang, J., Khan, D., et al., 2016. Oligodendroglialopathy in multiple sclerosis: low glycolytic metabolic rate promotes oligodendrocyte survival. *Journal of Neuroscience* 36(17):4698–4707.
- [35] Thakran, S., Sharma, P., Attia, R.R., Hori, R.T., Deng, X., Elam, M.B., et al., 2013. Role of sirtuin 1 in the regulation of hepatic gene expression by thyroid hormone. *Journal of Biological Chemistry* 288(2):807–818.
- [36] Rodgers, J.T., Lerin, C., Haas, W., Gygi, S.P., Spiegelman, B.M., Puigserver, P., et al., 2005. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1alpha and SIRT1. *Nature* 434(7029):113–118.
- [37] Lan, F., Cacicedo, J.M., Ruderman, N., Ido, Y., 2008. SIRT1 modulation of the acetylation status, cytosolic localization, and activity of LKB1. Possible role in AMP-activated protein kinase activation. *Journal of Biological Chemistry* 283(41):27628–27635.
- [38] Price, N.L., Gomes, A.P., Ling, A.J., Duarte, F.V., Martin-Montalvo, A., North, B.J., et al., 2012. SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. *Cell Metabolism* 15(5):675–690.
- [39] Yoon, D.S., Choi, Y., Jang, Y., Lee, M., Choi, W.J., Kim, S.H., et al., 2014. SIRT1 directly regulates SOX2 to maintain self-renewal and multipotency in bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 32(12):3219–3231.
- [40] Williams, E.O., Taylor, A.K., Bell, E.L., Lim, R., Kim, D.M., Guarente, L., 2016. Sirtuin 1 promotes deacetylation of oct4 and maintenance of naive pluripotency. *Cell Rep* 17(3):809–820.
- [41] Han, M.K., Song, E.K., Guo, Y., Ou, X., Mantel, C., Broxmeyer, H.E., 2008. SIRT1 regulates apoptosis and Nanog expression in mouse embryonic stem cells by controlling p53 subcellular localization. *Cell Stem Cell* 2(3):241–251.
- [42] Benard, G., Bellance, N., James, D., Parrone, P., Fernandez, H., Letellier, T., et al., 2007. Mitochondrial bioenergetics and structural network organization. *Journal of Cell Science* 120(Pt 5):838–848.
- [43] Wang, L., Ye, X., Zhao, Q., Zhou, Z., Dan, J., Zhu, Y., et al., 2014. Drp1 is dispensable for mitochondria biogenesis in induction to pluripotency but required for differentiation of embryonic stem cells. *Stem Cells and Development* 23(20):2422–2434.
- [44] Steib, K., Schäfer, I., Jagasia, R., Ebert, B., Lie, D.C., 2014. Mitochondria modify exercise-induced development of stem cell-derived neurons in the adult brain. *Journal of Neuroscience* 34(19):6624–6633.
- [45] Garstka, H.L., Fäke, M., Escibano, J.R., Wiesner, R.J., 1994. Stoichiometry of mitochondrial transcripts and regulation of gene expression by mitochondrial transcription factor A. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 200(1):619–626.
- [46] Wu, Z., Puigserver, P., Andersson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., et al., 1999. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell* 98(1):115–124.
- [47] Wulf, A., Harneit, A., Kröer, M., Kebenko, M., Wetzlar, M.G., Weitzel, J.M., 2008. T3-mediated expression of PGC-1alpha via a far upstream located thyroid hormone response element. *Molecular and Cellular Endocrinology* 287(1–2):90–95.
- [48] Palacios-Romero, R., Mowbray, J., 1979. Evidence for the rapid direct control both in vivo and in vitro of the efficiency of oxidative phosphorylation by 3,5,3'-tri-iodo-L-thyronine in rats. *Biochem J* 184(3):527–538.
- [49] Sterling, K., Brenner, M.A., Sakurada, T., 1980. Rapid effect of triiodothyronine on the mitochondrial pathway in rat liver in vivo. *Science* 210(4467):340–342.
- [50] Wrutniak, C., Cassar-Malek, I., Marchal, S., Rasclé, A., Heusser, S., Keller, J.M., et al., 1995. A 43-kDa protein related to c-Erb A alpha 1 is located in the mitochondrial matrix of rat liver. *J Biol Chem* 270(27):16347–16354.
- [51] Wrutniak-Cabello, C., Casas, F., Cabello, G., 2001. Thyroid hormone action in mitochondria. *Journal of Molecular Endocrinology* 26(1):67–77.
- [52] Pesseme, L., Lepourry, L., Bouton, K., Levin, J., Cabello, G., Wrutniak-Cabello, C., et al., 2014. p28, a truncated form of Trx regulates mitochondrial physiology. *FEBS Letters* 588(21):4037–4043.
- [53] Casas, F., Rochard, P., Rodier, A., Cassar-Malek, I., Marchal-Victorin, S., Wiesner, R.J., et al., 1999. A variant form of the nuclear triiodothyronine receptor c-ErbAalpha1 plays a direct role in regulation of mitochondrial RNA synthesis. *Molecular Cell Biology* 19(12):7913–7924.
- [54] Rochard, P., Rodier, A., Casas, F., Cassar-Malek, I., Marchal-Victorin, S., Daury, L., et al., 2000. Mitochondrial activity is involved in the regulation of myoblast differentiation through myogenin expression and activity of myogenic factors. *Journal of Biological Chemistry* 275(4):2733–2744.
- [55] Grandemange, S., Seyer, P., Carazo, A., Béuwe, P., Pesseme, L., Busson, M., et al., 2005. Stimulation of mitochondrial activity by p43 overexpression induces human dermal fibroblast transformation. *Cancer Research* 65(10):4282–4291.
- [56] Seyer, P., Grandemange, S., Rochard, P., Busson, M., Pesseme, L., Casas, F., et al., 2011. P43-dependent mitochondrial activity regulates myoblast differentiation and slow myosin isoform expression by control of Calcineurin expression. *Experimental Cell Research* 317(14):2059–2071.



Graphical Abstract

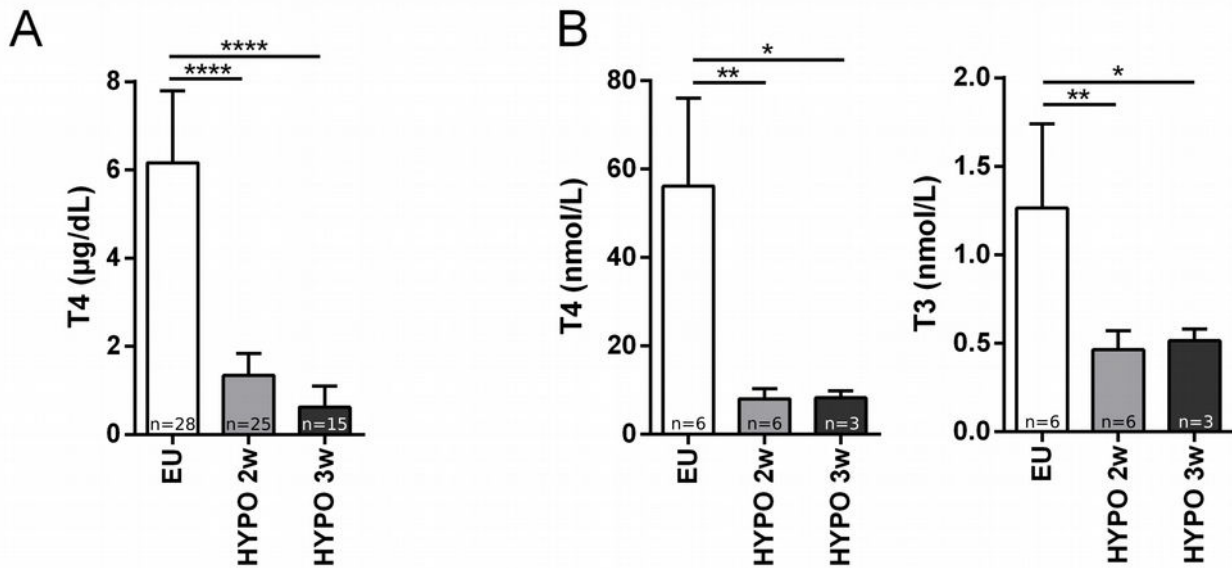


Figure S1: Serum concentrations of THs. (A) Concentration of total T4 in serums of euthyroid (EU) and hypothyroid adult mice (two and three weeks, HYPO 2w and HYPO 3w) used in this study, as measured by ELISA test. (B) Concentrations of T4 and T3 in serums of euthyroid (EU) and hypothyroid adult mice (two and three weeks, HYPO 2w and HYPO 3w) was measured with RIA tests in similar experiments carried out in our laboratory on the same mouse strain. Each bar represents the mean \pm SD. p-value: * <0.05 , ** <0.01 , **** <0.0001 . Kruskal-Wallis followed by Mann-Whitney tests.

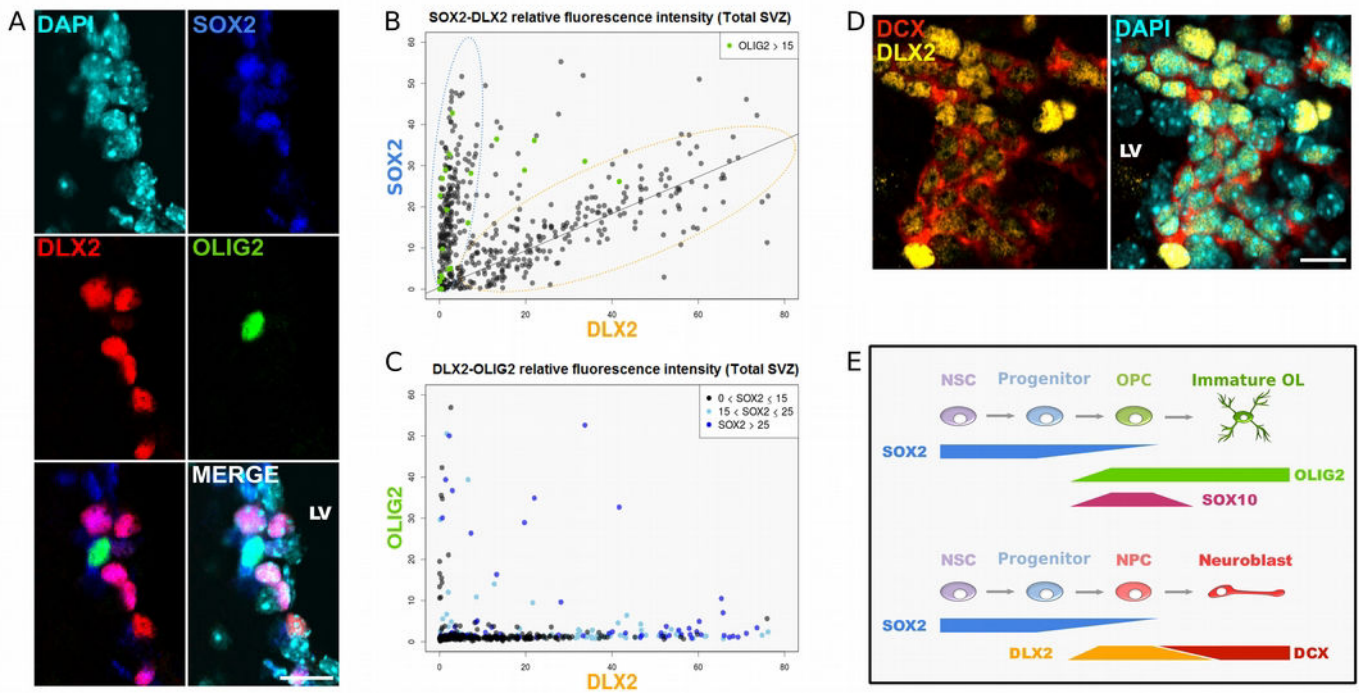


Figure S2: DLX2 expression is a marker of adult neuronal precursor cells. (A) SOX2, OLIG2 and DLX2 triple co-immunostaining in the adult mouse SVZ. (B) SOX2/DLX2 individual cell nuclear relative fluorescence. DLX2 and SOX2 signals correlate ($R^2=0.2802$, $p\text{-val}<0.0001$), suggesting that DLX2 expression decreases with differentiation. Cells expressing OLIG2 display different levels of SOX2 expression (green dots) and rarely expressed DLX2. (C) OLIG2/DLX2 individual cell nuclear relative fluorescence. SOX2⁻ cells are represented by grey dots, SOX2^{low} cells by light blue dots and other SOX2⁺ cells by dark blue dots. DLX2 is excluded from SOX2⁻ cells committed to the glial lineage (as shown by OLIG2 expression). (D) DCX and DLX2 co-immunostaining in the adult mouse SVZ. DCX cells express small amounts of DLX2. (E) Cell marker specificity during NSC differentiation toward neuroblast and oligodendrocyte phenotypes in the SVZ. NPC: Neuronal precursor cell; OPC: Oligodendrocyte precursor cell; Oligo.: Oligodendrocyte. Scale bars: 10 μ m. LV: Lateral ventricle.

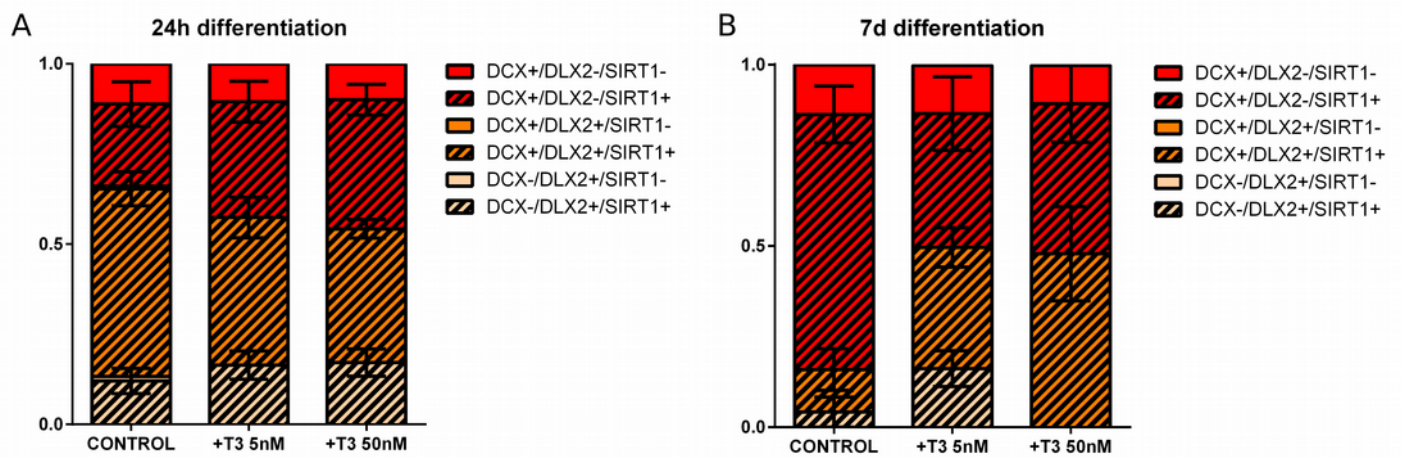


Figure S3: SIRT1 levels decrease during neuroblast differentiation and are maintained during commitment. (A) Proportion of DLX2+DCX-, DLX2+DCX+ and DLX2-DCX+ cells positive for SIRT1 after 24h differentiation in control medium or with T₃ (5 or 50 nM). (B) Proportion of DLX2+DCX-, DLX2+DCX+ and DLX2-DCX+ cells positive for SIRT1 after 7d differentiation in control medium or with T₃ (5 or 50 nM).

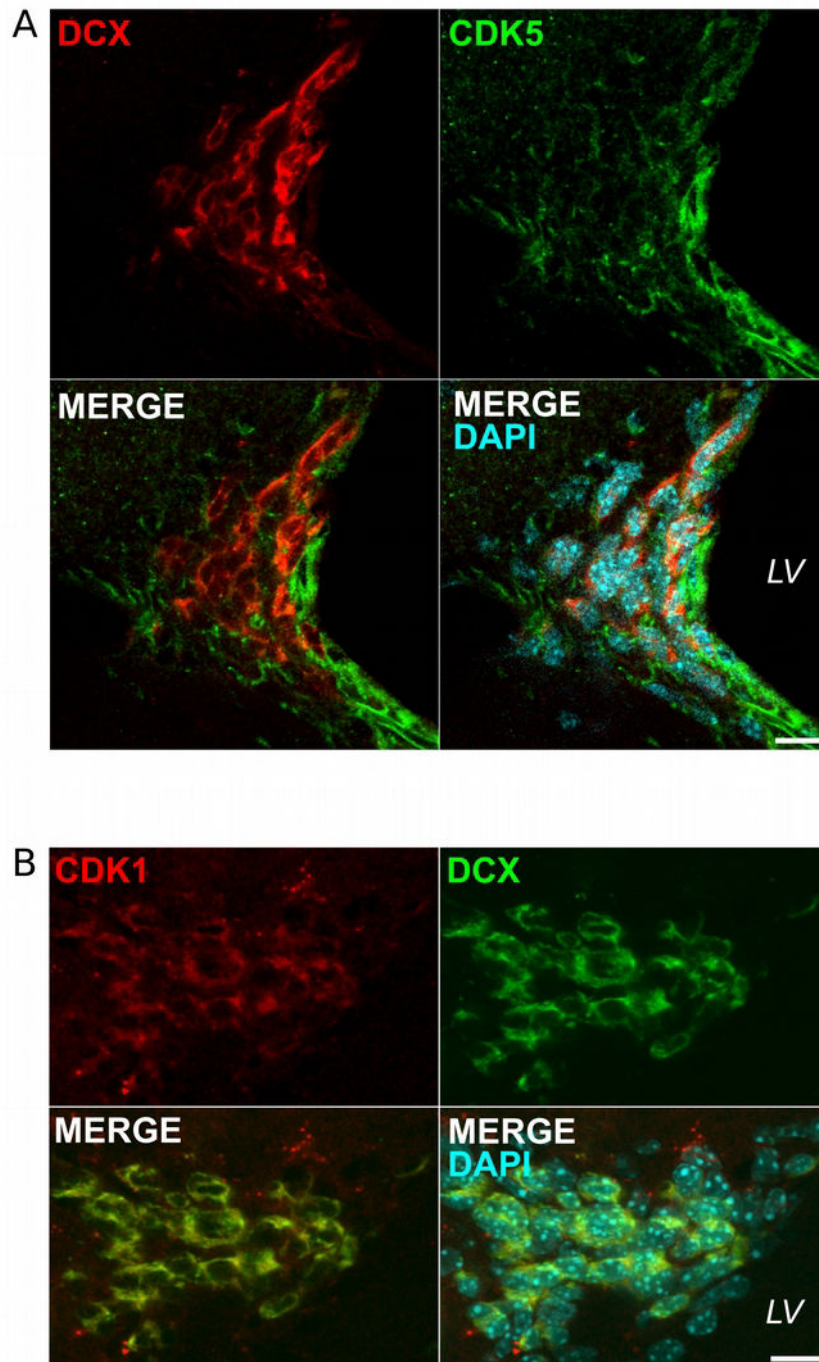


Figure S4: Fission-activating nature of DRP1 phosphorylation in neuroblasts is confirmed by CDK1 and CDK5 expression. (A) The inducer of a fission-inhibiting Ser616 DRP1 phosphorylation CDK5 is excluded from DCX+ neuroblasts. *In vivo* co-immuno-staining of DCX and CDK5 in the adult mouse SVZ. (B) The inducer of the fission-activating Ser616 DRP1 phosphorylation CDK1 is expressed by DCX+ neuroblasts. *In vivo* co-immuno-staining of DCX and CDK1 in the adult mouse SVZ. Scale bars: 10 μ m. LV: lateral ventricle.

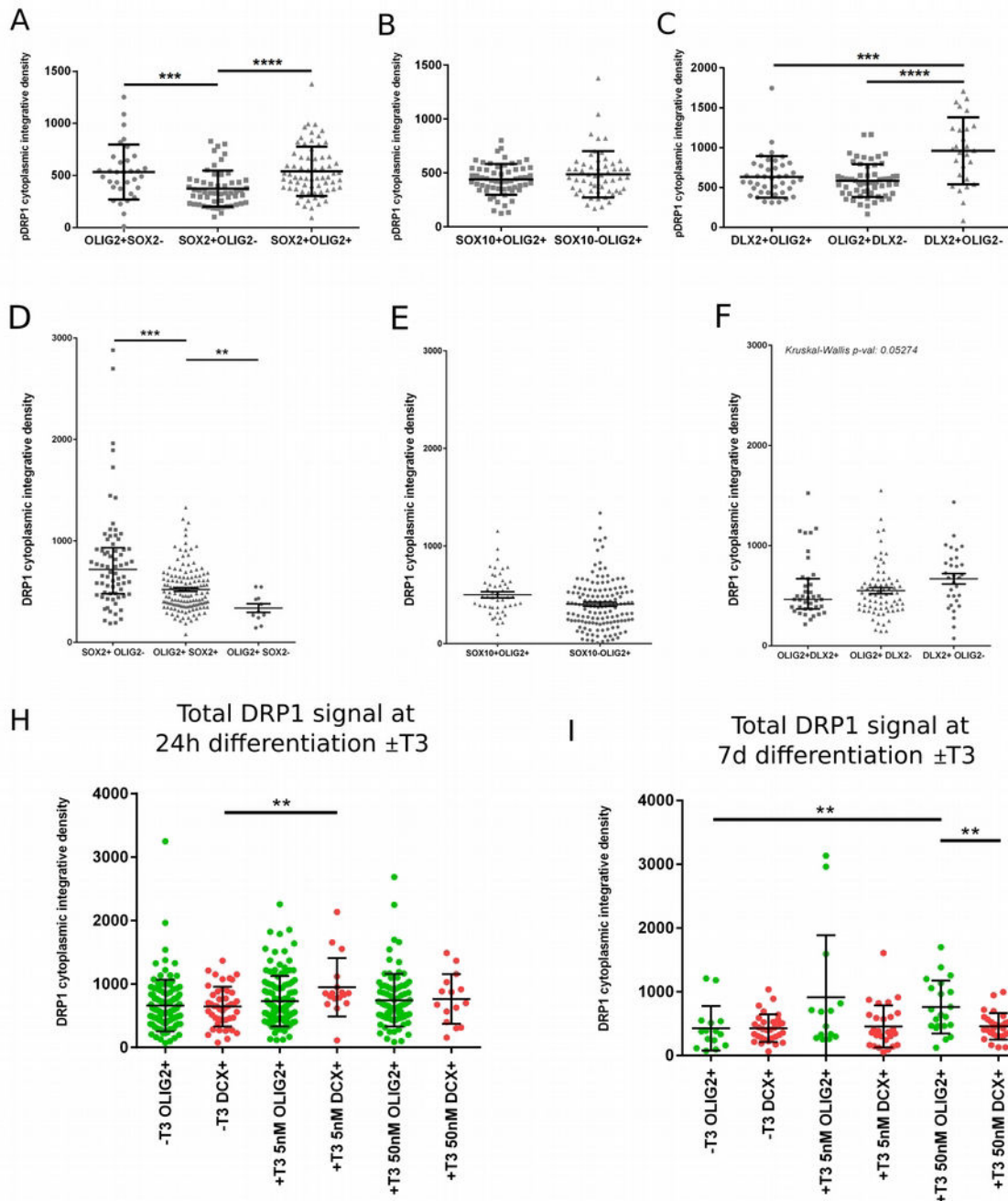


Figure S5: Detailed *in vitro* expression quantifications of total DRP1 and pDRP1^{S616} in different cell subtypes. (A-C) pDRP1^{S616} signal at 24h differentiation. (A) Quantification of pDRP1^{S616} in OLIG2+SOX2-, OLIG2+SOX2+ and OLIG2-SOX2+ cells. (B) Quantification of pDRP1^{S616} in OLIG2+SOX10- and OLIG2+SOX10+. No OLIG2-SOX10+ cells were found. (C) Quantification of pDRP1^{S616} in OLIG2+DLX2-, OLIG2+DLX2+ and OLIG2-DLX2+ cells. (D-G) Total DRP1 signal at 24h differentiation. (D) Quantification of total DRP1 in OLIG2+SOX2-, OLIG2+SOX2+ and OLIG2-SOX2+ cells. (E) Quantification of total DRP1 in OLIG2+SOX10- and OLIG2+SOX10+. No OLIG2-SOX10+ cells were found. (F) Quantification of total DRP1 in OLIG2+DLX2-, OLIG2+DLX2+ and OLIG2-DLX2+ cells. (G) Quantification of total DRP1 in OLIG2+DCX- and OLIG2+DCX+. No OLIG2+DCX+ cells were found. (H-I) Quantification of the

cytoplasmic signal of total DRP1 in OLIG2⁺ and DCX⁺ cells after 24h and 7d differentiation in control conditions or with of T₃ (5nM or 50nM).

2 **Supplemental experimental procedures**

3 **Antibodies, chemicals and Reagents**

| 4 | 5 Protein | 6 Cat no. | 7 Company/Source | 8 Species |
|----|---------------------------------|------------------|----------------------------|------------------|
| 7 | CDK1 | ab18 | Abcam | Mouse |
| 8 | CDK5 | sc-173 | Santa Cruz | Rabbit |
| 9 | DCX | sc-8066 | Santa Cruz | Goat |
| 10 | DCX | AB2253 | Millipore | Guinea Pig |
| 11 | DLX2 | | Gift from K. Yoshikawa lab | Guinea Pig |
| 12 | DRP1 | ABT155 | Millipore | Rabbit |
| 13 | DRP1 | 611112 | BD Biosciences | Mouse |
| 14 | phospho DRP1 (Ser616) | 3455 | Cell Signaling | Rabbit |
| 15 | EGFR | 06-847 | Millipore | Rabbit |
| 16 | HIF1A | ab2185 | Abcam | Rabbit |
| 17 | NG2 | AB5320 | Millipore | Rabbit |
| 18 | OLIG2 | MABN50 | Millipore | Mouse |
| 19 | OLIG2 | AB9610 | Millipore | Rabbit |
| 20 | PGC1A | sc-13067 | biotech Santa Cruz | Rabbit |
| 21 | SIRT1 | 07-131 | Millipore | Rabbit |
| 22 | SOX2 | sc-17320 | Santa Cruz | Goat |
| 23 | SOX2 | AB5603 | Millipore | Rabbit |
| 24 | SOX10 | | Gift from M. Wegner lab | Guinea Pig |
| 25 | | | | |
| 26 | Anti-Guinea Pig IgG (H+L) A488A | 11073 | Invitrogen | Goat |
| 27 | Anti-Guinea Pig IgG (H+L) A594A | 11076 | Invitrogen | Goat |
| 28 | Anti-Guinea Pig IgG (H+L) A647A | 21450 | Invitrogen | Goat |
| 29 | Anti-goat IgG (H+L) A488 | A11055 | Invitrogen | Donkey |
| 30 | Anti-goat IgG (H+L) A594 | A11058 | Invitrogen | Donkey |
| 31 | Anti-goat IgG (H+L) A647 | A-21447 | Invitrogen | Donkey |
| 32 | Anti-rabbit IgG (H+L) A488 | A21206 | Invitrogen | Donkey |
| 33 | Anti-rabbit IgG (H+L) A594 | A21207 | Invitrogen | Donkey |
| 34 | Anti-rabbit IgG (H+L) A647 | A31573 | Invitrogen | Donkey |
| 35 | Anti-mouse IgG (H+L) A488 | A21202 | Invitrogen | Donkey |
| 36 | Anti-mouse IgG (H+L) A594 | A21203 | Invitrogen | Donkey |
| 37 | Anti-mouse IgG (H+L) A647 | A31571 | Invitrogen | Donkey |

| 40 | 41 Reagent | 42 Cat No. | 43 Company |
|----|-------------------------------------|-------------------|-------------------|
| 42 | DMEM/NUT.MIX F-12 W/GLUT-I | 11514436 | Thermo Fisher |
| 43 | D-(+)-Glucose solution; Glucose 45% | G8769 | Sigma-Aldrich |
| 44 | Papaïne 100% | LS003126 | Worthington |

| | | | |
|----|---|-----------|---------------|
| 45 | DNase I 1% | LS002139 | Worthington |
| 46 | L-Cysteine hydrochloride monohydrate | 102735 | Merck |
| 47 | B27 Supplement (50X), Liquid 10mL | 17504044 | Thermo Fisher |
| 48 | N-2 Supplement (100X), Liquid, 5 ml | 11520536 | Thermo Fisher |
| 49 | EGF | AF-100-15 | Peptotech |
| 50 | FGF | 100-18B | Peptotech |
| 51 | HEPES buffer | 15630-049 | Thermo Fisher |
| 52 | Penicillin/streptomycin | 15140-122 | Thermo Fisher |
| 53 | Poly-D-lysine hydrobromide | P7280 | Sigma-Aldrich |
| 54 | | | |
| 55 | Phosphate buffered saline | P4417 | Sigma-Aldrich |
| 56 | | | |
| 57 | Insulin | I5500 | Sigma-Aldrich |
| 58 | | | |
| 59 | Insulin from bovine pancreas BioReagent, | | |
| 60 | suitable for cell culture | I6634 | Sigma-Aldrich |
| 61 | | | |
| 62 | | | |
| 63 | Dimethyl sulfoxide | D8418 | Sigma-Aldrich |
| 64 | | | |
| 65 | T3 3,3',5-Triiodo-L-thyronine sodium salt | | |
| 66 | powder suitable for cell culture | T6397 | Sigma-Aldrich |
| 67 | T4 L-Thyroxine suitable for cell culture | T1775 | Sigma-Aldrich |
| 68 | | | |
| 69 | Hydroethidine | D1168 | Thermo Fisher |
| 70 | | | |
| 71 | | | |
| 72 | | | |
| 73 | | | |
| 74 | | | |
| 75 | | | |
| 76 | | | |
| 77 | | | |
| 78 | | | |
| 79 | | | |
| 80 | | | |

I.3. Résultats complémentaires

Plusieurs expériences complémentaires à celles présentées dans l'article ont été réalisées. En plus de l'étude de l'influence de l'hypothyroïdisme présentée dans l'article, j'ai également quantifié *in vivo* l'effet d'une hyperthyroïdie sur le choix de destin des CSNs adultes. Des souris de deux mois ont ainsi été rendues hyperthyroïdiennes par ajout de T₄ dans l'eau de boisson durant deux semaines (voir **Matériels et méthodes**), et les cellules OLIG2⁺ et DCX⁺ ont été quantifiées. En parallèle, j'ai également souhaité confirmer l'influence des HTs sur la prolifération cellulaire dans la SVZ décrite en 2005 (Lemkine *et al.*, 2005). Pour cela j'ai quantifié le nombre de cellules en mitose dans la SVZ des souris eu-, hypo- et hyperthyroïdiennes, grâce à un anticorps dirigé contre la phospho-histone H3 (PH3). Si le dosage des HTs sériques a bien confirmé l'induction de l'hyperthyroïdie, il semble que les cellules de la SVZ en soient globalement protégées. En effet, peu de différences sont apparues entre euthyroïdiens et hyperthyroïdiens en termes de prolifération et de détermination cellulaire.

Dans le contexte de la caractérisation de la niche neurogénique, j'ai établi le profil d'expression de plusieurs protéines dans les cellules de la SVZ, parmi lesquelles la transthyréine (TTR), HIF1 α ou encore PGC1 α . Si l'on sait que la TTR est très exprimée par les cellules du plexus choroïde des ventricules latéraux, et particulièrement important pour le transfert de la T₄ dans le liquide céphalo-rachidien jusqu'aux cellules de la niche (voir **Introduction I.2.2.2.**), l'expression de la protéine de liaison par les cellules de la SVZ n'est pas encore connue. Ainsi, j'ai observé que la TTR est bien exprimée par plusieurs types cellulaires de la niche, et plus particulièrement par les cellules engagées vers un destin neuronal.

Par ailleurs, j'ai cherché quels types cellulaires expriment la protéine HIF1 α sous sa forme stabilisée. HIF1 α étant un acteur clé de la mise en place du métabolisme glycolytique (voir **Introduction III.3.1.** et **Figure 27**), il m'a en effet semblé intéressant de vérifier si il était exprimé et actif dans les cellules non-engagées de la niche, et de regarder s'il était maintenu dans une des voies de détermination. Si une quantification du signal nucléaire obtenu par immuno-marquage pour HIF1 α et pour SOX2 m'a permis d'identifier une corrélation positive entre les deux protéines *in vivo*, la qualité du marquage obtenu pour HIF1 α ne m'a cependant pas permis de conclure sur le maintien de son expression dans un lignage cellulaire.

La quantification du signal PGC1 α nucléaire dans les différents types cellulaires *in vitro* m'a fourni un résultat inattendu. En effet, là où nous pensions observer une augmentation de la protéine active avec la différenciation, j'ai identifié une forte expression dans les cellules SOX2⁺ et une diminution au cours de la différenciation. De légères différences apparaissent entre les lignages, mais là encore

la qualité variable du marquage entre plusieurs réplicats rend nécessaire le renouvellement de l'expérience, éventuellement avec un nouvel anticorps.

J'ai également mis au point un protocole de tri cellulaire par FACS afin de quantifier les types cellulaires présents après différenciation dans différentes conditions *in vitro*. Après plusieurs expériences de mise au point j'ai obtenu des résultats préliminaires intéressants sur des cellules mises en différenciation 24 heures en présence d'oligomycine ou d'une forte concentration en T_3 . L'utilisation d'un MitoTracker a permis d'estimer l'activité des mitochondries présentes dans les types cellulaires identifiés. Les marqueurs utilisés pour l'analyse FACS devront être mieux caractérisés et l'expérience renouvelée avant d'utiliser le protocole sur un trieur, qui nous permettrait d'utiliser des cellules d'un seul lignage pour des analyses et expérimentations complémentaires.

Enfin, l'utilisation d'un anticorps dirigé contre une protéine constitutive des mitochondries, TOMM20, a permis de visualiser la conformation des mitochondries en trois dimensions dans les cellules OLIG2⁺ et DCX⁺, cultivées *in vitro*. Nous avons ainsi pu quantifier différents paramètres pour caractériser la population mitochondriale des deux lignages après 24 heures de différenciation et ce, pour différentes concentrations en HTs. Cependant, un seul des deux réplicats réalisés montre des changements significatifs en présence de T_3 .

I.3.1. Dosages des HTs sériques

Le dosage des HTs présentes dans le sérum des animaux élevés en conditions hypo- et hyperthyroïdiennes a été effectué par dosages radio-immunologiques (*radioimmunoassays*, RIA), par une collaboratrice de l'Université d'Amsterdam, Anita Boelen. Nous avons ainsi pu obtenir des mesures de la T_3 et de la T_4 circulantes totales. Comme déjà indiqué dans l'article (Figure S1), les taux de T_3 et de T_4 des animaux hypothyroïdiens (deux ou trois semaines de traitement PTU) sont significativement inférieurs à ceux des animaux euthyroïdiens (Figures 37A et 37B). Les animaux ayant eu une eau de boisson supplémentée en T_4 présentent un taux de T_3 plus de quatre fois supérieur au groupe contrôle, et un taux de T_4 près de sept fois supérieur. Le traitement de deux semaines a donc bien permis l'induction d'une hyperthyroïdie.

I.3.2. Influence de l'hyperthyroïdie sur le destin des CSNs

À partir des images acquises au microscope confocal, les neuroblastes DCX⁺ et les OPCs OLIG2⁺ ont été quantifiés dans la SVZ d'animaux eu-, hypo- et hyperthyroïdiens. Comme décrit dans

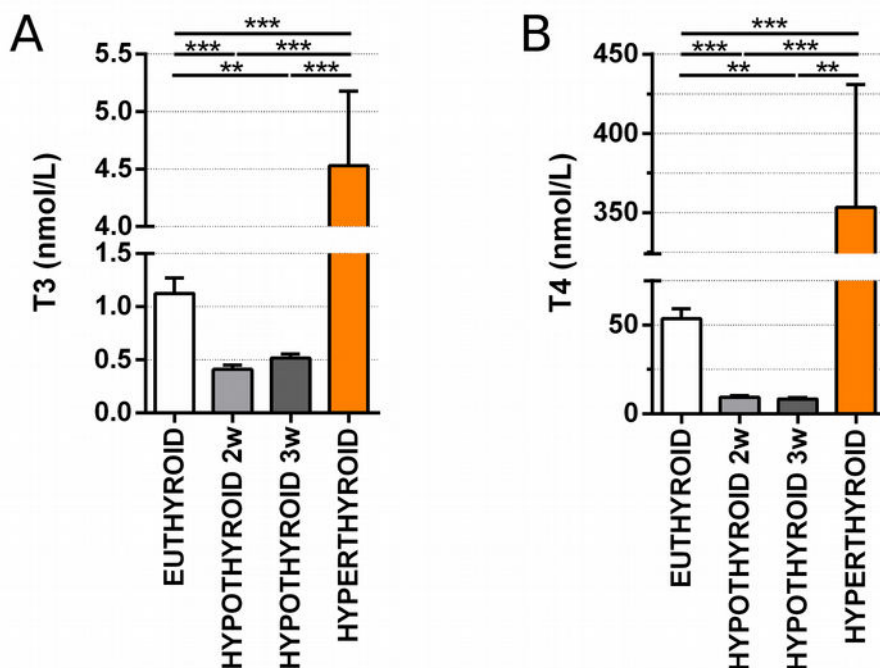


Figure 37: Concentrations en T₃ et T₄ sériques totales. (A) Taux de T₃ présente dans le sérum d'animaux traités avec un régime contrôle, avec un régime d'induction de l'hypothyroïdisme (PTU) pendant deux (2w) ou trois (3w) semaines, ou un régime d'induction de l'hyperthyroïdisme (T₄) pendant deux semaines. (B) Taux de T₄ présente dans le sérum d'animaux traités avec un régime contrôle, avec un régime d'induction de l'hypothyroïdisme pendant deux (2w) ou trois (3w) semaines, ou un régime d'induction de l'hyperthyroïdisme pendant deux semaines. Mesures par RIA. Moyennes +/- SEM. Tests de Kruskal-Wallis suivi de tests de Mann-Whitney. P-value : **<0.01 ; ***<0.001.

l'article, le signal DCX (cytoplasmique) a été quantifié dans la SVZ dorsale en mesurant la densité intégrée du signal, et le nombre de cellules OLIG2⁺ (signal nucléaire) a été quantifié le long de la SVZ latérale. De façon inattendue, la quantité de cellules DCX⁺ diminue légèrement dans la SVZ des animaux hyperthyroïdiens (Figure 38A) ; cependant la variabilité d'un animal à l'autre est très importante. Là où l'hypothyroïdie entraîne une augmentation du nombre de cellules engagées vers la voie gliale, aucun changement dans le nombre de cellules OLIG2⁺ n'apparaît entre la SVZ d'animaux euthyroïdiens et hyperthyroïdiens (Figure 38B). Ainsi, il semble qu'une hyperthyroïdie systémique n'a que peu ou pas d'influence sur le destin des CSNs. À l'inverse d'une déficience en HTs circulantes qui empêche les cellules de la niche d'avoir accès à un taux d'hormones adéquat pour leur différenciation, les cellules de la SVZ sont protégées contre un excès d'HTs. Des mécanismes de protection par la modulation de l'expression ou de l'activation des désiodases DIO2 et DIO3 et des transporteurs tels que MCT8 ou OATP1C1 pourraient par exemple entrer en jeu. On peut de plus supposer que la mise en place de cette protection contre les HTs pourrait être la cause de la légère diminution du nombre de neuroblastes observée chez les animaux hyperthyroïdiens. Il

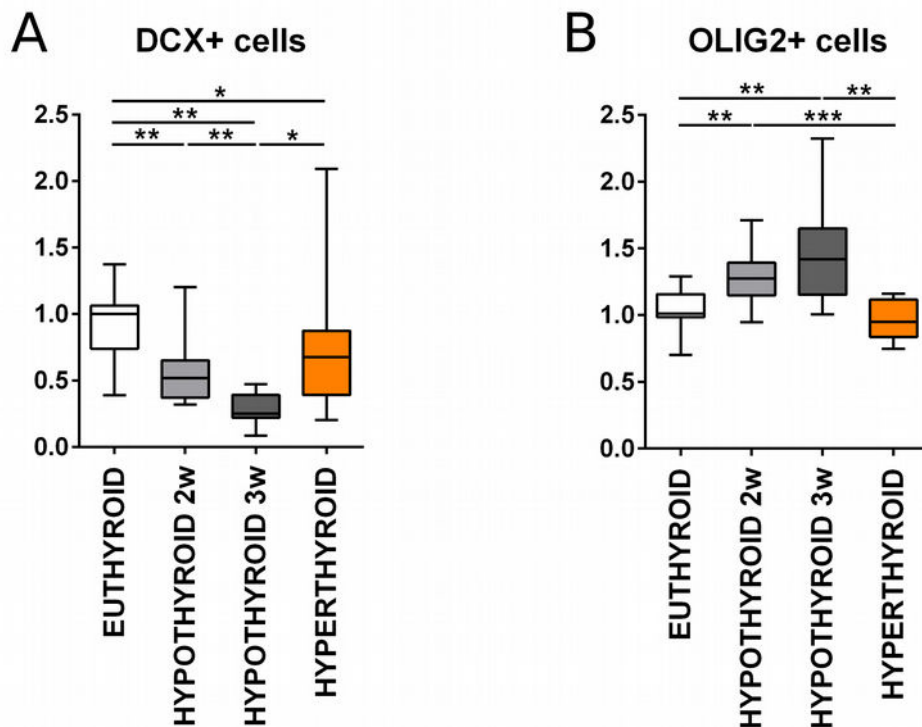


Figure 38: Quantifications des cellules DCX⁺ et OLIG2⁺ de la SVZ d'animaux eu-, hypo- et hyperthyroïdiens. (A) Quantification des neuroblastes DCX⁺ (densité intégrée) de la SVZ dorsale de souris eu- (*euthyroid*), hypo- (*hypothyroid 2w* et *3w*) et hyperthyroïdiennes (*hyperthyroid*). (B) Quantification du nombre de cellules OLIG2⁺ présents le long de la SVZ latérale de souris eu- (*euthyroid*), hypo- (*hypothyroid 2w* et *3w*) et hyperthyroïdiennes (*hyperthyroid*). Pool de quatre réplicats, n=12 « *euthyroid* » et « *hypothyroid 2w* », n=7 « *hypothyroid 3w* », n=10 « *hyperthyroid* ». Tests de Kruskal-Wallis suivi de tests de Mann-Whitney. P-value : *<0.05 ; **<0.01 ; ***<0.001.

serait ainsi intéressant d'étudier ces acteurs de la signalisation thyroïdienne dans les cellules de la SVZ des animaux hyperthyroïdiens.

I.3.3. Influence de la disponibilité en HTs sur la prolifération dans la SVZ adulte

Pour étudier l'effet du statut thyroïdien sur la prolifération cellulaire dans la SVZ, j'ai utilisé un anticorps dirigé contre PH3 sur des coupes cérébrales d'animaux eu-, hypo- et hyperthyroïdiens. La phosphorylation des histones H3 est étroitement corrélée à la condensation de la chromatine qui a lieu durant la mitose (Gurley *et al.*, 1974 ; Sawicka *et al.*, 2012). Des anticorps spécifiques dirigés contre la forme phosphorylée de l'histone H3 permettent ainsi de distinguer les cellules en mitose (fort marquage nucléaire homogène), et donc de déterminer la proportion de cellules en prolifération. La détection de la phosphorylation de l'histone H3 peut donner un marquage ponctué

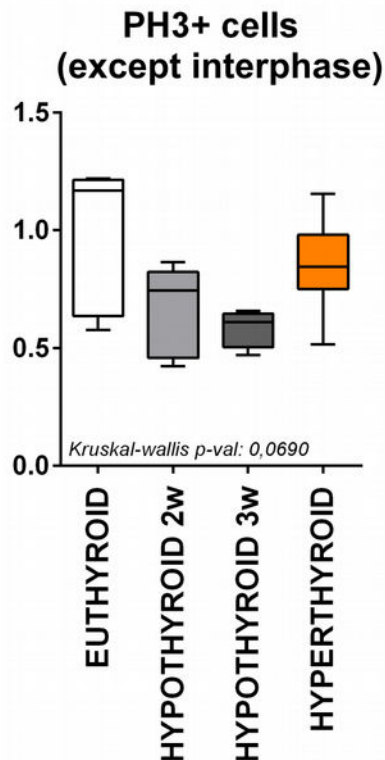


Figure 39: Quantification des cellules PH3⁺ dans la SVZ d'animaux eu-, hypo- et hyperthyroïdiens. Quantification du nombre de cellules PH3⁺ en mitose présents le long de la SVZ latérale de souris eu- (*euthyroid*), hypo- (*hypothyroid* 2w et 3w) et hyperthyroïdiennes (*hyperthyroid*). Pool de deux réplicats, n=6 « *euthyroid* » et « *hypothyroid* 2w », n=4 « *hypothyroid* 3w », n=7 « *hyperthyroid* ».

au niveau de la chromatine, correspondant aux cellules en interphase. Ce marquage étant d'intensité variable d'une cellule à l'autre et parfois difficilement visible *in vivo*, nous avons choisi de ne quantifier que les cellules PH3⁺ en mitose. Les résultats montrent une nette tendance à la diminution du nombre de cellules mitotiquement actives dans la SVZ des deux groupes de souris hypothyroïdiennes, mais aucune tendance pour les animaux hyperthyroïdiens (Figure 39). Seuls deux réplicats ont été effectués, expliquant l'absence de significativité entre les groupes. Si de nouveaux réplicats devront être réalisés pour conclure, les premières tendances semblent donc confirmer les résultats obtenus en 2005 sur des animaux hypothyroïdiens (Lemkine *et al.*, 2005). La protection de la niche contre un excès d'HTs pourrait également permettre de limiter l'augmentation de la prolifération en cas d'hyperthyroïdisme.

I.3.4. La transthyréine est présente dans les cellules engagées vers la voie neuronale

La TTR est connue pour être un transporteur des HTs dans la circulation sanguine et dans le liquide céphalo-rachidien (voir [Introduction I.2.1](#)). On sait qu'elle est particulièrement importante pour garantir une bonne disponibilité en HTs aux cellules de la SVZ ([Schreiber et al., 1990](#) ; [Southwell et al., 1993](#)), mais les types cellulaires sur lesquels elle agit ainsi que les mécanismes exacts impliqués ne sont pas connus. Afin d'étudier le rôle de la TTR dans la neurogenèse au sein de la SVZ adulte, j'ai analysé son profil d'expression par immunohistochimie dans les cellules de la SVZ d'animaux euthyroïdiens. J'ai ainsi pu observer un signal montrant la présence cytoplasmique de la TTR dans de nombreuses cellules de la SVZ. Grâce à des co-marquages, j'ai identifié la présence de la TTR dans les neuroblastes DCX⁺ et dans une partie des NPCs DLX2⁺ et des CSNs et progéniteurs SOX2⁺ ([Figure 40](#)). En revanche, la TTR n'est pas visible dans les astrocytes GFAP⁺ ni dans les OPCs SOX10⁺. Ainsi, nos résultats montrent que, dans la SVZ adulte, la TTR est présente dans les cellules engagées vers un destin neuronal, mais pas dans les cellules indéterminées ni dans les cellules engagées dans la voie gliale.

I.3.5. Expression de HIF1 α dans les cellules SOX2⁺ de la SVZ adulte

Pour vérifier l'expression de l'initiateur du métabolisme glycolytique HIF1 α dans les CSNs et les progéniteurs de la niche, j'ai réalisé un co-marquage à l'aide d'anticorps dirigés contre HIF1 α et SOX2. Lorsqu'il n'est pas dégradé, HIF1 α s'associe avec HIF1 β pour former un facteur de transcription activant de nombreux gènes impliqués dans l'activation de la glycolyse et la répression de la phosphorylation oxydative (voir [Introduction III.3.1](#) et [Figure 27](#)). La forme active de HIF1 α est alors localisée au niveau nucléaire. J'ai ainsi pu mesurer l'intensité au sein d'une cellule du marquage nucléaire fourni par les deux anticorps *in vivo* dans la SVZ. J'ai ainsi établi une corrélation positive entre l'expression de SOX2 et celle de HIF1 α ([Figures 41A et 41B](#)). Comme on peut le voir sur la [figure 41A](#), le signal spécifique de HIF1 α est cependant largement présent dans le cytoplasme des cellules de la niche. Cela pourrait correspondre à une présence cytoplasmique de la protéine, en amont ou durant la dégradation de celle-ci. Mais cela pourrait aussi être le témoin d'un marquage non spécifique. En effet, l'utilisation de ce même anticorps sur des cellules en différenciation en conditions hypoxiques *in vitro* (5% O₂, conditions pour lesquelles on s'attend à une forte expression de HIF1 α) ne nous a pas permis d'observer de différences significatives de marquage nucléaire en comparaison d'une différenciation en normoxie (20% O₂). Il serait donc

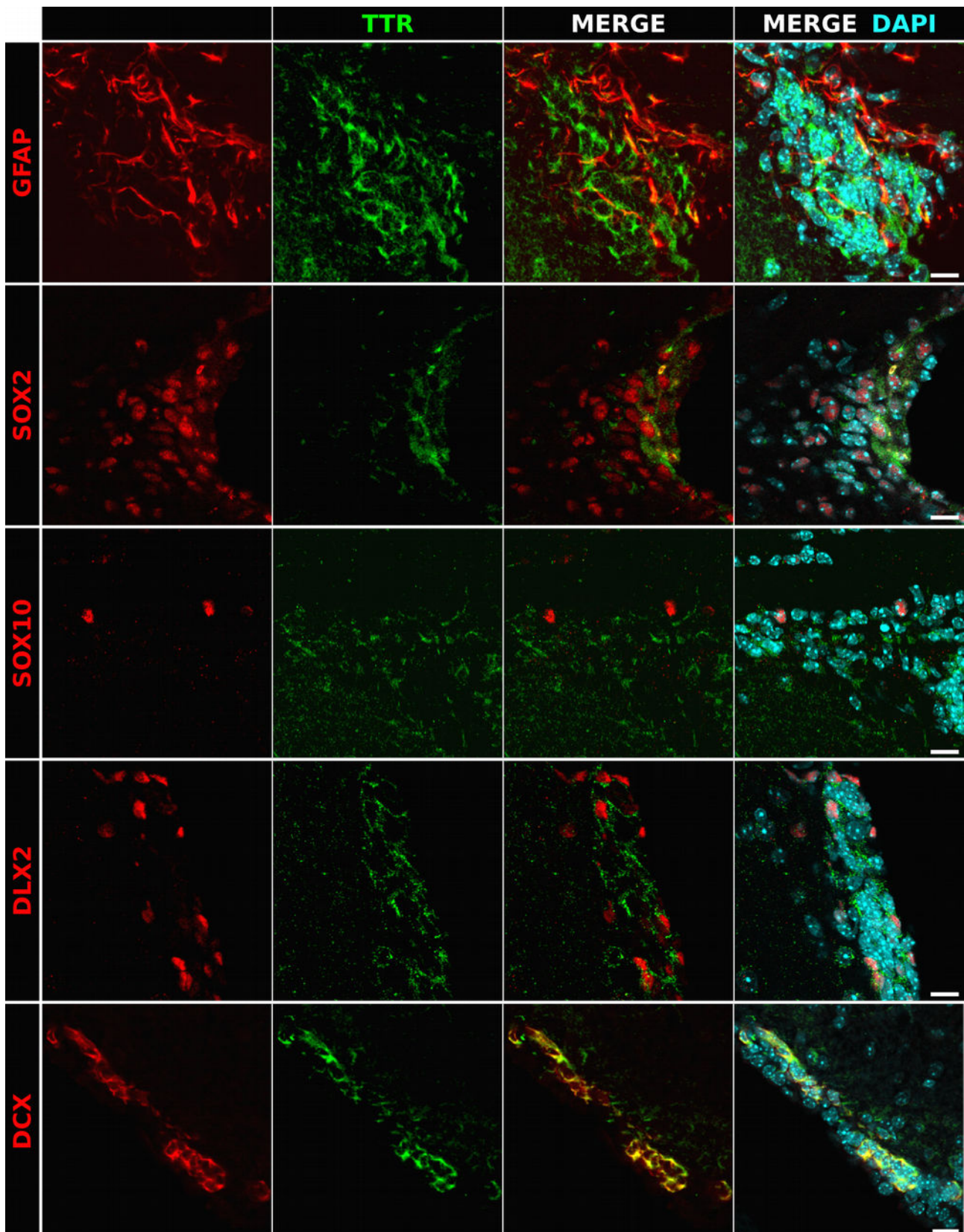


Figure 40: Présence de la transthyréine dans les cellules de la SVZ. Images confocales de co-immunohistochimies réalisées avec un anticorps dirigé contre la TTR (lapin), en association avec un anticorps dirigé contre le marqueur de CSNs GFAP (poulet), le marqueur de CSNs et progéniteurs SOX2 (cochon d'Inde), le marqueur d'OPCs SOX10 (cochon d'Inde), le marqueur de NPCs DLX2 (cochon d'Inde) et le marqueur de neuroblastes DCX (chèvre) sur des coupes coronales d'animaux contrôles au niveau de la SVZ. Barre d'échelle : 10µm.

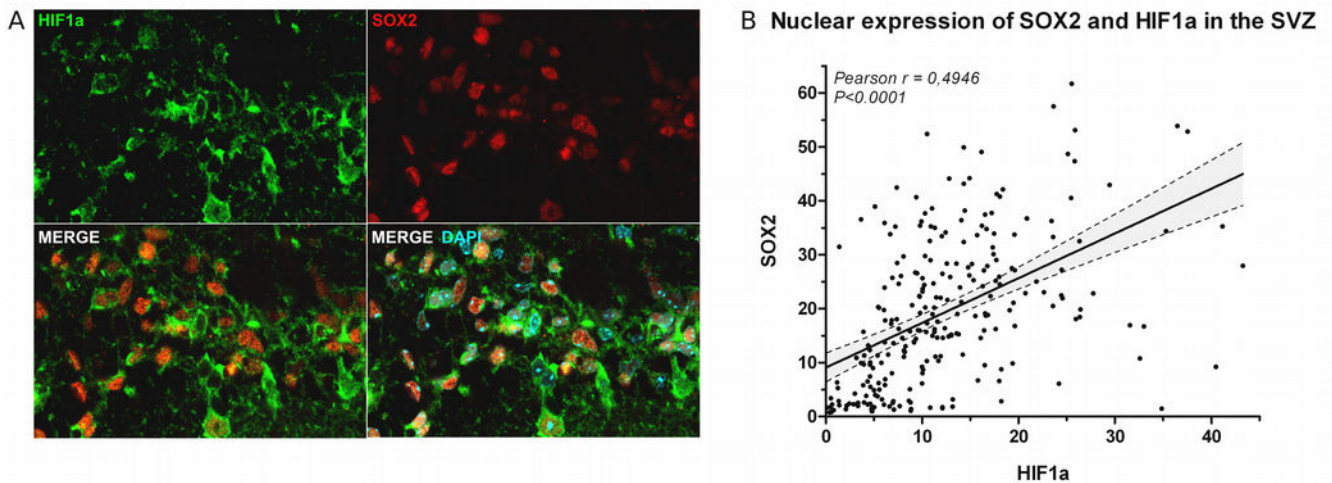


Figure 41: L'expression nucléaire de SOX2 et HIF1 α est corrélée dans la SVZ. (A) Image confocale représentative d'un co-marquage réalisé avec un anticorps dirigé contre HIF1 α (lapin), en association avec un anticorps dirigé contre SOX2 (chèvre) dans la SVZ d'une souris contrôlée. (B) Corrélation positive entre l'intensité nucléaire moyenne de SOX2 et HIF1 α .

important de tester d'autres anticorps dirigés contre HIF1 α , *in vivo* et *in vitro*, afin de pouvoir aller plus loin dans l'analyse de ce marqueur dans les cellules de la niche.

I.3.6. Expression de PGC1 α dans les cellules issues de la différenciation de CSNs de la SVZ adulte *in vitro*

Afin d'estimer le taux d'activation de la mitogenèse dans les différents types cellulaires de la SVZ, j'ai cherché à quantifier l'activité du cofacteur de transcription PGC1 α , principal initiateur de la biogenèse mitochondriale (voir [Introduction III.4.1](#)). PGC1 α agissant au niveau transcriptionnel, l'utilisation d'un anticorps spécifique de cette protéine permet d'estimer son activité en quantifiant le signal obtenu au niveau nucléaire. L'anticorps que nous possédons ne nous a pas permis d'obtenir un signal satisfaisant *in vivo*. Des tests d'immuno-marquages *in vitro* nous sont en revanche apparus suffisamment concluants pour l'utiliser en combinaison avec d'autres marqueurs cellulaires. J'ai ainsi pu quantifier le signal nucléaire spécifique de PGC1 α dans les différents types cellulaires présents une heure et 24 heures après mise en différenciation de cellules issues de neurosphères dissociées. Alors que nous nous attendions plutôt à observer une augmentation de l'expression, et donc de l'activité de PGC1 α au cours de la différenciation, les quantifications effectuées sur des doubles ou triples marquages ont révélé une forte expression nucléaire de la protéine dans les cellules SOX2 $^+$, ainsi que dans les OPCs SOX10 $^+$ et les NPCs DLX2 $^+$, à 1h et 24h de différenciation ([Figures 42A - 42C](#)). À une heure de différenciation, la moyenne de l'intensité mesurée dans les NPCs DLX2 $^+$ SOX2 $^+$ est significativement plus élevée que dans les CSNs et progéniteurs DLX2 $^-$

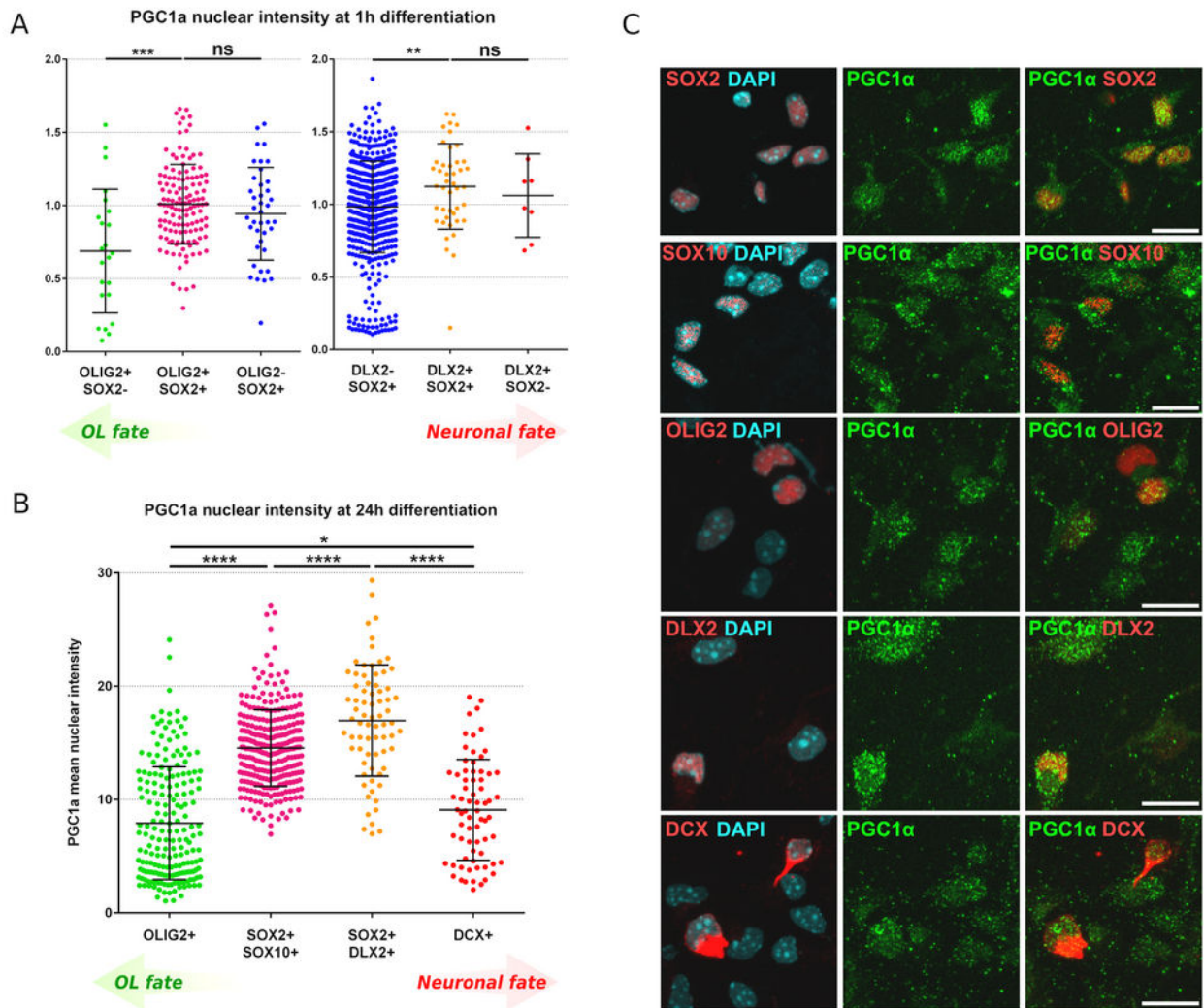


Figure 42: Expression nucléaire de PGC1α dans les cellules issues de la différenciation de CSNs *in vitro*. (A) Quantification de l'intensité du signal nucléaire de PGC1α dans les cellules SOX2⁺OLIG2⁻ et les cellules SOX2⁺DLX2⁺ après une heure de différenciation (triples marquages PGC1α/SOX2/OLIG2 et PGC1α/SOX2/DLX2). (B) Quantification de l'intensité du signal nucléaire de PGC1α dans les cellules OLIG2⁺, SOX2⁺SOX10⁺, SOX2⁺DLX2⁺ et DCX⁺ après 24 heures de différenciation (triples marquages PGC1α/SOX2/SOX10, PGC1α/SOX2/DLX2 et PGC1α/OLIG2/DCX). (C) Images représentatives des différents co-marquages avec PGC1α après 24 heures de différenciation. Barre d'échelle : 10 μm. Tests de Kruskal-Wallis suivi de tests de Mann-Whitney. P-value : *<0.05 ; **<0.01 ; ***<0.001 ; ****<0.0001. ns : non-significatif.

SOX2⁺, alors qu'aucune différence n'est observée entre les CSNs et les OPCs OLIG2⁺SOX2⁺ (Figure 42A). Les cellules OLIG2⁺SOX2⁻, plus engagées dans la voie oligodendrocytaire, présentent en revanche une expression significativement plus faible (Figure 42A). Ce résultat se confirme après 24 heures, où le signal correspondant à PGC1α apparaît plus faible dans les cellules OLIG2⁺ que dans les OPCs SOX10⁺, eux-mêmes exprimant moins la protéine que les NPCs DLX2⁺

(Figure 42B). Les neuroblastes DCX⁺ présentent en revanche un signal pour PGC1 α presque aussi faible que celui des cellules OLIG2⁺ (Figure 42B). Il semblerait donc que PGC1 α soit déjà actif avant la détermination des progéniteurs, qu'il voit son activité légèrement augmenter dans les NPCs mais pas dans les OPCs, puis que celle-ci diminue au fur et à mesure de la différenciation.

La T₃ étant un activateur direct de l'expression PGC1 α (voir Introduction III.4.1.1), j'ai également testé l'impact d'une augmentation de la disponibilité en HTs sur le signal mesuré pour PGC1 α dans les deux lignages. Alors que les quantifications d'un premier réplicat ont montré une augmentation du signal nucléaire de PGC1 α après 7 jours de différenciation en présence de T₃ 5nM et 50nM, particulièrement dans les cellules DCX⁺, aucune différence n'est cependant apparue lors de la quantification des deux réplicats suivants (données non présentées). Cette impossibilité de renouveler ce résultat d'activation T₃-dépendante de PGC1 α , ainsi que la présence dans nos images d'un signal important au niveau du cytoplasme alors que PGC1 α devrait principalement être détecté au niveau nucléaire, remet en cause la spécificité de l'anticorps utilisé. Ainsi, il serait nécessaire de tester un autre anticorps ou d'analyser l'expression de gènes cibles de PGC1 α dans les différents types cellulaires pour confirmer nos premiers résultats.

I.3.7. Rôle de DRP1 dans le choix du destin cellulaire *in vitro*

Comme nous l'avons vu dans l'article, l'activation de DRP1 est spécifique aux cellules s'engageant vers la voie de différenciation neuronale. Afin de confirmer l'importance de DRP1 dans le choix de destin cellulaire, des co-transfections du plasmide rapporteur CMV-H1-GFP et de plasmides codant des shARN dirigés contre DRP1 ont été effectuées sur des cellules issues de neurosphères au moment de la mise en différenciation. Après 48 heures de différenciation, des immuno-marquages ciblant les cellules OLIG2⁺ (OPCs et oligodendrocytes immatures) et DCX⁺ (neuroblastes) ont été réalisés, mais seules les cellules OLIG2⁺ sont apparues transfectées en quantité suffisante pour être quantifiées. La proportion de cellules transfectées engagées dans le lignage glial a ainsi pu être quantifiée afin d'observer l'effet de la baisse de l'expression de DRP1 sur le choix de destin cellulaire et ce, dans différentes conditions de disponibilité en T₃. Bien que la variabilité importante sur les trois réplicats réalisés n'ait pas permis d'observer de différences significatives entre les groupes, on peut constater une nette tendance à une proportion plus importante de cellules OLIG2⁺ parmi les cellules transfectées avec le shDRP1, quelles que soient les conditions de disponibilité en T₃ (Figure 43). Si ce résultat se confirmait, cela montrerait que la baisse de l'expression de DRP1 est favorable au choix de destin oligodendrocytaire, confirmant les résultats présentés dans l'article selon lesquels une augmentation de l'activation de DRP1 est nécessaire à la détermination des

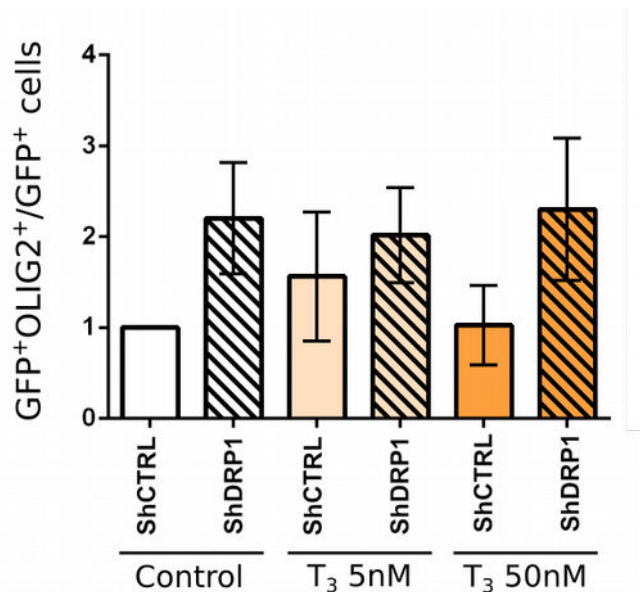


Figure 43: Proportion de cellules OLIG2+ parmi les cellules transfectées avec un plasmide codant un shARN contrôle (shCTRL) ou dirigé contre DRP1 (shDRP1), dans différentes conditions de disponibilité en T₃. Cellules issues de CSNs de neurosphères de SVZ adulte, co-transfectées avec un plasmide rapporteur CMV-H1-GFP et un plasmide CMV-H1-shDRP1 ou shCTRL lors de la mise en différenciation, puis fixées après 48h. Pool de trois expériences, normalisées par le shCTRL en conditions contrôle. Moyennes +/-SEM.

progéniteurs en NPCs, mais pas à la détermination en OPCs (Figure 4 de l'article). De nouveaux réplicats sont cependant nécessaires pour conclure.

I.3.8. Influence de l'activité mitochondriale et de la disponibilité en T₃ sur le destin des CSNs adultes *in vitro* : analyse par FACS

Un protocole d'analyse par FACS a été mis au point dans le but de pouvoir isoler les cellules de chaque lignage, après différentes conditions de différenciation *in vitro*. L'objectif final de cette mise au point est de pouvoir réaliser des expériences sur les différents types cellulaires co-existants au sein de la niche (remise en culture, qPCR, western-blot). Le protocole que j'ai mis en place a permis l'analyse de cellules issues de neurosphères dérivées de CSNs de souris *Pdgfra-eGFP* adultes, mises en différenciation pendant 24 heures en condition contrôle, en présence de T₃ (50nM), en présence d'oligomycine (inhibiteur de l'ATP synthase, 0.5 μM), ou en présence de T₃ et d'oligomycine. Les cellules engagées dans le lignage oligodendrocytaire (OPCs) ont pu être détectées grâce à l'expression de la GFP couplée à PDGFR α , et les cellules du lignage neuronal grâce à l'utilisation d'un anticorps dirigé contre CD24 et couplé au fluorochrome BV421. Un MitoTracker a été utilisé

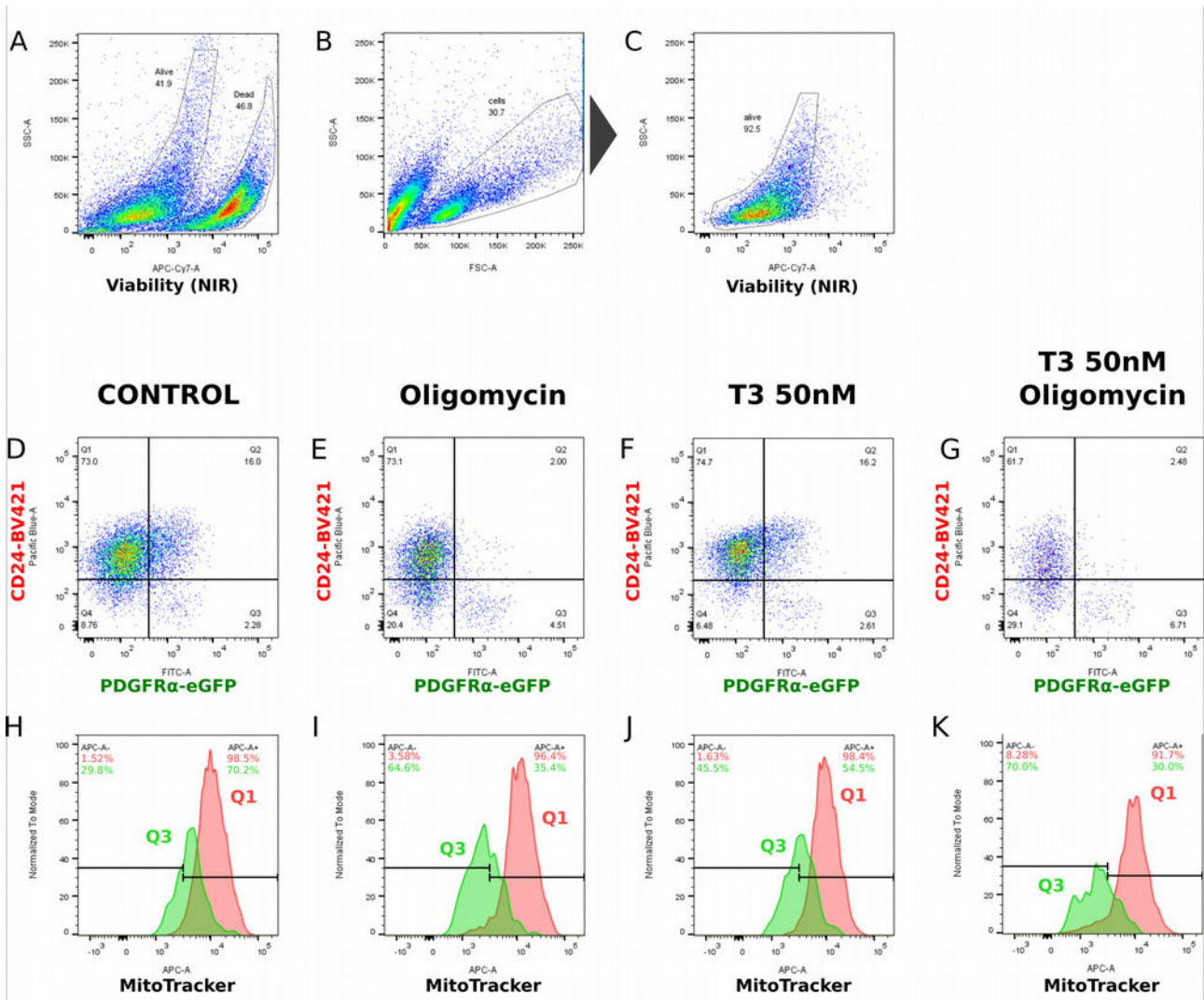
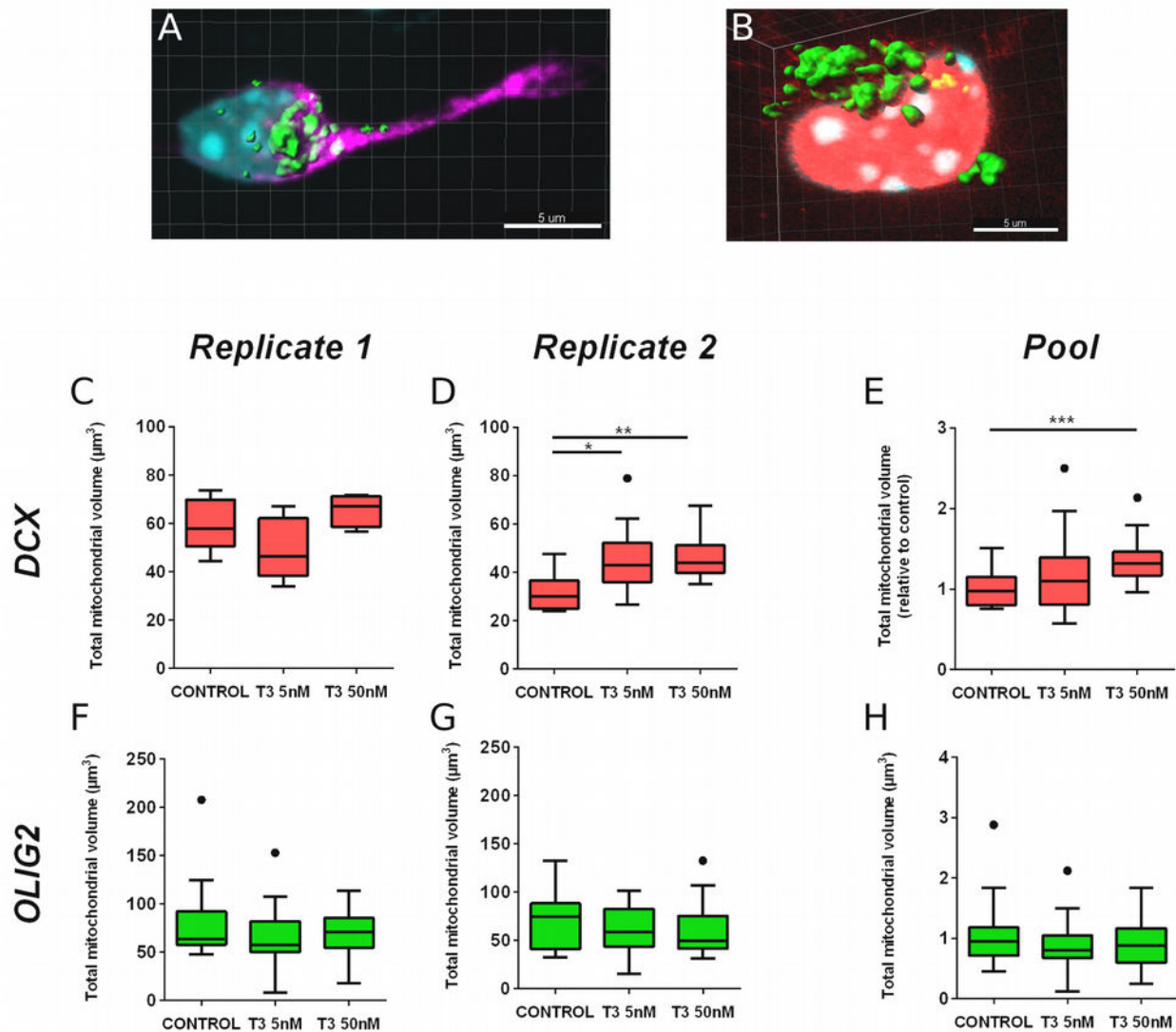


Figure 44: Analyse de l'influence de l'activité mitochondriale et de la présence de T₃ sur la détermination des CSNs adultes par cytométrie en flux. (A) Diagramme FACS du marqueur de viabilité et de la structure (SSC) en conditions contrôle. Les cellules mortes au moment du marquage émettent une fluorescence NIR plus forte pour une même mesure de structure. (B) Diagramme taille (FSC) / structure (SSC) des cellules cultivées en conditions contrôle. Environ 30.7 % des événements analysés ont un rapport taille/structure correspondant à des cellules vivantes (sélection « cells »). (C) Marqueur de viabilité après sélection des cellules sur le diagramme taille/structure. Environ à 92.5 % des événements de la sélection « cells » correspondent à des cellules vivantes (sélection « alive »). (D-G) Diagrammes de fluorescence de PDGFRα-eGFP (FITC) et CD24-BV421 (Pacific Blue-A) obtenus à partir des sélections « alive » sur cellules différenciées en conditions contrôle (D), en présence d'oligomycine 0.5μM (E), en présence de T₃ 50nM (F) ou en présence d'oligomycine et de T₃ (G). (H-K) Histogrammes de fluorescence du MitoTracker (APC-A) des sélections Q1 (CD24-BV421⁺PDGFRα-eGFP⁻) et Q3 (CD24-BV421⁻PDGFRα-eGFP⁺) pour les cellules différenciées en conditions contrôle (H), en présence d'oligomycine 0.5μM (I), en présence de T₃ 50nM (J) ou en présence d'oligomycine et de T₃ (K). La limite des zones APC-A- et APC-A+ ont été fixées de façon arbitraire pour mesurer la différence de fluorescence du MitoTracker entre les différentes conditions. Les pourcentages indiqués en rouge correspondent à Q1 et les pourcentages indiqués en vert correspondent à Q3. Un réplicat d'analyse FACS est présenté sur deux réalisés avec le même protocole et présentant des résultats similaires.

pour évaluer l'activité mitochondriale des différents types de cellules. Enfin, un marqueur de viabilité a permis d'exclure les cellules mortes de l'analyse.

Après exclusion des événements correspondant à des débris cellulaires selon leur rapport taille/structure (FSC/SSC), seules les cellules vivantes au moment de la fixation ont été sélectionnées pour la suite de l'analyse, sur la base du marqueur de viabilité NIR (Figures 44A à 8C). En conditions contrôle, environ 73 % des cellules analysées apparaissent comme étant CD24-BV421⁺PDGFR α -eGFP⁻ (lignage neuronal, Figure 44D : Q1), et 2.28 % CD24-BV421⁻PDGFR α -eGFP⁺ (OPCs, Figure 44D : Q3). En présence d'oligomycine, on observe un doublement du pourcentage de cellules CD24-BV421⁻PDGFR α -eGFP⁺ (OPCs), puisque 4.51 % sont situées dans la zone Q3 (Figure 44E). On n'observe en revanche pas de différence dans le nombre de cellules CD24-BV421⁺PDGFR α -eGFP⁻ (lignage neuronal, Figure 44E : Q1). La proportion de cellules négatives pour les deux marqueurs augmente en revanche, passant de 8.76 % à 20.4 % (Figures 44D et 44E : Q4), et, de façon surprenante, les cellules positives pour les deux marqueurs diminuent drastiquement de 16 % à 2 % en oligomycine (Figures 44D et 44E : Q2). Le nombre de cellules se déterminant vers la voie gliale augmente ainsi en conditions d'inhibition de la respiration mitochondriale, confirmant les résultats présentés dans l'article (Figure 2H et 2I de l'article). En revanche, la diminution observée *in vitro* du nombre de neurobalstes DCX⁺ dès 24h de différenciation en présence d'oligomycine (Figures 2H et 2I de l'article) n'est pas confirmée avec le marqueur CD24. Cela peut s'expliquer du fait de la différence entre les deux marqueurs, CD24 étant exprimé de façon plus large au cours de la différenciation neuronale. L'ajout de T₃ dans le milieu de différenciation ne change pas la proportion des cellules présentes dans les différents cadrants (Q1 à Q4), avec ou sans oligomycine (Figures 44F et 44G). Le phénotype observé en présence d'oligomycine pourrait cependant être accentué (Figure 44G).

L'observation du signal MitoTracker dans les cellules CD24-BV421⁺PDGFR α -eGFP⁻ (Q1) et CD24-BV421⁻PDGFR α -eGFP⁺ (Q3) en conditions contrôle fait nettement apparaître une respiration mitochondriale moins élevée dans les cellules de la lignée gliale (Figure 44H). Ce résultat est encore une fois cohérent avec les résultats *in vivo* (JC-1) et *in vitro* (HEt) présentés dans l'article (Figures 2D, 2F et 2G de l'article). En présence d'oligomycine, le signal MitoTracker diminue pour les cellules Q3 mais pas pour les cellules Q1 (Figure 44I). De façon plus surprenante, la respiration mitochondriale apparaît également diminuée dans les cellules Q3 en présence de T₃ (Figure 44J), et plus encore en présence de T₃ et oligomycine (Figure 44K). Une hypothèse peut être avancée pour expliquer ce résultat. En présence d'oligomycine, les OPCs PDGFR α ⁺ supportent l'inhibition de la respiration, et sont ainsi proportionnellement plus nombreux malgré une plus faible respiration mitochondriale, visible au signal MitoTracker. En présence de T₃ en revanche, la baisse de la



respiration mitochondriale observée pourrait être due au fait que les cellules s'engageant vers la voie gliale auraient nécessité la mise en place de mécanismes de protection contre les HTs plus efficaces qu'en conditions contrôle, pouvant entraîner par ricochet une baisse de l'activité mitochondriale. On sait en effet que la détermination en OPC nécessite une faible signalisation thyroïdienne (Remaud *et al.*, 2017 ; Gothié *et al.*, 2017a). L'absence de changement du signal MitoTracker des cellules CD24⁺ pourrait quant à lui être dû au marquage plus étendu de CD24 dans le lignage neuronal, écrasant les différences pouvant exister entre sous-types de cellules CD24⁺. Mais on pourrait aussi supposer que, les cellules s'engageant dans cette voie nécessitant une activité mitochondriale plus importante, les cellules qui n'arriveraient pas à maintenir une certaine respiration ne pourraient pas s'engager (et pourraient donc ne pas être CD24⁺), ou mourraient et ne feraient donc pas partie des cellules analysées : le signal MitoTracker des cellules détectées comme étant CD24⁺ resterait inchangée car une respiration plus faible ne permettrait pas aux cellules d'être CD24⁺.

I.3.9. Visualisation de la morphologie mitochondriale dans les cellules OLIG2⁺ et DCX⁺ après 24 heures de différenciation dans différentes conditions de disponibilité en T₃

Afin de pouvoir analyser les différences de morphologie mitochondriale existant entre les deux lignages cellulaires, des immuno-marquages dirigés contre TOM20, protéine constitutive de la membrane mitochondriale, ont été réalisés en combinaison avec des anticorps dirigés contre DCX ou OLIG2 sur des cellules mises en différenciation 24h *in vitro* dans différentes conditions de disponibilité en T₃. Des reconstitutions tridimensionnelles ont permis une visualisation et une quantification précise du signal mitochondrial au sein des différents types cellulaires (Figures 45A et 45B). Les cellules de deux réplicats ont été analysées. Le volume mitochondrial total des cellules DCX⁺ est significativement plus élevé en conditions T₃ 5nM et T₃ 50nM qu'en conditions contrôle dans le second réplicat (Figure 45D), mais aucune différence significative n'apparaît dans le réplicat 1 (Figure 45C). Ceci est probablement dû au plus faible nombre de cellules ayant pu être imagées et analysées dans le réplicat 1 (contrôle : n=6 ; T₃ 5nM : n=8 ; T₃ 50nM : n=4) en comparaison au réplicat 2 (n=10 par condition). La mise en commun des deux réplicats confirme cependant la significativité de l'augmentation du volume mitochondrial dans les cellules DCX⁺ cultivées en présence de T₃ 50nM (Figure 45E). Aucune différence significative n'apparaît en revanche sur la mesure du volume mitochondrial des cellules OLIG2⁺ dans les différentes conditions de disponibilité en T₃ (Figures 45F à 45H). Ces résultats doivent être confirmés par de nouveaux réplicats, mais semblent montrer que la présence de T₃ entraîne une augmentation du volume

mitochondrial total dans les cellules DCX⁺ dès 24 heures d'exposition. Des mesures de la surface mitochondriale et du nombre de mitochondries distinctes les unes des autres ont également été effectuées, sans présenter de différences significatives. Il serait intéressant d'effectuer des quantifications après un temps plus long de différenciation dans les deux types cellulaires, et également dans des cellules non déterminées.

I.4. Discussion

Nos résultats montrent que l'induction d'un hypothyroïdisme chez la souris adulte entraîne une diminution de la détermination des CSNs vers la voie neuronale, et une augmentation de la détermination vers la voie gliale dans la SVZ *in vivo* (Figure 38 et Figures 1A à 1D de l'article). En accord avec ces résultats, une augmentation de la concentration en HTs lors de la différenciation cellulaire *in vitro* favorise la détermination neuronale (Figures 1F et 1G de l'article). Ces observations font écho aux résultats que nous avons récemment publié dans eLife (Remaud *et al.*, 2017) (voir Annexe I). En effet, nous avons montré qu'un hypothyroïdisme transitoire augmente la génération des OPCs au sein de la SVZ, et que ces derniers sont capables de réparer fonctionnellement une lésion de démyélinisation dans le corps calleux (modèle cuprizone). En revanche, un hyperthyroïdisme transitoire *in vivo* ne provoque pas d'augmentation de la production de neuroblastes ni de diminution du nombre d'OPCs (Figure 38). La prolifération cellulaire présente de plus une forte tendance à la diminution dans la niche en cas d'apport insuffisant en HTs (Figure 39), confirmant le blocage des progéniteurs prolifératifs en phase S du cycle cellulaire chez les animaux hypothyroïdiens (Lemkine *et al.*, 2005). Mais la prolifération est, elle aussi, inchangée chez les souris hyperthyroïdiennes. La neurogenèse sous-ventriculaire semble ainsi être protégée des effets liés à un excès d'HTs circulantes. Plusieurs modulateurs de la signalisation thyroïdienne pourraient voir leur expression modulée pour permettre cette protection, tels que les désiodases DIO2 et DIO3, les récepteurs aux HTs, les transporteurs MCT8 ou OATP1C1, ou même la protéine de liaison TTR. Ainsi il pourrait être intéressant d'étudier de façon plus large les modulations de la signalisation thyroïdienne dans la SVZ adulte en cas d'hyperthyroïdie.

Nous avons montré pour la première fois la présence de la TTR de façon spécifique dans les cellules du lignage neuronal (NPCs DLX2⁺ et neuroblastes DCX⁺) dans la SVZ adulte (Figure 40). On sait que la TTR possède des récepteurs membranaires lui permettant d'être internalisée (Divino et Schussler, 1990 ; Kuchler-Bopp *et al.*, 2000 ; Landers *et al.*, 2013). La TTR est donc soit directement exprimée, soit internalisée par les cellules s'engageant vers un destin neuronal. Dans le cas d'une expression intrinsèque, on pourrait interpréter la présence de la TTR comme un moyen de « stockage » des HTs dans le cytoplasme de la cellule, les rendant disponibles en cas de baisse de l'apport extérieur. Il serait intéressant d'étudier si les cellules à destinée neuronale de la SVZ expriment un récepteur à leur surface permettant l'internalisation de la TTR, ce qui pourrait constituer une voie jusque là inconnue d'entrée d'HTs dans ce type cellulaire. Des immunomarquages sur des coupes cérébrales d'animaux hypo- et hyperthyroïdiens pourraient nous

permettre de voir si l'expression/l'internalisation de la TTR peut constituer un moyen de moduler le taux d'HTs intracellulaire en fonction des conditions physiologiques.

Comme détaillé dans l'article, la détermination neuronale des cellules de la SVZ nécessite une augmentation de la respiration mitochondriale, alors que la détermination en OPC est maintenue même en cas d'inhibition de la chaîne respiratoire (Figure 2 de l'article). Nous avons confirmé ce résultat par des expériences de cytométrie en flux, où le signal MitoTracker, révélateur de l'activité mitochondriale, apparaît systématiquement plus faible dans les OPCs PDGFR α ⁺ (Figure 44). Nos expériences de FACS ont également permis de confirmer qu'une inhibition de la respiration mitochondriale favorise la détermination en OPC (Figure 44). Par ailleurs, la limitation de l'apport en HTs entraîne une diminution de l'activité mitochondriale dans les neuroblastes chez les animaux hypothyroïdiens (Figure 2D de l'article). En accord avec ce résultat, nous avons observé qu'une concentration élevée en T₃ durant la différenciation *in vitro* provoque une augmentation plus marquée de la production de ROS dans les neuroblastes que dans les OPCs, signe d'une plus forte activité mitochondriale (Figures 2E à 2G de l'article). L'utilisation du marqueur mitochondrial TOM20 nous a permis d'obtenir un résultat préliminaire semblant confirmer cet impact de la T₃ sur les mitochondries. En effet, le volume mitochondrial des neuroblastes apparaît plus important après 24 heures de différenciation en présence de T₃ (50nM) qu'en conditions contrôle, alors qu'aucune différence n'est visible dans les OPCs cultivés dans différentes conditions de disponibilité en T₃ (Figure 45). De nouveaux réplicats sont nécessaires pour confirmer ce résultat, et il pourrait être intéressant d'effectuer les mêmes analyses sur les progéniteurs SOX2⁺ et à différents temps de différenciation des cellules OLIG2⁺ et DCX⁺.

In vitro, nous avons observé une diminution drastique du nombre de neuroblastes DCX⁺ dès 24 heures de différenciation en présence d'oligomycine (Figures 2H et 2I de l'article). Mais les résultats des expériences de FACS n'ont pas permis de déceler une diminution du nombre de cellules CD24⁺ après 24 heures de différenciation en présence d'oligomycine (Figure 44E), ce qui peut s'expliquer du fait de la différence du patron d'expression entre DCX et CD24, CD24 étant exprimé de façon plus large que DCX au cours de la différenciation neuronale (Calaora *et al.*, 1996 ; Pruszek *et al.*, 2009). Certaines expériences de cytométrie ont même révélé l'existence de populations cellulaires à la fois positives pour CD24 et pour A2B5, un marqueur généralement utilisé pour isoler les précurseurs gliaux, parmi des cellules du cerveau fœtal antérieur chez la souris (Panchision *et al.*, 2007), ou encore pour CD24 et GFAP dans des cellules issues de glioblastome humain (Turac *et al.*, 2013). Par ailleurs, l'ajout de T₃ dans le milieu de différenciation n'a pas permis d'observer de changement dans la proportion des cellules CD24⁺ et PDGFR α ⁺ (Figures 44F et 44G). Ce résultat,

en apparence contradiction avec les résultats obtenus *in vivo* et *in vitro* concernant l'influence des HTs sur la détermination cellulaire (Figure 38 et Figure 1 de l'article), pourrait en partie être dû au temps de différenciation de 24 heures étudié en cytométrie, temps d'exposition à la T₃ pour lequel la différence de choix de lignage n'est pas toujours significative *in vitro* (voir Figures 1F et 2H de l'article). Cependant la différence des marqueurs utilisés pour les deux lignages (DCX vs CD24 et OLIG2 vs PDGFR α) est sans doute également en cause, du fait de la moins bonne spécificité de CD24 que nous venons d'évoquer, mais également de celle de PDGFR α : l'expression de PDGFR α dans la SVZ adulte reste encore mal caractérisée (Funa *et al.*, 2013; Jackson *et al.*, 2006), et il pourrait donc aussi être exprimé à d'autres stades du lignage oligodendrocytaire que dans les OPCs. Ainsi il est nécessaire de mieux caractériser l'expression de CD24 et de PDGFR α dans les cellules de la SVZ adulte pour pouvoir interpréter plus finement les résultats de cytométrie. Ceci pourrait également permettre de déterminer à quels types cellulaires correspondent les doubles positifs observés par FACS, et dont les proportions évoluent en présence d'oligomycine (Figures 44E).

L'augmentation de l'activité mitochondriale provoquée par la T₃, plus marquée dans le lignage neuronal, pourrait être associée à une induction des dynamiques mitochondriales. Nous avons en effet montré que SIRT1, exprimée dans les CSNs et les progéniteurs (Saharan *et al.*, 2013 ; Rafalski *et al.*, 2013), et pouvant par ailleurs être impliquée dans l'activation de la mitogenèse (Lagouge *et al.*, 2006 ; Nemoto *et al.*, 2005) et agir en tant que coactivateur des TRs (Suh *et al.*, 2013; Thakran *et al.*, 2013), reste préférentiellement exprimé après la détermination des progéniteurs en NPCs, alors qu'il n'est quasiment plus exprimé dans les cellules déterminées en OPCs (Figure 3 de l'article). De façon similaire, notre analyse du signal nucléaire de PGC1 α , principal activateur de la biogenèse mitochondriale, semble révéler une activation dans les progéniteurs SOX2⁺, puis un maintien plus important lors de la détermination en NPC que lors de la détermination en OPC (Figure 42). Le signal PGC1 α diminue cependant rapidement lors de la progression dans les deux lignages cellulaires (Figure 42). Les CSNs et les progéniteurs de la SVZ utilisent principalement un métabolisme glycolytique, et leur respiration mitochondriale est donc peu importante (voir Introduction III.3. et Figure 2D de l'article) : une forte activité de PGC1 α dans ce type cellulaire pourrait donc sembler illogique. Cependant, étant en prolifération, il est nécessaire que ces cellules produisent de nouvelles mitochondries afin de les transmettre aux cellules-filles, ce qui peut expliquer une activité de PGC1 α dans les CSNs/progéniteurs. On pourrait également interpréter ce résultat comme étant un moyen pour les progéniteurs de « préparer » leur détermination et leur différenciation en accumulant un certain nombre de protéines nécessaires à l'augmentation de la phosphorylation oxydative. Cette accumulation serait par la suite plus importante lors de la détermination en NPC qu'en OPC. Ainsi, il pourrait être intéressant de regarder si les CSNs

quiescentes présentent elles aussi une activité de PGC1 α ou si celle-ci n'apparaît qu'avec l'activation de la prolifération. Il faudrait également étudier l'expression de gènes cibles de PGC1 α , tels que *Nrf1* et *Nrf2*, ou encore l'expression de TFAM, afin d'identifier s'ils sont activés dès le stade progéniteur ou si le délai nécessaire à leur activation successive ne les fait apparaître actifs qu'après le début de l'engagement dans une voie de différenciation.

Enfin, nous avons clairement identifié que la T₃ active DRP1, l'activateur principal de la fission mitochondriale, dans les cellules adoptant un destin neuronal (Figure 4 de l'article). *In vivo* comme *in vitro*, la forme active de DRP1, pDRP1^{S616}, est en effet très préférentiellement présente dans les cellules du lignage neuronal, dès le stade NPC (Figures 4A, 4C et 4E de l'article), et est induit en présence de T₃ uniquement dans les cellules à destinée neuronale (Figure 4G de l'article). Nous avons voulu étudier l'effet d'une inactivation de DRP1 sur le choix de destin des CSNs *in vitro* en utilisant un shARN dirigé contre l'ARNm codant DRP1. Malgré une variabilité importante entre les réplicats, ces expériences de transfection nous ont permis d'observer une nette tendance à une proportion plus importante de cellules OLIG2⁺ parmi les cellules transfectées avec le shDRP1 (Figure 43). La répétition de ce résultat permettrait de confirmer que l'absence de DRP1 favorise la détermination en OPC.

L'action de la T₃ permet donc d'induire la fission spécifiquement dans les cellules de la SVZ adulte adoptant un destin neuronal, et de provoquer une augmentation de leur activité mitochondriale. Les cellules se déterminant en OPC sont au contraire protégées des effets de la T₃, présentent une activation de la fission très limitée voire inexistante, et n'augmentent pas leur activité mitochondriale en comparaison des progéniteurs. La persistance de SIRT1 et la diminution limitée de PGC1 α pourraient jouer un rôle dans l'activation de l'activité et des dynamiques mitochondriales par la T₃ dans le lignage neuronal.

II. Influence des hormones thyroïdiennes et de l'activité physique sur l'activation des cellules souches neurales de la SVZ adulte

Dans le cadre d'un projet annexe à l'étude du choix de destin des CSNs de la SVZ adulte, j'ai eu l'opportunité d'étudier l'influence des HTs sur l'activation de cette population cellulaire, dans le cadre d'un travail effectué à l'Université de Tokyo (Japon) entre juin et août 2014 (Bourse JSPS). Les processus contrôlant l'activation des CSNs adultes sont en effet encore mal connus à ce jour. Or on sait que les HTs influencent la prolifération des CSNs dans la SVZ (Lemkine *et al.*, 2005), et qu'elles sont impliquées dans le contrôle de l'activation de cellules souches adultes dans d'autres modèles (Dentice *et al.*, 2014).

L'expression de la kinase cycline-dépendante p57 est nécessaire à la quiescence des CSNs adultes, et son inhibition favorise leur activation (Furutachi *et al.*, 2013). Si l'on ne sait pas si les HTs ont une influence sur p57 dans le cadre de la neurogenèse adulte, il a été montré - dans des cellules cancéreuses chez la souris - qu'elles pouvaient inhiber son expression (Wood *et al.*, 2002). Bien que cela ne permette pas de préjuger d'une éventuelle régulation dans la SVZ, cela indique néanmoins que p57 est un potentiel gène cible des HTs. Ces éléments m'ont permis d'émettre l'hypothèse selon laquelle la signalisation thyroïdienne pourrait participer au contrôle de l'activation des CSNs, potentiellement par l'intermédiaire de p57, dans la SVZ de souris adulte.

L'activation des CSNs quiescentes peut être induite *in vivo* de façon physiologique par l'enrichissement du milieu et l'activité physique, comme cela a été tout particulièrement prouvé pour la neurogenèse hippocampale (Lugert *et al.*, 2010 ; Furutachi *et al.*, 2013). L'activation de la neurogenèse sous-ventriculaire par l'activité physique restait controversée lorsque j'ai étudié l'activation des CSNs de la SVZ, plusieurs études présentant des résultats contradictoires (Brown *et al.*, 2003 ; Blackmore *et al.*, 2012) ; depuis, plusieurs études ont montré que des rongeurs ayant accès à une roue présentent une augmentation du nombre de cellules en prolifération et de neuroblastes au niveau de la SVZ (Lee *et al.*, 2016 ; Mastroilli *et al.*, 2017), confirmant ce que j'ai moi-même observé (voir ci-dessous).

Pour étudier l'influence de la disponibilité en HTs sur la sortie de quiescence des CSNs de la SVZ, des souris C57BL/6 adultes nourries avec un régime hypothyroïdien ou contrôle ont été séparées en deux groupes : un groupe contrôle (petites cages, pas d'accès à une roue) et un groupe où les souris ont été placées dans des cages plus spacieuses, avec accès à deux roues (2 réplicats de 4 groupes de

3 souris). Après 12 jours, les cerveaux ont été collectés pour évaluer l'impact croisé de l'hypothyroïdisme et de l'activité physique sur (1) la prolifération cellulaire dans la SVZ, et (2) le nombre de CSNs quiescentes (CSNqs) et de neuroblastes présents dans la SVZ. Compte tenu du nombre d'animaux analysés, les résultats présentés ci-après sont des résultats préliminaires qui nécessitent davantage d'investigations.

II.1. Contrôle du statut thyroïdien

Tout d'abord, le statut thyroïdien des animaux testés a été vérifié par la mesure de la concentration sérique de T₄ totale (T₄ libre et T₄ liée), à partir du sang récupéré avant perfusion (voir **Matériels et méthodes**). La T₄ des souris des deux réplicats a ainsi pu être mesurée. Comme présenté en **Figure 46**, les concentrations de T₄ des animaux euthyroïdiens sont au minimum trois à quatre fois supérieures à celles des animaux hypothyroïdiens. Les 19 jours de traitement PTU ont donc eu l'effet désiré, rendant les souris hypothyroïdiennes. Aucun effet de l'activité physique sur la concentration sérique en T₄ n'est en revanche observé.

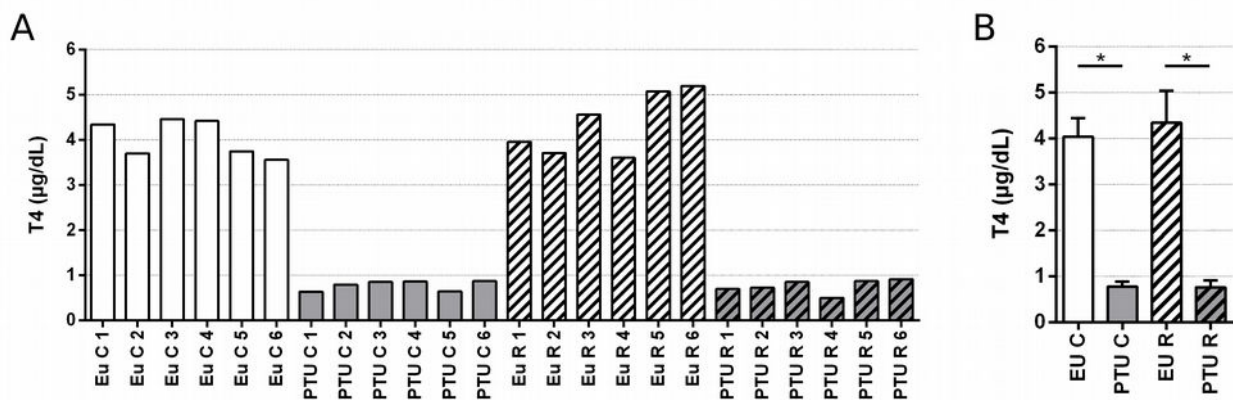


Figure 46: Concentrations sériques en T₄ total des animaux euthyroïdiens et hypothyroïdiens élevés en conditions contrôle ou avec enrichissement du milieu (roues). Les concentrations en T₄ (µg/dL) présentées ont été obtenus par test ELISA (T₄ ELISA, Labor Diagnostika Nord). (A) Concentration en T₄ individuelles des animaux des quatre groupes : euthyroïdiens contrôles (Eu C), hypothyroïdiens contrôles (PTU C), euthyroïdiens avec accès aux roues (Eu R, *running*) et hypothyroïdiens avec accès aux roues (PTU R). 1 à 3 : réplicat 1 ; 4 à 6 : réplicat 2. (B) Concentration en T₄ pour chaque groupe. Moyennes +/- écart-type. Test de Kruskal-Wallis suivi d'un test de Dunn's. P-value : *<0.05.

II.2. Analyse de l'influence du statut thyroïdien et de l'activité physique sur la prolifération cellulaire dans la SVZ adulte

Pour estimer la différence de prolifération cellulaire entre les différents groupes de souris, des expériences d'immuno-histochimie ont été réalisées sur des coupes coronales cérébrales réalisées après fixation des cerveaux (voir **Matériels et méthodes**). Un anticorps spécifique d'une protéine impliquée dans la réplication de l'ADN lors de la prolifération, PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*), a été utilisé. Les coupes situées entre les positions stéréotaxiques bregma +0.4 mm et +0.9 mm ont ensuite été imagées au microscope confocal, et le nombre de cellules PCNA⁺ a été quantifié sur l'ensemble de la SVZ latéro-dorsale et dorsale. Les résultats présentés sur la **Figure 47** ont été obtenus à partir du premier répliquat seulement, les immunomarquages n'ayant pas été réalisés sur les coupes du répliquat 2. De plus, un cerveau du groupe hypothyroïdien contrôle (PTU C) n'a malheureusement pas permis d'obtenir de coupes exploitables au niveau de la SVZ, et a donc été exclu de l'analyse. Bien que le faible nombre d'animaux par groupe ne m'ait pas permis d'obtenir de résultats significatifs, nous pouvons cependant observer une tendance à l'augmentation du nombre

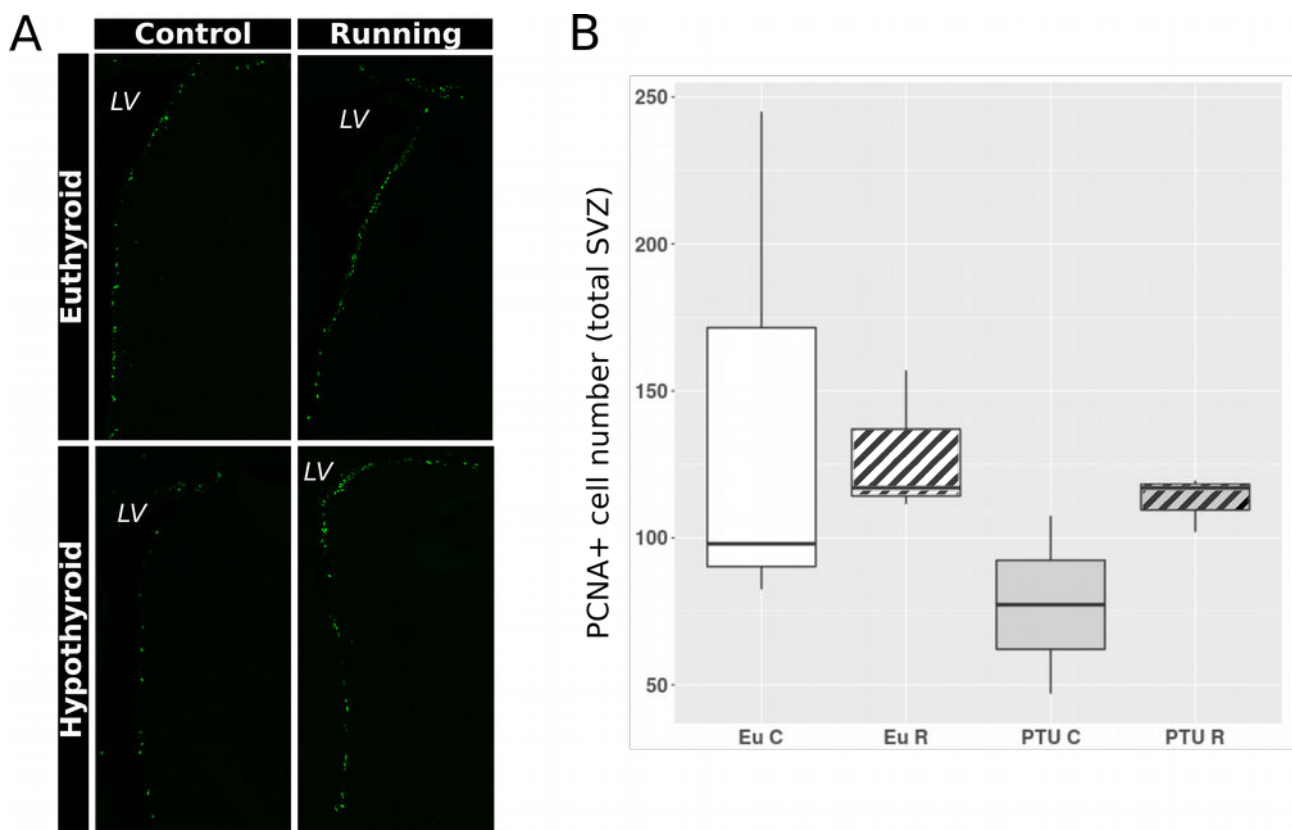


Figure 47: Prolifération cellulaire dans la SVZ de souris eu- et hypothyroïdiennes adultes en conditions contrôle ou d'induction de la neurogenèse par l'activité physique. (A) Images représentatives de la SVZ de souris euthyroïdiennes (*euthyroid*) et hypothyroïdiennes (*hypothyroid*) élevées en conditions contrôle (*control*) ou dans des cages pourvues de roues (*running*). Les cellules PCNA⁺ (vert) ont été révélées par marquage immunohistochimique. LV : ventricule latéral (*lateral ventricle*). (B) Quantification des cellules positives pour PCNA dans les différents groupes. Moyennes par souris du nombre de cellules PCNA⁺ dans la SVZ. Un test de Kruskal-Wallis n'a pas permis d'obtenir de significativité du fait de faible nombre d'échantillons. (n=3 par groupe, et n=2 pour PTU C).

de cellules PCNA⁺ dans la SVZ des souris appartenant aux groupes ayant eu accès à des roues, quel que soit leur statut thyroïdien (Eu R et PTU R, [Figures 47A et 47B](#)). Si le nombre de cellules en prolifération tend à diminuer dans le groupe PTU C en comparaison du groupe Eu C, il est cependant impossible de conclure du fait de la présence de seulement deux animaux dans ce groupe ([Figure 47B](#)). Le nombre de cellules PCNA⁺ semble en revanche très similaire entre les deux groupes « *Running* » (R), laissant envisager une possible compensation des effets de l'hypothyroïdisme sur la prolifération grâce à l'activité physique.

II.3. Analyse de l'influence du statut thyroïdien et de l'activité physique sur l'activation et la différenciation des CSNs dans la SVZ adulte

Pour évaluer l'impact de l'activité physique et de l'hypothyroïdisme sur l'activation des CSNs, des immuno-marquages doubles ont été réalisés à l'aide d'un anticorps dirigé contre p57, protéine active dans les cellules quiescentes, et contre DCX, marqueur des neuroblastes. De la même façon que lors de l'analyse des cellules PCNA⁺, seul le premier réplicat a été utilisé pour cette analyse. La quantification du nombre de cellules positives pour p57 et/ou pour DCX a été faite sur toute la hauteur de la SVZ, en différenciant la zone dorsale (située en bordure du corps calleux) et la zone latéro-ventrale (longeant le striatum). Comme on peut l'observer sur la [Figure 48A](#), on note une nette tendance à la baisse du nombre de cellules quiescentes (p57⁺DCX⁻) chez les animaux euthyroïdiens du groupe R (Eu R), sur l'ensemble de la SVZ. Le nombre de neuroblastes DCX⁺ montre une nette tendance à l'augmentation chez ces mêmes animaux, excepté en zone dorsale ([Figure 48B](#)). Bien que non statistiquement significatives du fait du faible nombre d'animaux, ces observations semblent néanmoins confirmer l'hypothèse d'une augmentation de l'activation des CSNs de la SVZ, et de la neurogenèse en général, par l'activité physique. Chez les animaux hypothyroïdiens en revanche, ce phénomène n'est pas visible. Il n'y a aucune différence notable au niveau du nombre de cellules P57⁺ entre les groupes C et R, et même une tendance à la diminution du nombre de neuroblastes ([Figures 48A et 48B](#)). La comparaison des groupes Eu C et PTU C suggère une possible diminution du nombre de cellules p57⁺, sans pour autant permettre de conclure ([Figure 48A](#)). Étonnamment, on observe une tendance à l'augmentation du nombre de neuroblastes DCX⁺ dans la SVZ latéro-ventrale des animaux PTU C ([Figures 48B](#)). Cette tendance est inversée dans la SVZ dorsale, de façon similaire à ce que nous avons montré précédemment (voir [Résultats I](#)) ([Gothié et al., 2017a](#)). Le n faible rend toutefois toute conclusion impossible à ce stade.

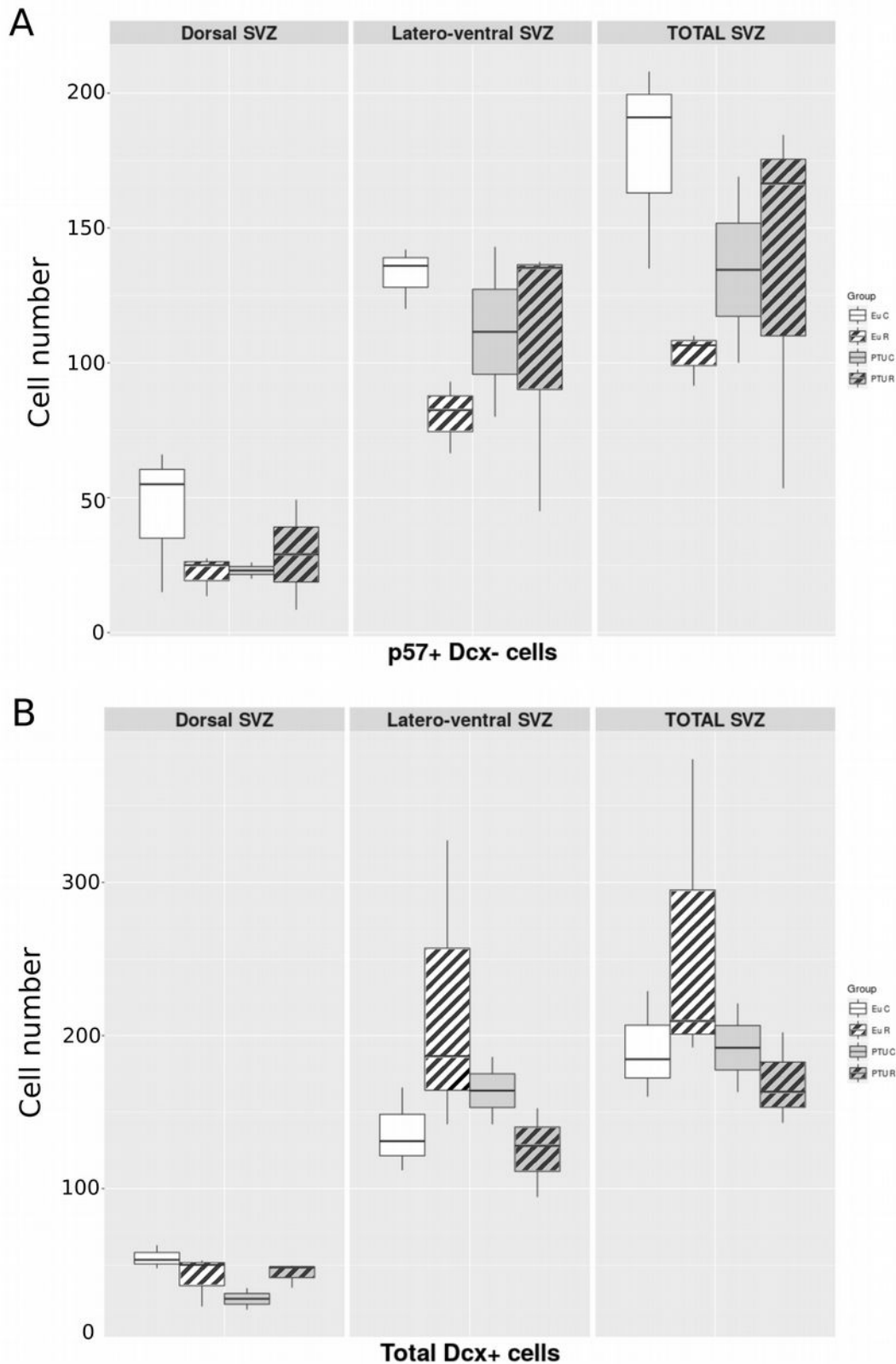


Figure 48: Quantification des cellules quiescentes et des neuroblastes présents dans la SVZ de souris eu- et hypothyroïdiennes adultes en conditions contrôle ou d'induction de la neurogenèse par l'activité physique. (A) Quantification du nombre de cellules p57+DCX- dans la SVZ dorsale et la SVZ latéro-ventrale des animaux issus des quatre groupes. Les données représentées dans la partie droite (« *Total SVZ* ») correspondent à la somme des quantifications des deux sous-régions. (B) Quantification du nombre de cellules DCX+ dans la SVZ dorsale et la SVZ latéro-ventrale des animaux issus des quatre groupes. Les données représentées dans la partie droite (« *Total SVZ* ») correspondent à la somme des quantifications des deux sous-régions. Il n'existe pas de différence significative entre les groupes du fait du faible nombre d'échantillons (n=3 par groupe, et n=2 pour PTU C).

II.4. Discussion

L'étude de l'influence des HTs sur l'activation des CSNs de la SVZ adulte ne m'a permis d'obtenir que des résultats préliminaires à ce jour. Cependant, les tendances observées, qui devront être confirmées, nous donnent plusieurs indications intéressantes. L'observation la plus flagrante est que l'activité physique semble permettre l'activation de la neurogenèse adulte dans la SVZ, en conditions euthyroïdiennes, tout comme cela a déjà été prouvé pour la neurogenèse au niveau de l'hippocampe (Lugert *et al.*, 2010). Le fait de donner aux souris la possibilité de courir dans une roue, dans le cadre d'un espace de vie plus étendu que des souris contrôle, tend en effet à favoriser la diminution du nombre de cellules quiescentes (p57⁺, Figure 48A), et l'augmentation du nombre de cellules prolifératives (PCNA⁺, Figure 47B) et de neuroblastes migratoires (DCX⁺, Figure 48B). Ces résultats ont depuis été confirmés dans plusieurs études effectuées par d'autres équipes (Lee *et al.*, 2016 ; Mastroilli *et al.*, 2017).

S'il n'est pas possible de conclure sur les effets de l'hypothyroïdisme seul (Eu C *vs* PTU C), la comparaison des groupes PTU C et PTU R semble malgré tout indiquer une perturbation de l'activation des CSNs. Aucune tendance notable n'est en effet visible concernant le nombre de CSNs quiescentes entre les deux groupes hypothyroïdiens, contrastant avec la diminution observée dans le groupe euthyroïdien ayant une activité physique (Figure 48A). Une diminution du nombre de neuroblastes chez les PTU R semble même envisageable (Figure 48B). En revanche, le nombre de cellules en prolifération (PCNA⁺) est identique entre les deux groupes ayant pratiqué une activité physique (Figure 47B). On pourrait interpréter cela comme étant dû au blocage des cellules au stade précurseur (NPCs) ou progéniteur du fait de l'absence d'HTs : les cellules ne peuvent pas devenir des neuroblastes, et restent donc à un stade plus prolifératif en conditions d'activité physique combinées à un hypothyroïdisme.

Enfin, les tendances observées sur le nombre de neuroblastes DCX⁺ en eu- et hypothyroïdie apparaissent différentes entre la zone dorsale et la zone latéro-ventrale de la SVZ lorsque l'on compare Eu C et PTU C d'une part et Eu R et PTU R d'autre part (Figure 48B). Si ce résultat était confirmé, cela pourrait laisser envisager une régionalisation de l'action neuralisante de la signalisation thyroïdienne. Les neuroblastes issus des différentes sous-régions de la SVZ n'étant pas voués à devenir le même type d'interneurones (voir Introduction II.3.3.5.), il est tout à fait possible que l'implication des HTs dans la spécialisation des CSNs en neuroblastes ne soit pas la même le long de la SVZ (dorsal *versus* latéro-ventrale).

Dentice *et al.* ont montré que les HTs favorisent le maintien au stade quiescent des cellules souches musculaires chez la souris adulte (Dentice *et al.*, 2014). Le résultat obtenu ici concernant le nombre

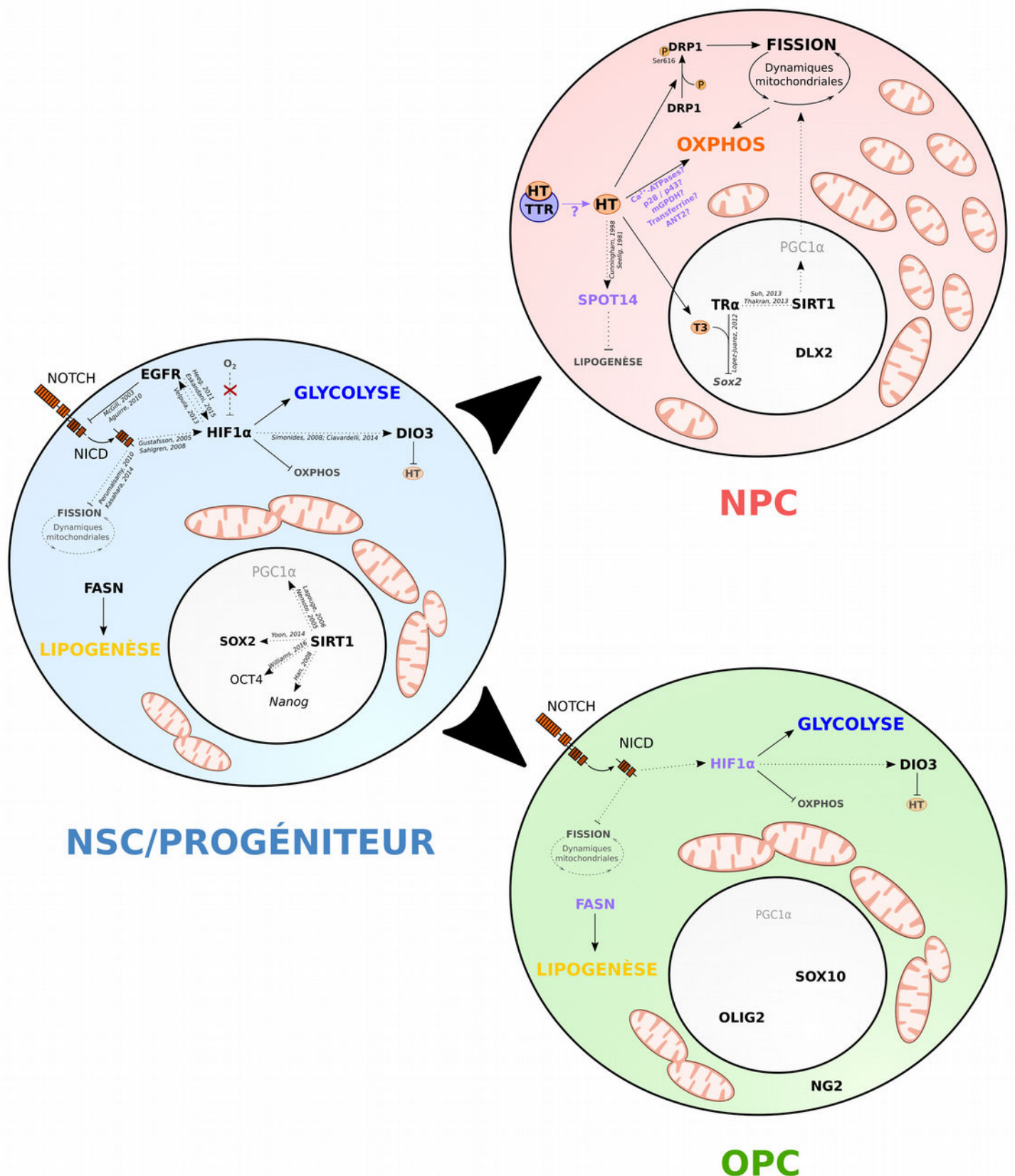
de cellules p57⁺ en hypothyroïdie pourrait être en cohérence avec l'idée d'une action similaire des HTs sur les CSNs quiescentes. Renouveler ces expérimentations est encore une fois indispensable pour conclure.

Discussion générale

Discussion générale

Dans le cerveau adulte, la neurogenèse constitue un ensemble de processus à la dynamique complexe, régulés par de nombreux facteurs extrinsèques et intrinsèques aux cellules. Les facteurs hormonaux, le contexte physiologique et l'environnement cellulaire influencent ainsi les différentes étapes de la neurogenèse, en prenant part aux régulations géniques, protéiques et métaboliques des cellules impliquées. Dans ce contexte, la signalisation thyroïdienne et le métabolisme mitochondrial sont particulièrement décisifs et s'influencent mutuellement pour moduler la prolifération, le choix de destin et la différenciation cellulaires dans les niches neurogéniques. Dans le cadre de mon travail de doctorat, j'ai choisi d'étudier l'influence croisée des hormones thyroïdiennes et du métabolisme mitochondrial sur le choix de destin des cellules souches neurales, dans la SVZ de la souris adulte. J'ai ainsi pu montrer que la signalisation thyroïdienne favorise la détermination vers un destin neuronal, au détriment du destin glial, grâce à l'activation de la respiration et de la fission mitochondriales (Figure 49).

Dans un premier temps, j'ai montré l'influence que les HTs ont sur le choix de destin des progéniteurs issus des CSNs de la SVZ chez l'adulte. *In vivo*, les souris hypothyroïdiennes présentent une diminution du nombre de précurseurs neuronaux DLX2⁺ et de neuroblastes DCX⁺, en parallèle d'une augmentation du nombre de précurseurs oligodendrocytaires OLIG2⁺. *In vitro*, les cellules issues de neurosphères s'engagent préférentiellement vers un destin neuronal en présence de T₃ (5nM et 50nM). Ce résultat indique que les cellules s'engageant vers le destin neuronal ou vers le destin glial ont des réponses antagonistes à la signalisation thyroïdienne : si les CSNs et les progéniteurs se déterminant en NPC sont favorisés par les HTs, l'adoption d'un destin glial nécessite à l'inverse des mécanismes de protection vis-à-vis des HTs. Ainsi, nous avons montré que la désiodase inactivatrice des HTs, la DIO3, est fortement exprimée par les CSNs et par les progéniteurs prolifératifs, mais aussi par les OPCs (Remaud *et al.*, 2017). En revanche, DIO3 est faiblement exprimé dans les neuroblastes (Remaud *et al.*, 2017). Par ailleurs, si le récepteur aux HTs TRα1 est exprimé dans les neuroblastes, son expression n'est en revanche pas détectée au niveau protéique dans les CSNs et les OPCs (López-Juárez *et al.*, 2012, Remaud *et al.*, 2017). Lors de la détermination neuronale, TRα1 réprime directement Sox2, essentiel à la prolifération des CSNs et progéniteurs, en présence de T₃ (López-Juárez *et al.*, 2012). De plus, nous avons montré que la T₃ réprime directement EGFR, facteur de prolifération promouvant également l'oligodendrogenèse (voir Introduction II.3.2.3), au niveau transcriptionnel (Remaud *et al.*, 2017).



-▶ Modulation connue mais non montrée spécifiquement dans ce type cellulaire
- XXX Présence / réaction hypothétique
- XXX À confirmer

Figure 49: Modèle proposé de l'influence de la signalisation thyroïdienne et du métabolisme mitochondrial sur le choix de destin des CSNs de la SVZ adulte. (voir page suivante)

Les HTs sont donc nécessaires à la détermination des progéniteurs vers un destin neuronal, alors que les progéniteurs à destinée gliale sont protégés des effets de la T₃.

La protéine de liaison transthyréthine (TTR) pourrait également être impliquée dans l'action de la T₃ au sein du lignage neuronal. J'ai en effet montré *in vivo*, chez des animaux euthyroïdiens, que la TTR est présente dans le cytoplasme des cellules du lignage neuronal dans la SVZ dès le stade NPC (cellules DLX2⁺ et DCX⁺), mais est en revanche absente des CSNs GFAP⁺ et des OPCs SOX10⁺ (Figure 40). On peut dès lors se poser la question de savoir si cette molécule est traduite par les

NSC/Progéniteur. Le récepteur NOTCH1 est exprimé à la surface des CSNs, permettant, lors de la liaison de leur ligand DLL1, de libérer la sous-unité NICD dans le cytoplasme. Comme cela a été montré dans différents types cellulaires en culture, NICD pourrait alors participer à l'activation de HIF1 α (Gustafsson *et al.*, 2005, Sahlgren *et al.*, 2008). Le fait que la SVZ soit une niche hypoxique favorise également le maintien de HIF1 α , qui est dégradé en présence d'oxygène (O₂). HIF1 α active alors de nombreux effecteurs de la glycolyse, tout en inhibant le cycle de Krebs et donc la phosphorylation oxydative (OXPHOS), limitant fortement la respiration mitochondriale. Dans le cytoplasme, NICD a également la capacité d'inhiber la fission mitochondriale, comme montré dans des cellules cancéreuses de type HeLa. Ce processus, s'il se vérifiait aussi dans les CSNs et les progéniteurs, serait en parfait cohérence avec nos observations d'une très faible activation de l'inhibiteur de la fission, DRP1. Dans les progéniteurs, EGFR peut entraîner l'inhibition de NOTCH1, limitant la libération de NICD dans le cytoplasme (McGill *et al.*, 2003, Aguirre *et al.*, 2010). Comme montré dans différents types cellulaires, dont des cellules neuronales, HIF1 α peut par ailleurs induire directement l'expression de la désiodase de type 3 (DIO3), inhibitrice de la signalisation thyroïdienne (Simonides *et al.*, 2008, Ciavardelli *et al.*, 2014). Or comme nous l'avons montré, DIO3 est exprimée dans les progéniteurs de la SVZ, où il inhibe la signalisation thyroïdienne (Remaud *et al.*, 2017), rendant l'hypothèse d'une activation de la DIO3 par HIF1 α dans les CSNs et progéniteurs particulièrement plausible. HIF1 α peut également faciliter l'activation d'EGFR, via la régulation de PDK1 (Velpula *et al.*, 2013), tandis qu'EGFR peut lui-même favoriser la stabilisation de HIF1 α , comme cela a été montré dans différents types cellulaires tels que des cellules cancéreuses (Heeg *et al.*, 2011, Eskandani *et al.*, 2015). L'expression de SIRT1 dans les cellules indifférenciées permet l'induction des marqueurs caractéristiques des cellules indifférenciées tels que SOX2, OCT4 et NANOG, et pourrait également jouer un rôle dans l'activité de PGC1 α détectée dans ce type cellulaire, si elle se confirmait. Enfin, les cellules prolifératives telles que les progéniteurs expriment FASN, qui permet le maintien d'une forte lipogénèse.

OPC. La DIO3 est également exprimée dans les précurseurs oligodendrocytaires (OPCs) (Remaud *et al.*, 2017), tandis que le métabolisme de ce type cellulaire repose toujours en majorité sur la glycolyse (Gothié *et al.*, 2017a). On sait par ailleurs que NOTCH1 est exprimé par les OPCs résidents, où il permet la répression de la différenciation (Wang *et al.*, 1998, Genoud *et al.*, 2002). Enfin la détermination en OPC est favorisée par une faible disponibilité en O₂. On peut ainsi émettre l'hypothèse d'un maintien de la protéine HIF1 α dans les OPCs grâce à la faible tension en oxygène de la SVZ, et possiblement aussi grâce au NICD, promouvant la glycolyse et l'inhibition de la signalisation thyroïdienne. FASN pourrait également être maintenu, favorisant le maintien d'une lipogénèse importante.

NPC. L'activation de la signalisation thyroïdienne est nécessaire à la détermination en précurseur neuronal (NPC). La transthyréthine (TTR) est présente dans le cytoplasme des NPCs, jouant potentiellement un rôle important dans la présence d'HTs dans ce type cellulaire. La T₃ inhibe l'expression de SOX2 via son interaction avec le récepteur TR α au niveau d'un TRE négatif (Lopez-Juarez *et al.*, 2012). Les HTs promeuvent par ailleurs la phosphorylation du résidu serine 616 de DRP1, qui peut alors activer la fission mitochondriale. SIRT est préférentiellement maintenu dans les cellules se déterminant en NPCs (Gothié *et al.*, 2017a), où il pourrait jouer un rôle de coactivateur de TR α (Suh *et al.*, 2013, Thakran *et al.*, 2013) ou dans l'activation de PGC1 α . En parallèle de l'augmentation des dynamiques mitochondriales, qui favorisent l'activité des mitochondries, la signalisation thyroïdienne peut activer la phosphorylation oxydative grâce à différentes actions précoces et tardives. L'activation des pompes à calcium (Ca²⁺-ATPases) et des ANTs, l'importation de p28 au niveau mitochondrial, ou l'activation de la mitogenèse via l'interaction avec le récepteur p43 au niveau du génome mitochondrial pourraient être les moyens de l'activation rapide des mitochondries par les HTs dans les NPCs. Dans un deuxième temps, l'activation transcriptionnelle de la mGPDH, de l'ANT2 ou de la transferrine peuvent également promouvoir l'activité mitochondriale. Enfin, les HTs pouvant activer l'expression de SPOT14 de manière directe (Seelig *et al.*, 1981, Cunningham *et al.*, 1998), et pourraient par ce biais entraîner la diminution de la lipogénèse.

NPCs et les neuroblastes, ou si la TTR pourrait être internalisée à partir du liquide céphalo-rachidien, où elle est présente en quantité importante. Li *et al.* ont montré *in vitro* que des neurones d'une souche murine constituant un modèle de la maladie d'Alzheimer (souche APP23, surexprimant le gène *App*, *amyloid precursor protein*) expriment la TTR, là où les neurones de souris contrôle ne l'expriment pas (Li *et al.*, 2011). Par ailleurs, la TTR interagit avec les peptides β -amyloïde, limitant vraisemblablement leur agrégation (Li *et al.*, 2011). Ce résultat montre la capacité des neurones matures à moduler l'expression de la TTR en réponse aux conditions physiologiques. Ainsi, on peut émettre l'hypothèse que les NPCs et neuroblastes de la SVZ pourraient également exprimer la TTR de façon transitoire. Cette expression de la TTR pourrait permettre aux cellules de stocker les HTs présentes dans le cytoplasme, et de les rendre disponibles lorsque les taux intracellulaires d'HTs diminuent. Par ailleurs, il a été démontré dans des trophoblastes humain en culture que des conditions hypoxiques (1% et 3% O₂) favorisent une augmentation drastique de l'expression de la TTR (Patel *et al.*, 2011, Patel *et al.*, 2012). Le mécanisme exact permettant l'activation de la transcription du gène *TTR* dans ces conditions n'a en revanche pas été découvert. Les niches neurogéniques du cerveau adulte possédant une faible tension en O₂, le mécanisme d'activation de l'expression de la TTR observé en conditions hypoxiques pourrait ainsi vraisemblablement être conservé dans certaines des cellules de la SVZ. Ainsi il serait particulièrement intéressant d'étudier la régulation du gène *Ttr* dans les cellules de la niche, afin de comprendre quel mécanismes régulent son expression spécifique au lignage neuronal. Un mutant conditionnel permettant d'invalider l'expression de la TTR dans un type cellulaire spécifique serait d'autre part un outil de choix pour étudier le phénotype associé à la perte de fonction de TTR.

Les progéniteurs et NPCs étant situés à proximité des ventricules latéraux au moment de la détermination, on peut aussi émettre l'hypothèse d'une internalisation de TTR en provenance du liquide céphalo-rachidien. On sait en effet que certaines cellules possèdent des récepteurs membranaires permettant la fixation et l'entrée de la TTR dans leur cytoplasme, comme montré pour les récepteurs LRP (low density lipoprotein receptor-related protein) situés en surface des trophoblastes (Landers *et al.*, 2013). Les LRPs permettent également de faciliter l'internalisation d'autres ligands, tels que sonic hedgehog (Capurro *et al.*, 2012, McCarthy *et al.*, 2002, Morales *et al.*, 2006). Or, comme détaillé dans une revue écrite par Auderset *et al.*, plusieurs LRPs (particulièrement LRP1 et LRP2) sont exprimés – entre autres – par les cellules épendymales, les CSNs, les neuroblastes et les OPCs de la SVZ chez la souris adulte, et participent à la régulation de la prolifération, de la différenciation et de la migration cellulaires (Auderset *et al.*, 2016). Par ailleurs, il a été montré, dans les cellules hépatiques de souris, que la LRP1 peut être régulée par la

T₃ : un hypothyroïdisme induit *in vivo* ou *in vitro* entraîne en effet une diminution de l'expression de LRP1, rétablie au niveau contrôle suite à un traitement à la T₃ (Moon *et al.*, 2013). La signalisation thyroïdienne étant activée lors de la détermination des progéniteurs en NPCs, LRP1 pourrait être induit par la T₃ lors de la détermination neuronale. Il pourrait donc être intéressant de rechercher une éventuelle corrélations entre le signal détecté pour la TTR et l'expression des différentes LRPs exprimées dans la niche, par exemple par des expériences d'immuno-histochimie. De plus, afin d'examiner si la TTR présente dans les ventricules latéraux est en effet internalisée par les cellules s'engageant vers un destin neuronal, des injections ICV de TTR marquée (utilisée dans plusieurs travaux, voir par exemple Landers *et al.*, 2013, Patel *et al.*, 2012, Alemi *et al.*, 2016) pourraient être envisagées. Des CSNs issues de neurosphères mises en différenciation en présence de TTR pourraient également permettre d'évaluer si l'internalisation de cette dernière favorise une détermination neuronale.

Contrairement à ce qui a été observé *in vitro* dans des conditions de différenciation en présence d'une forte concentration en HTs, j'ai observé qu'une hyperthyroïdie chez la souris n'entraîne pas d'augmentation du nombre de neuroblastes produits dans la SVZ, ni de diminution du nombre d'OPCs *in vivo*. Cette différence entre les résultats obtenus *in vivo* et *in vitro* semble indiquer que la niche neurogénique est protégée d'un excès d'HTs circulantes. Les processus impliqués restent à définir, et pourraient consister en la modulation de l'expression des désiodases, des transporteurs des HTs, ou encore de la TTR. Il serait particulièrement intéressant d'étudier l'expression de ces différents acteurs de la signalisation thyroïdienne dans les cellules de la niche soumises à différentes conditions de disponibilité en HTs. Cela pourrait se faire *in vivo* en modulant le statut thyroïdien des animaux, et *in vitro* en mimant des conditions d'hyperthyroïdie ou d'hypothyroïdie. L'hyperthyroïdie peut être simulée en culture grâce à l'ajout de T₃, ou par l'utilisation d'une combinaison de T₃ et de T₄. En effet, la modulation conjointe des taux de T₃ et de T₄ permettrait la mise en place de conditions expérimentales plus proches des conditions physiologiques, qui pourraient permettre d'analyser à la fois les effets génomiques de la T₃ mais aussi les effets précoces non-génomiques de la signalisation thyroïdienne, qui peuvent être provoqués par les différentes formes d'HTs. D'autre part, une simulation de conditions hypothyroïdiennes *in vitro* peut également être entreprise, par exemple grâce à l'utilisation de la molécule NH₃, antagoniste des TRs bloquant la fixation de la T₃ sur son récepteur et ainsi l'activation des gènes cibles. L'utilisation dans le milieu de culture de sérum de veau fœtal traité au charbon actif, traitement qui permet d'éliminer l'ensemble des hormones présentes, permettrait d'obtenir des conditions expérimentales d'hypothyroïdisme plus

proches des conditions physiologiques. Les effets génomiques comme les effets non-génomiques des HTs pourraient ainsi être réduits.

Par ailleurs, un tri cellulaire permettrait d'analyser, au sein des cellules des différents lignages, les régulations géniques provoquées par les changements de disponibilité en HTs. Pour cela la mise au point du protocole de tri cellulaire par cytométrie en flux que j'ai entrepris devra être menée à terme, tout particulièrement en caractérisant de façon plus précise les marqueurs utilisés pour les lignages neuronal et glial. Ainsi des co-immunomarquages ou l'utilisation d'un marqueur des cellules non-déterminées dans les analyses par FACS pourraient permettre d'identifier plus nettement à quels stades des différents lignages PDGFR α et CD24 sont exprimés. Une fois le tri mis en place, une remise en culture des cellules pourrait permettre de vérifier le destin cellulaire des différentes populations. Une analyse des différences transcriptomiques existant entre les lignages pourrait également être réalisée, par des approches gènes-candidats (gènes codant pour des acteurs de la signalisation thyroïdienne, gènes clés de la détermination neuronale et gliale) en qPCR ou par une approche d'analyse à large échelle (RNAseq ou séquençage sur cellule unique).

L'analyse du métabolisme mitochondrial *in vivo* et *in vitro* a révélé plusieurs différences entre les lignages cellulaires issus de la SVZ. L'activité mitochondriale apparaît ainsi plus importante dans les cellules s'engageant vers la voie neuronale que vers la voie gliale, et s'accompagne d'une production plus importante de ROS. Ces deux aspects sont modulés par la signalisation thyroïdienne : un hypothyroïdisme *in vivo* provoque une baisse de la respiration mesurée dans les neuroblastes, alors qu'une forte concentration en HTs *in vitro* entraîne une augmentation de la production de ROS mitochondriaux.

Une analyse plus fine de la production de ROS au cours de la neurogenèse serait intéressante pour analyser les différences fonctionnelles entre les ROS produit par les NOXs et ceux provenant des mitochondries. En effet, Le Belle *et al.* ont montré que la production de ROS par les NOXs promeut la prolifération des CSNs activées (Le Belle *et al.*, 2011), tandis que Rharass *et al.* ont révélé la nécessité d'une augmentation de la production de ROS mitochondriaux pour la différenciation des progéniteurs (Rharass *et al.*, 2014). Les ROS provenant des NOXs et des mitochondries semblent donc provoquer la modulation de voies de signalisation distinctes. Nous avons vu que les HTs provoquent l'augmentation de la production de ROS et la détermination vers un destin neuronal via leur influence sur l'activité mitochondriale. Ainsi, on pourrait envisager de chercher à moduler la production de ROS par les NOXs et par les mitochondries dans différents contextes thyroïdiens afin d'évaluer l'impact croisé des trois facteurs sur la prolifération et la différenciation cellulaires.

Parmi les modulateurs du métabolisme mitochondrial, j'ai pu montrer que les HTs activaient DRP1, activateur de la fission. On observe en effet une présence accrue de pDRP1^{Ser616} dans le cytoplasme des cellules du lignage neuronal en présence d'une concentration élevée d'HTs dans le milieu de culture, et ce sans augmentation de DRP1 totale. L'augmentation de la fission mitochondriale provoquée par pDRP1^{Ser616} permet vraisemblablement de favoriser la dissémination des mitochondries à l'intérieur du cytoplasme des neuroblastes. Ce résultat est en accord avec les changements morphologiques mitochondriaux constatés par Khacho *et al.* au cours de la différenciation neuronale des CSNs de la SVZ embryonnaire, où les mitochondries présentent d'abord une morphologie allongée, et se fragmentent au début de la différenciation (Khacho *et al.*, 2016, Khacho et Slack, 2017). Il confirme également l'importance déjà observée de l'activation de DRP1 pour la différenciation et la migration de cellules neuronales issues de la SVZ adulte *in vitro* (Kim *et al.*, 2015), et pour le fonctionnement des neurones matures (Kann et Kovás, 2007), qui nécessitent des mitochondries mobiles et réparties dans les prolongements axonaux pour permettre un apport énergétique suffisant dans les différentes régions cellulaires. Ces observations sont également cohérentes avec les changements d'activité mitochondriale, puisque l'on sait que la fission ainsi que les autres changements morphologiques liés aux dynamiques mitochondriales sont nécessaires à l'augmentation de la respiration et de la production de ROS mitochondriaux (Benard *et al.*, 2007, Yu *et al.*, 2006b, Khacho *et al.*, 2016)

Parmi les mécanismes pouvant expliquer l'augmentation de l'activation de DRP1 en présence d'HTs, on peut émettre l'hypothèse d'une activation de la calcineurine. En effet, la déphosphorylation de la sérine 637 de DRP1 (phosphorylation inhibitrice) par la calcineurine permet à la DRP1 d'être activée et promeut sa translocation vers la surface mitochondriale (Cereghetti *et al.*, 2008, Friedman et Nunnari, 2014). Or un des effets précoces de l'action des HTs est d'activer les pompes à calcium membranaires, entraînant une augmentation de la concentration cytoplasmique en Ca²⁺ (Mylotte *et al.*, 1985, Davis *et al.*, 1989). La calcineurine étant dépendante de la présence de calcium, on peut supposer que l'action des HTs favoriserait son activation, puis par ricochet celle de DRP1. Par ailleurs, le calcium cytoplasmique a également pour effet de réguler les déplacements mitochondriaux : en limitant localement l'activité des kinésines, le calcium favorise l'accumulation de mitochondries là où il est présent (Liu et Hajnózy, 2009). De plus, l'hypothèse a été émise que DCX, qui catalyse la polymérisation des microtubules spécifiquement dans les neuroblastes, pourrait être activé par la présence de Ca²⁺ (Sossey-Alaoui *et al.*, 1998). Cette supposition a été faite sur la base d'une forte homologie de séquence avec une protéine activée par le complexe Ca²⁺/calmoduline, mais n'a pas été fonctionnellement vérifiée à ma connaissance. Si elle s'avérait

exacte, l'apport de calcium lié à l'activité des HTs pourrait jouer un rôle majeur dans la détermination des progéniteurs en promouvant à la fois l'activation de DCX, la fission, et la dissémination des mitochondries le long des microtubules.

Parmi les autres effets précoces pouvant impacter le métabolisme mitochondrial, il a été montré que les HTs peuvent induire une activation des transporteurs d'ATP et d'ADP, les ANTs, dès deux heures d'exposition (Seitz *et al.*, 1985, Lanni *et al.*, 2016). Cette activation entraîne alors une augmentation de la sortie d'ATP depuis la matrice mitochondriale vers le cytoplasme, et à l'inverse une entrée plus importante d'ADP dans la matrice. L'activité de la chaîne respiratoire est alors stimulée grâce à l'activation de l'ATP synthase par l'ADP. Par ailleurs, on sait que la T_3 peut induire l'importation du récepteur tronqué aux HTs p28, depuis le cytoplasme vers la membrane interne mitochondriale, en 45 minutes sur mitochondries isolées de foie de rat (Pessemesse *et al.*, 2014). Bien que la fonction de p28 reste mal comprise, elle pourrait participer à une modification des dynamiques mitochondriales, comme montré dans des cultures de fibroblastes. L'autre récepteur tronqué présent au niveau mitochondrial, p43, stimule la biogenèse mitochondriale et la respiration en présence de T_3 (Wrutniak *et al.*, 1995, Casas *et al.*, 1999, Rochard *et al.*, 2000, Grandemange *et al.*, 2005, Seyer *et al.*, 2011). Le récepteur p43 possède un site de liaison à l'ADN, lui permettant de se lier au niveau du génome mitochondrial et d'induire sa transcription dès les premières minutes d'exposition de mitochondries isolées à la T_3 (Casas *et al.*, 1999). Il serait ainsi particulièrement intéressant d'étudier la présence de ces deux récepteurs tronqués dans les cellules de la niche neurogénique, et d'analyser l'impact qu'ils pourraient avoir sur les changements morphologiques des mitochondries, et a fortiori sur le choix du destin des progéniteurs.

La régulation du métabolisme mitochondrial par les HTs dans les cellules de la SVZ pourrait également impliquer le métabolisme du fer. Comme nous l'avons vu, la présence de fer est indispensable au bon fonctionnement de la chaîne respiratoire (voir [Introduction III.2.3](#) et [Figure 24](#)). Le fer permet également l'activation de la prolyl hydroxylase (PHD), qui permet la dégradation de HIF1 α en présence d'O₂ (voir [Introduction III.3.1](#) et [Figure 27](#)). Dans l'organisme, le fer (Fe³⁺) est principalement transporté par la transferrine (Tf), une glycoprotéine qui possède des récepteurs spécifiques, les TfR (*transferrin receptors*), présents à la surface de cellules cibles. Lorsque le complexe Fe³⁺-Tf se fixe sur le TfR, l'ensemble Fe³⁺-Tf-TfR est internalisé par endocytose, puis le fer est réduit sous sa forme Fe²⁺ et relargué dans le cytoplasme. Il peut alors être stocké ou utilisé

par la cellule, notamment au niveau mitochondrial. La transferrine permet le transport du fer dans les capillaires sanguins, et au niveau cérébral pourrait traverser les cellules des plexus choroïdes (Crowe et Morgan, 1992) et de la barrière hémato-encéphalique (Fishman *et al.*, 1987, Skarlatos *et al.*, 1995). Ces mécanismes restent cependant controversés (Leitner et Connor, 2012). On sait en revanche que la transferrine est directement synthétisée par plusieurs types cellulaires du cerveau chez les mammifères : les cellules du plexus choroïde (Aldred *et al.*, 1987, Connor and Benkovic, 1992) et les oligodendrocytes (Connor et Benkovic, 1992, Espinosa de los Monteros *et al.*, 1994). Si l'expression et la sécrétion de la Tf par le plexus choroïde joue probablement un rôle dans le transport du fer au niveau du liquide céphalo-rachidien (Malecki *et al.*, 1999), le rôle de la Tf dans les oligodendrocytes reste mal compris. En effet, ce type cellulaire ne sécrète pas la glycoprotéine (Møllgård *et al.*, 1988, de Arriba Zerpa *et al.*, 2000), et contrairement aux neurones chez l'adulte (Connor et Menzies, 1995, Moos, 1996) ou aux OPCs chez le rat nouveau-né (Pérez *et al.*, 2013), les oligodendrocytes matures n'expriment pas de TfR (Han *et al.*, 2003, Moos *et al.*, 2007, Todorich *et al.*, 2008). Le fer pourrait en revanche pénétrer dans les oligodendrocytes via d'autres récepteurs (Todorich *et al.*, 2008), et l'hypothèse a été émise que l'expression de la Tf servirait de moyen de stockage du fer interne à ces cellules (Todorich *et al.*, 2009).

Il a été montré *in vitro* dans des cellules hépatiques exprimant TR α 1 que les HTs induisent directement la transcription de la Tf via un TRE (Lin *et al.*, 2003). Marziali *et al.* ont de plus montré dans la SVZ une diminution de l'expression de la Tf (ARNm et protéine) chez des souris hypothyroïdiennes à P10 et à P20, montrant que cette régulation a également lieu *in vivo* au niveau cérébral (Marziali *et al.*, 2015). Les auteurs ont de plus étudié l'influence de la Tf et des HTs sur la différenciation et la maturation des oligodendrocytes *in vivo*. Ils ont ainsi observé qu'une hyperthyroïdie ou une injection intracérébrale d'apo-Tf entraînaient de façon similaire une diminution du nombre d'OPCs PDGFR α ⁺ à P10, et une augmentation du nombre d'oligodendrocytes matures MBP⁺ à P10 et P20, au dessus des ventricules latéraux (Marziali *et al.*, 2015). À l'inverse, une hypothyroïdie depuis le stade E18 entraîne une augmentation du nombre d'OPCs à P10, phénotype rétabli au niveau du contrôle en hypothyroïdie avec injection d'apo-Tf. L'hypothyroïdie entraîne également une diminution du nombre d'oligodendrocytes matures à P10 et P20, sans effet suffisant de l'apo-Tf pour rétablir un niveau normal (Marziali *et al.*, 2015). Ces résultats font écho à nos études montrant dans des conditions physiologiques et pathologiques (modèle murin de démyélinisation) qu'un hypothyroïdisme transitoire favorise la détermination des CSNs et progéniteurs en OPCs (Remaud *et al.*, 2017 ; Gothié *et al.*, 2017a). Ils montrent de plus l'importance de l'apport en fer, via la transferrine, sur ces processus. Les HTs induisent en effet l'expression de la Tf dans la SVZ, et cette dernière influence le phénotype observé dans la niche. On peut ainsi

supposer que l'entrée de fer médiée par la transferrine pourrait constituer un des moyens d'activation du métabolisme mitochondrial et d'inhibition du métabolisme glycolytique (via l'activation de la PHD), sous l'influence des HTs. Ainsi il serait particulièrement intéressant d'étudier les régulations croisées des HTs et du métabolisme du fer sur l'activation mitochondriale et le choix de destin cellulaire dans la SVZ adulte.

Les modulations de la voie Notch pourraient également être impliquées dans les changements mitochondriaux ayant lieu lors de la détermination. Il a en effet été montré dans différentes lignées cellulaires que le NICD (le domaine intracellulaire du récepteur Notch, voir [Figure 17](#)), une fois libéré dans le cytoplasme suite à l'activation de la voie Notch, peut entraîner une inhibition de la fragmentation mitochondriale via Akt et les mitofusines MFN1 et MFN2 ([Perumalsamy et al., 2010](#), [Kasahara et Scorrano, 2014](#)). Ainsi, sachant que la voie Notch est particulièrement importante pour le maintien du pool de CSNs adultes dans la SVZ ([Imayoshi et al., 2010](#), [McGill et McGlade, 2003](#), [Aguirre et al., 2010](#)), et qu'elle peut être modulée par les HTs ([Bansal et al., 2005](#), [Sirakov et al., 2015](#)), il serait intéressant d'analyser l'influence de l'interaction entre les HTs et la voie Notch sur le métabolisme, et sur la prolifération et la détermination des CSNs adultes. En effet, on sait que l'activation de la voie Notch est nécessaire à la génération des OPCs embryonnaires ([Genoud et al., 2002](#)), et pourrait donc également jouer un rôle dans le choix du destin cellulaire chez l'adulte. Si cette hypothèse se vérifiait, elle serait en accord avec la très faible activation de DRP1 dans les OPCs que j'ai observée, qui pourrait être en partie influencée par la voie Notch.

La voie Wnt, qui stimule la prolifération des CSNs, pourrait également jouer un rôle dans les changements de métabolisme mitochondrial au cours de la neurogenèse adulte. Il a en effet été prouvé *in vitro*, dans des cellules tumorales, que l'activation de la voie Wnt/ β -caténine promeut la glycolyse aérobie ([Sherwood et al., 2014](#), [Pate et al., 2014](#)). De plus, elle peut entraîner une diminution de la présence de DRP1 au niveau mitochondrial, et une augmentation de l'expression des mitofusines ([Brown et al., 2017](#)), impactant ainsi les dynamiques mitochondriales. Cette influence de la voie Wnt sur le métabolisme mitochondrial et la glycolyse correspond donc typiquement au métabolisme des cellules souches. Or on sait que la voie Wnt et la signalisation thyroïdienne peuvent interagir (voir [Introduction II.3.3.1](#)): la régulation du métabolisme mitochondrial par les HTs dans le cadre de la neurogenèse adulte pourrait donc également impliquer la voie Wnt.

On peut d'autre part se demander si les effets des HTs sur le métabolisme mitochondrial au cours de la détermination neuronale sont identiques dans les différentes sous-régions de la SVZ. Lorsque j'ai étudié l'influence de l'activité physique sur la neurogenèse, j'ai montré une tendance opposée des effets de l'hypothyroïdisme sur le nombre de neuroblastes produits dans la zone dorsale par rapport à la zone latéro-ventrale de la SVZ (Figure 48). Si cette tendance se confirmait, on pourrait émettre l'hypothèse que la signalisation thyroïdienne influence différemment la détermination des cellules appartenant à ces deux zones, potentiellement du fait d'un impact divergent sur leur métabolisme mitochondrial. Une telle régionalisation de la signalisation thyroïdienne pourrait ainsi jouer un rôle dans la spécification des sous-types d'interneurones générés à partir des CSNs. Cela serait en accord avec l'observation de Santilli *et al.* selon laquelle des conditions de différenciation hypoxiques influencent la génération du sous-type neuronal issu de la différenciation de CSNs humaines (Santilli *et al.*, 2010). L'étude de la migration et de la différenciation des neuroblastes issus des différentes régions de la SVZ, ainsi que de leur métabolisme mitochondrial, dans différentes conditions de disponibilité en HTs, pourrait permettre de déterminer si des différences de métabolisme mitochondrial sont liées à la mise en place d'un type d'interneurone particulier.

Comme nous l'avons vu, le passage d'un métabolisme basé sur la glycolyse à un métabolisme utilisant principalement la phosphorylation oxydative provoque d'importants changements au niveau de la production d'ATP et de lactate, mais aussi de la formation de nouveaux lipides, nucléotides et acides aminés (voir Figure 27). Ainsi le métabolisme glycolytique permet notamment aux cellules prolifératives de produire une plus grande quantité de lipides, nécessaires à la génération de la membrane des cellules filles. Mes résultats indiquent que les cellules se déterminant en OPCs, au lieu de voir leur respiration mitochondriale – et donc leur phosphorylation oxydative – augmentée, conservent un métabolisme principalement basé sur la glycolyse. La présence de T_3 peut participer à la diminution de la biosynthèse lipidique, grâce à une activation directe du gène codant SPOT14 (Seelig *et al.*, 1981, Cunningham *et al.*, 1998). Au contraire des NPCs, les OPCs expriment la DIO3 (Remaud *et al.*, 2017), invalidant la T_3 : la limitation de la production lipidique par la T_3 ne peut pas avoir lieu dans ce type cellulaire.

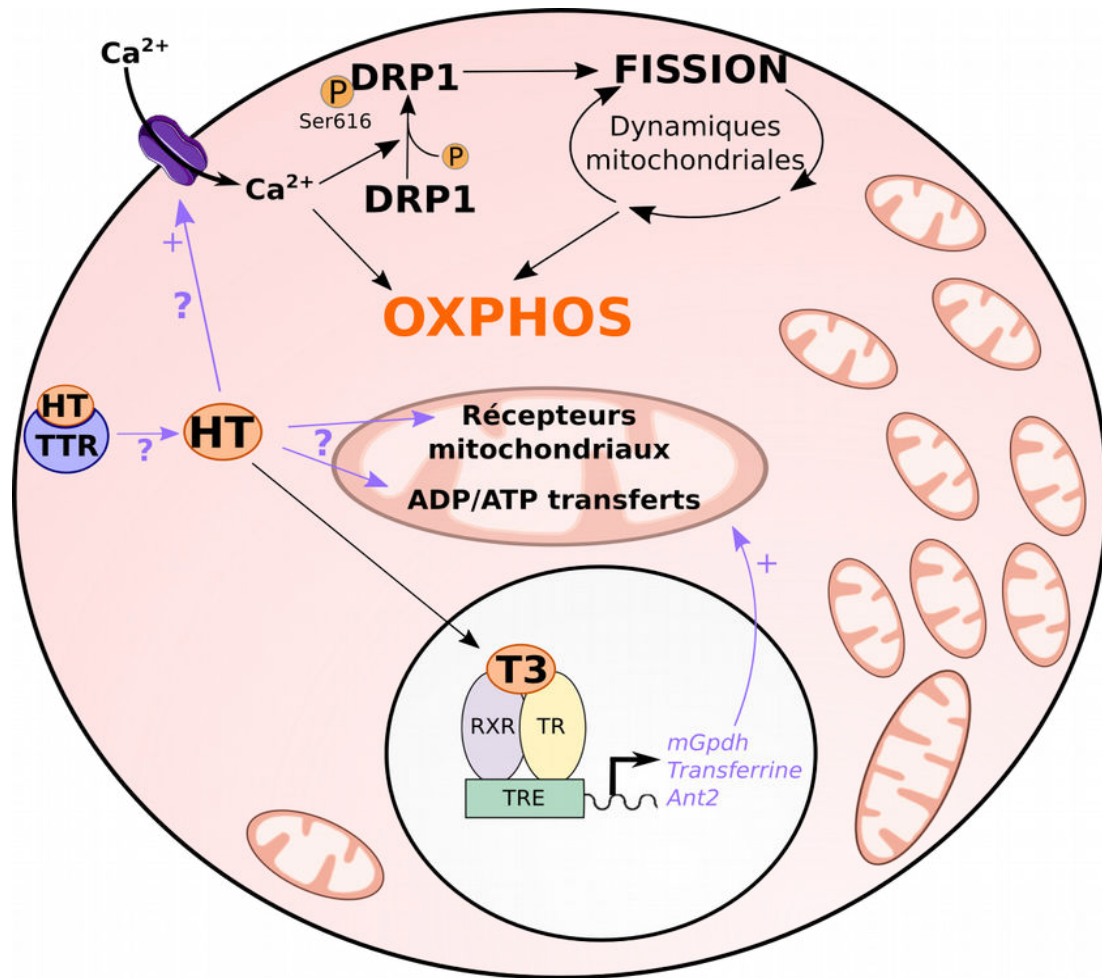
Il serait intéressant d'évaluer si le ratio entre les deux types de métabolismes énergétiques reste différent dans les phases plus tardives, lors de la différenciation et de la maturation des oligodendrocytes et des neurones. Sachant que les oligodendrocytes matures doivent produire une quantité importante de lipides pour générer la myéline, qu'ils contiennent moins de mitochondries

que les neurones et que celles-ci sont peu actives et peu mobiles (Rinholm *et al.*, 2016), et enfin qu'elles utilisent une grande quantité de lactate (Rinholm *et al.*, 2011, Sánchez-Abarca *et al.*, 2001), il est en effet possible que les différences de métabolisme initiées dès la détermination des progéniteurs soient également retrouvées partiellement dans les cellules matures. Même si les oligodendrocytes matures utilisent nécessairement la respiration mitochondriale de façon plus importante que les OPCs, il est probable que leur métabolisme glycolytique reste cependant supérieur à celui des neurones.

Une compréhension fine des mécanismes impliqués dans le choix du destin et de la différenciation des CSNs adultes est essentielle dans le cadre de la lutte contre les maladies neurodégénératives. Des traitements visant à favoriser la génération de nouveaux neurones et/ou de nouvelles cellules gliales pourraient en effet réduire l'impact et la progression de ces maladies. Plus généralement, l'importance des facteurs extrinsèques sur la modulation de la prolifération et de la différenciation des CSNs implique que des variations de facteurs externes peuvent avoir un impact sur la neurogenèse. Ainsi, une variation des taux d'hormones circulantes (HTs, prolactine, œstrogènes, progestérone, testostérone, mélatonine, insuline) peut avoir des conséquences sur la prolifération, la détermination, la différenciation, la migration et la maturation des neurones et des cellules gliales, lors de la neurogenèse adulte comme lors de la neurogenèse embryonnaire. Mais certaines molécules présentes dans l'environnement peuvent aussi moduler ces signalisations hormonales. À notre époque, de nombreux xénobiotiques peuvent en effet perturber le fonctionnement normal des hormones, et notamment des HTs : les perturbateurs endocriniens (PEs). Les PEs ciblant la signalisation thyroïdienne peuvent par exemple interférer avec la synthèse des HTs ou de la TSH, avec le fonctionnement des désiodases, ou encore avec les transporteurs des HTs (Leonetti *et al.*, 2016, Patrick, 2009, Porterfield, 2000, Dong *et al.*, 2017). Chez l'homme, plusieurs dizaines de molécules artificielles, dont certaines peuvent agir en tant que PEs, sont présentes aujourd'hui dans le sang d'une majorité de personnes testées (Woodruff *et al.*, 2011), dans le liquide amniotique des femmes enceintes (Cariou *et al.*, 2015), ou encore dans le lait maternel (Gascon *et al.*, 2012). Or il a été montré, dans différents modèles animaux, que le développement cérébral pouvait être impacté par certains de ces PEs. L'exposition de têtards de xénope à un mélange de molécules retrouvées dans le liquide amniotique des femmes enceintes entraîne ainsi une perturbation de la signalisation thyroïdienne, qui se traduit par la modulation de plusieurs gènes cibles des HTs, et influence la prolifération et le ratio neurones/oligodendrocytes dans le cerveau des têtards (Fini *et al.*, 2017).

Une exposition à des retardants de flamme durant le développement embryonnaire perturbe également la signalisation thyroïdienne, entraînant des retards psychomoteurs et mentaux chez l'homme et le rongeur (Czerska *et al.*, 2013), tandis qu'une exposition au bisphénol-A (BPA), également perturbateur de la signalisation thyroïdienne (Fini *et al.*, 2007, Somogyi *et al.*, 2016), peut inhiber le développement dendritique (Kimura-Kuroda *et al.*, 2007). La méta-analyse de plusieurs études réalisées chez l'homme a montré l'existence d'une corrélation négative entre le quotient intellectuel d'enfants et leur exposition à des PCBs (Polychlorobiphényles) avant la naissance (Wise *et al.*, 2012). L'exposition au BPA peut par ailleurs empêcher une myélinisation normale durant le développement, et inhiber la prolifération et la différenciation cellulaires lors de la neurogenèse embryonnaire et adulte chez le rat (Tiwari *et al.*, 2015a, Tiwari *et al.*, 2015b). Or, il a été montré qu'une exposition au BPA peut entraîner des dysfonctionnements mitochondriaux dans de nombreux types cellulaires, dont les CSNs de l'hippocampe chez le raton (Agarwal *et al.*, 2016). Agarwal *et al.* ont ainsi montré que l'exposition au BPA entraîne une perturbation des dynamiques mitochondriales dans les CSNs de l'hippocampe, provoquant une augmentation de la production de ROS et une diminution de la production d'ATP du fait d'une suractivation de DRP1 (Agarwal *et al.*, 2016). Compte tenu de la capacité du BPA à perturber la signalisation thyroïdienne, et de l'importance des HTs dans la modulation des dynamiques et de l'activité mitochondriales, il est probable que les effets mitochondriaux observés par Agarwal *et al.* soient directement liés à l'impact du BPA sur la signalisation thyroïdienne lors de la neurogenèse hippocampale. Une étude approfondie des effets des PEs sur le métabolisme mitochondrial lors de la neurogenèse embryonnaire et adulte apparaît ainsi très pertinente au vu des enjeux de santé publique soulevés par une exposition devenue presque inévitable à de nombreux PEs.

Ce travail de doctorat m'a permis d'étudier l'influence croisée de la signalisation thyroïdienne et du métabolisme mitochondrial sur la neurogenèse adulte. Cette interaction entre la signalisation thyroïdienne et le métabolisme a jusque-là rarement été étudiée dans ce contexte. Grâce au développement de protocoles spécifiques qui m'ont permis de quantifier la production de ROS et la respiration mitochondriale des différents types cellulaires co-existants dans la SVZ *in vivo* et *in vitro*, et ce dans différents contextes thyroïdiens, j'ai pu montrer que l'action des HTs induit la détermination des CSNs de la SVZ adulte vers un destin neuronal grâce à l'activation des mitochondries. Un contexte hypothyroïdien ou une inhibition de l'activité mitochondriale empêchent ainsi l'engagement des cellules vers la voie neuronale, mais pas vers la voie gliale. En



PRÉCURSEUR NEURONAL

Figure 50: Processus potentiellement impliqués dans l'activation du métabolisme mitochondrial par les HTs lors de la détermination neuronale. La transthyréthine (TTR) est présente dans le cytoplasme des NPCs, jouant potentiellement un rôle important dans la présence d'HTs dans ce type cellulaire. Une activation des pompes à calcium membranaires par les HTs, en favorisant une augmentation de calcium intra-cytoplasmique, pourrait entraîner l'activation de la calcineurine, elle-même activatrice de DRP1. Le calcium étant de plus indispensable à l'activation mitochondriale, les HTs pourraient également influencer la phosphorylation oxydative (OXPHOS) par ce biais. Plusieurs autres actions précoces des HTs pourraient participer à cette activation, parmi lesquelles leur interaction avec les récepteurs mitochondriaux p28 et p43 ou l'activation des transferts d'ADP et d'ATP entre mitochondries et cytoplasme via les ANTs. Dans un deuxième temps, l'activation transcriptionnelle de la mGPDH, de l'ANT2 ou de la transferrine peuvent également promouvoir l'activité mitochondriale.

comparaison des cellules se déterminant en NPCs, la génération d'OPCs nécessite donc une phase de transition plus longue pour passer d'un métabolisme glycolytique à un métabolisme principalement basé sur la phosphorylation oxydative. Cette transition plus tardive est permise par des mécanismes de protection vis-à-vis de la signalisation thyroïdienne. À l'inverse, les NPCs n'expriment pas de modulateurs négatifs de l'action des HTs, comme la DIO3. En revanche, ils expriment le récepteur TR α 1, qui permet aux HTs de moduler l'expression des gènes cibles. Mes résultats montrant la présence de la TTR dans les cellules engagées vers la voie neuronale vont dans le sens d'une nécessité des HTs pour cette détermination neurale. De plus, le maintien de SIRT1 dans les NPCs et les neuroblastes pourrait jouer un rôle important de coactivateur du TR α 1 au niveau génomique. Dans la lignée neuronale, les actions non-génomiques et génomiques des HTs peuvent ainsi induire, entre autres, l'activation du métabolisme mitochondrial. Les nombreuses données de la littérature laissent penser que les actions non-génomiques des HTs permettent dans un premier lieu de mettre en place un environnement favorable à l'activation mitochondriale, notamment grâce à l'augmentation des échanges de calcium, ou à l'activation des ANTs de la membrane mitochondriale. Les HTs interagissent de plus avec plusieurs voies de signalisation impliquées dans la régulation de la prolifération et de la détermination cellulaire. Les HTs activent également la fission mitochondriale, nécessaire à l'augmentation de la respiration, à la migration cellulaire et à une répartition intracellulaire adéquate de la production d'énergie dans les neuroblastes. Si le processus par lequel les HTs induisent l'activation de DRP1 reste à élucider, l'hypothèse peut être avancée que les HTs pourraient favoriser cette activation via les échanges de calcium, ou par l'intermédiaire du récepteur tronqué aux HTs p28, situé dans la membrane mitochondriale interne. Il serait intéressant d'étudier si des régulations existent entre les HTs et d'autres acteurs des dynamiques mitochondriales, tels que les mitofusines (fusion), OPA1 (fusion et fission), ou FIS1 (fission). Mes résultats montrent une diminution du signal de PGC1 α (mitogenèse) après la détermination des progéniteurs, qui pourrait s'expliquer par l'important besoin de générer des mitochondries lors de la prolifération. Ce résultat nécessite néanmoins d'être validé. De nombreuses autres pistes pourraient être explorées concernant l'activation mitochondriale des HTs lors de la détermination, telles que l'activation transcriptionnelle de la mGPDH, de l'ANT2 ou encore de la transferrine.

Ainsi, ce travail a permis de révéler l'importance d'une action conjointe de la signalisation thyroïdienne et du métabolisme mitochondrial dans la régulation du choix du destin cellulaire neurone/glie chez la souris adulte. Il apparaît nécessaire de poursuivre les recherches afin de comprendre de manière plus précise les processus par lesquels les HTs et la respiration mitochondriale coopèrent pour spécifier le destin des cellules souches neurales et la

Annexes

Annexe I : Transient hypothyroidism favors oligodendrocyte generation providing functional remyelination in the adult mouse brain

Article soumis le 29 juin et accepté pour publication le 5 septembre 2017 dans le journal *eLife*.

Remaud, S., Ortiz, F. C., Perret-Jeanneret, M., Aigrot, M. S., Gothié J. D., Fekete, C., Kvártá-Papp, Z., Gereben, B., Langui, D., Lubetzki, C., Angulo, M. C., Zalc, B. and Demeneix, B. (2017) 'Transient hypothyroidism favors oligodendrocyte generation providing functional remyelination in the adult mouse brain', *Elife*, 6. ; doi : 10.7554/eLife.29996.

Transient hypothyroidism favors oligodendrocyte generation providing functional remyelination in the adult mouse brain

Sylvie Rемаud¹, Fernando C Ortiz^{2,3,4†}, Marine Perret-Jeanneret^{1†}, Marie-Stéphane Aigrot⁵, Jean-David Gothié¹, Csaba Fekete^{6,7}, Zsuzsanna Kvártá-Papp⁶, Balázs Gereben⁶, Dominique Langui⁵, Catherine Lubetzki^{5,8}, Maria Cecilia Angulo^{2,3}, Bernard Zalc⁵, Barbara Demeneix^{1*}

¹Sorbonne Universités, Muséum d'Histoire Naturelle, Paris, France; ²INSERM U1128, Paris, France; ³Université Paris Descartes, Paris, France; ⁴Mechanisms on Myelin Formation and Repair Lab, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, Chile; ⁵Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, Paris, France; ⁶Department of Endocrine Neurobiology, Institute of Experimental Medicine, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary; ⁷Department of Medicine, Division of Endocrinology, Diabetes and Metabolism, Tupper Research Institute, Tufts Medical Center, Boston, United States; ⁸AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Abstract In the adult brain, both neurons and oligodendrocytes can be generated from neural stem cells located within the Sub-Ventricular Zone (SVZ). Physiological signals regulating neuronal versus glial fate are largely unknown. Here we report that a thyroid hormone (T₃)-free window, with or without a demyelinating insult, provides a favorable environment for SVZ-derived oligodendrocyte progenitor generation. After demyelination, oligodendrocytes derived from these newly-formed progenitors provide functional remyelination, restoring normal conduction. The cellular basis for neuronal versus glial determination in progenitors involves asymmetric partitioning of EGFR and TR α 1, expression of which favor glio- and neuro-genesis, respectively. Moreover, EGFR⁺ oligodendrocyte progenitors, but not neuroblasts, express high levels of a T₃-inactivating deiodinase, Dio3. Thus, TR α absence with high levels of Dio3 provides double-pronged blockage of T₃ action during glial lineage commitment. These findings not only transform our understanding of how T₃ orchestrates adult brain lineage decisions, but also provide potential insight into demyelinating disorders.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.001>

*For correspondence: bdem@mnhn.fr

†These authors contributed equally to this work

Competing interests: The authors declare that no competing interests exist.

Funding: See page 16

Received: 29 June 2017

Accepted: 05 September 2017

Published: 06 September 2017

Reviewing editor: Klaus-Armin Nave, Max-Planck-Institute for Experimental Medicine, Germany

© Copyright Rемаud et al. This article is distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use and redistribution provided that the original author and source are credited.

Introduction

In Multiple Sclerosis (MS) neurological disability results from myelin and axonal degeneration. Inflammation-induced loss of myelin renders axons more susceptible to injury, leading to greater probability of permanent handicap and accumulated disease burden (*Dutta and Trapp, 2011; Mahad et al., 2015*). Therefore, alongside available anti-inflammatory treatments, current therapeutic strategies aim at enhancing myelin repair. In particular, screening of repurposing molecules favoring proliferation, differentiation and maturation of endogenous oligodendrocyte precursor cells (OPCs) have been deployed (*Buckley et al., 2010; Deshmukh et al., 2013; Mei et al., 2014; Najm et al., 2015*).

Endogenous myelin repair could exploit the two sources of OPCs that exist in the adult mammalian brain: the resident parenchymal OPCs (pOPCs) (Dawson et al., 2003; Tripathi et al., 2010; Wolswijk and Noble, 1989) and mouse subventricular zone-derived oligodendrocyte progenitors that then generate newly formed OPCs locally (SVZ-OPCs) (Nait-Oumesmar et al., 2007). Remyelination from pOPCs is known to produce thin myelin (Xing et al., 2014). In pathological settings such as MS, this limited remyelination produces so-called shadow plaques (Franklin, 2002; Périer and Grégoire, 1965). However, autopsies of a large cohort of MS patients show complete remyelination in certain periventricular areas, that is, in the vicinity of the SVZ, as opposed to shadow plaques, usually observed elsewhere in the brain and spinal cord (Patrikios et al., 2006). Furthermore, examination of post-mortem MS brains revealed mobilization of human SVZ-OPCs (Nait-Oumesmar et al., 2007). Together, these observations suggest that in humans, endogenous remyelination driven by SVZ-OPCs can provide full remyelination. Supporting this concept, it has been recently shown in mice that SVZ-OPCs produce thicker myelin sheets, similar to those formed during normal development (Xing et al., 2014). Therefore, stimulation of the regenerative potential of SVZ-OPCs could be a promising perspective for the development of therapies in the context of demyelinating diseases such as MS.

In the adult rodent, Neural Stem Cells (NSC) localized in the SVZ neurogenic niche generate glial and neuronal progenitor cells. Neuroblasts migrate tangentially toward the olfactory bulb through the rostral migratory stream (RMS) and differentiate as interneurons (Doetsch et al., 1999; Lois and Alvarez-Buylla, 1993). In contrast, oligodendrocyte progenitor derived SVZ-OPCs migrate radially and tangentially into the corpus callosum (CC), striatum or cortex and differentiate into mature myelinating oligodendrocytes. Under physiological conditions, production of SVZ-OPCs is lower compared with the number of neuroblasts that migrate along the RMS (Menn et al., 2006; Suzuki and Goldman, 2003). However, after a demyelinating insult (Keirstead and Blakemore, 1999; Nait-Oumesmar et al., 1999) or exposure to various extrinsic signals (El Waly et al., 2014; Ortega et al., 2013), NSC commitment switches towards production of oligodendrocyte progenitors that give rise to OPCs that migrate into the neighboring white matter. Stimuli favoring oligodendrocyte progenitor production include *Epidermal Growth Factor Receptor signaling* (EGFR). EGFR overexpression in the adult rodent SVZ increases oligodendrogenesis under physiological and pathological conditions, facilitating brain recovery after demyelination (Aguirre et al., 2007; Doetsch et al., 2002; Scafidi et al., 2014).

The continuous generation of neuronal and glial progenitors makes the adult SVZ a unique system in which to study the molecular mechanisms regulating stem cell fate decisions. Whether and how the same signal can orient cell fate decision towards one or the other direction is still an open question. Thyroid hormone (TH) is a key homeostatic signal dynamically regulating neurogenesis. Within the neurogenic niches of the adult mammalian brain, TH regulates progenitor commitment to a neuronal fate (Kapoor et al., 2015; López-Juárez et al., 2012), influencing learning, memory and mood (Kapoor et al., 2015; Remaud et al., 2014). T_3 , the active form of TH, and its nuclear receptor $TR\alpha_1$ promote NSC specification toward a neuronal identity *in vivo* through downregulation of (i) the pluripotency gene *Sox2* (López-Juárez et al., 2012; Remaud et al., 2014) and (ii) the cell cycle genes *Ccnd1* and *Myc* (Lemkine et al., 2005). This raises the question of whether T_3 influences oligodendrogenesis from NSCs, at the level of progenitor determination in the adult SVZ, upstream of its well-established role in oligodendrocyte differentiation and maturation (Barres et al., 1994; Billon et al., 2002; Dugas et al., 2012).

To this end, we analyzed consequences on oligodendrogenesis of T_3 -depletion (hypothyroidism) in a well-established murine model of demyelination after which we allowed for a short period of T_3 -stimulated remyelination. We report that in a cuprizone-induced-demyelination model (Ludwin, 1978) a hypothyroid window during the demyelination phase favors production of mature myelinating oligodendrocytes in the corpus callosum from SVZ-derived oligodendrocyte progenitors. This newly generated wave of SVZ-derived oligodendrocytes produces a myelin of normal thickness, whereas control euthyroid animals generate thinner myelin sheaths. By measuring compound action potentials we show complete functional recovery.

We also addressed the cellular and molecular mechanisms underlying this T_3 -free dependent oligodendrocyte production. We show that during adult neurogenesis, the neuron versus glia cell fate decision in newly derived NSC progenitors is determined respectively by the presence or absence of both $TR\alpha_1$ and, T_3 , its ligand. Absence of $TR\alpha_1$ in oligodendrocyte progenitors is ensured by

asymmetric segregation during mitosis of TR α 1, a neurogenic factor (López-Juárez *et al.*, 2012) and EGFR, an established inductor of oligodendrogenesis (Aguirre *et al.*, 2007). Absence of the ligand, T₃, in the EGFR + oligodendrocyte progenitors is ensured by high levels of Dio3, the T₃ inactivating deiodinase (St Germain *et al.*, 2009). This oligodendrocyte progenitor-specific Dio3 expression restricts TH availability in the glial lineage. In contrast, lower levels of Dio3 are found in neuronal progenitors where TR α 1 represses *Egfr*, reinforcing neuronal commitment. Taken together, the data provide evidence that transient hypothyroidism favors lineage determination of adult multipotential SVZ-progenitors towards an oligodendroglial fate and promotes functional brain remyelination *in vivo*.

Results

A T₃-free window during demyelination favors functional remyelination

Since T₃ and its receptor, TR α , promote neuronal fate in the adult SVZ (López-Juárez *et al.*, 2012) we reasoned that the absence of T₃, (hypothyroidism) might favor gliogenesis. To address this question we investigated the role of hypothyroidism in generating oligodendrocyte progenitors in the adult SVZ. Hypothyroidism was induced using MMI (0.1%) and NaClO₄ (0.5%) during experimental demyelination induced by oral administration of cuprizone (CPZ) (Figure 1A). CPZ treatment causes marked demyelination in the corpus callosum (Ludwin, 1978). The demyelination phase was followed by three T₃/T₄ pulses to stimulate oligodendrocyte maturation. A first control was to verify responses to transient hypothyroidism without cuprizone treatment followed by T₃/T₄ treatment. As shown in Figure 1—figure supplement 1A four weeks of hypothyroidism were sufficient to stimulate significantly, and by nearly two-fold, oligodendrocyte progenitor numbers within the adult SVZ without affecting numbers of corpus callosum resident OPCs. We next quantified responses to hypothyroidism during a CPZ-induced demyelination. CPZ has the experimental advantage that the process of demyelination is temporally separated from the subsequent process of remyelination, allowing the latter to be specifically studied without the complication of ongoing demyelination (Franklin, 2015). CPZ-induced demyelination was accompanied by increased astrocytic (GFAP⁺) and microglial (IBA1⁺) responses (Figure 1—figure supplement 1C,D). In accordance with our hypothesis, transitory hypothyroidism during demyelination, followed by T₃/T₄ pulses (Figure 1A) to favor oligodendrocyte maturation (Barres *et al.*, 1994), increased Myelin Basic Protein (MBP) and Myelin Oligodendrocyte (MOG), two markers of maturing oligodendrocytes, in the corpus callosum and septum (Figure 1B and Figure 1—figure supplement 1B,E,F). Moreover, transient hypothyroidism during demyelination also increased OLIG2 expression in the corpus callosum (Figure 1—figure supplement 1G). OLIG2 is a basic loop helix transcription factor expressed throughout oligodendrocyte lineage development (Lu *et al.*, 2000). The nuclear localization of OLIG2 permitted quantification. As shown in Figure 1—figure supplement 1G, after 7 days of recovery, the number of OLIG2⁺ cells in the corpus callosum was decreased to 29.8 ± 10.6 OLIG2⁺ cells per $10^3 \mu\text{m}^2$ ($p < 0.05$) in euthyroid CPZ-treated mice (EuCPZ), whereas values were not significantly different for controls (unexposed to CPZ) and hypothyroid CPZ-treated mice (HypoCPZ) (60 ± 8.1 and 44 ± 6.6 OLIG2⁺ cells per $10^3 \mu\text{m}^2$ respectively). Interestingly, in the latter mice (HypoCPZ), we observed a restricted lateral localization of the MBP⁺ and MOG⁺ cell masses, above the dorsal part of lateral ventricles (see Figure 1B and Figure 1—figure supplement 1B for MBP and Figure 1—figure supplement 1E,F for MOG).

These mature oligodendrocytes may be generated from resident adult OPCs or they may represent newly-generated OPCs having migrated from the SVZ into the corpus callosum. To analyze their origin, we labeled progenitors within the SVZ using an eGFP lentivirus at 14d of demyelination (Figure 1—figure supplement 2). At 20d post-transfection by stereotaxic injection, not only did we observe GFP⁺ cells in the SVZ, but also groups of GFP⁺ cells that had migrated into the corpus callosum. We confirmed that more SVZ cells were recruited during a demyelinating insult in EuCPZ mice (3.6 ± 2.8 GFP⁺ cells per section, $n = 3$) compared to control mice (2 ± 1.4 GFP⁺ cells per section, $n = 3$). Hypothyroidism during demyelination increases this recruitment even more. HypoCPZ mice had over three times more GFP⁺ cells (11.8 ± 20.9 GFP⁺ cells per sections, $n = 3$) than EuCPZ mice, the GFP⁺ cells displaying characteristic oligodendrocyte morphology (Figure 1—figure supplement 2).

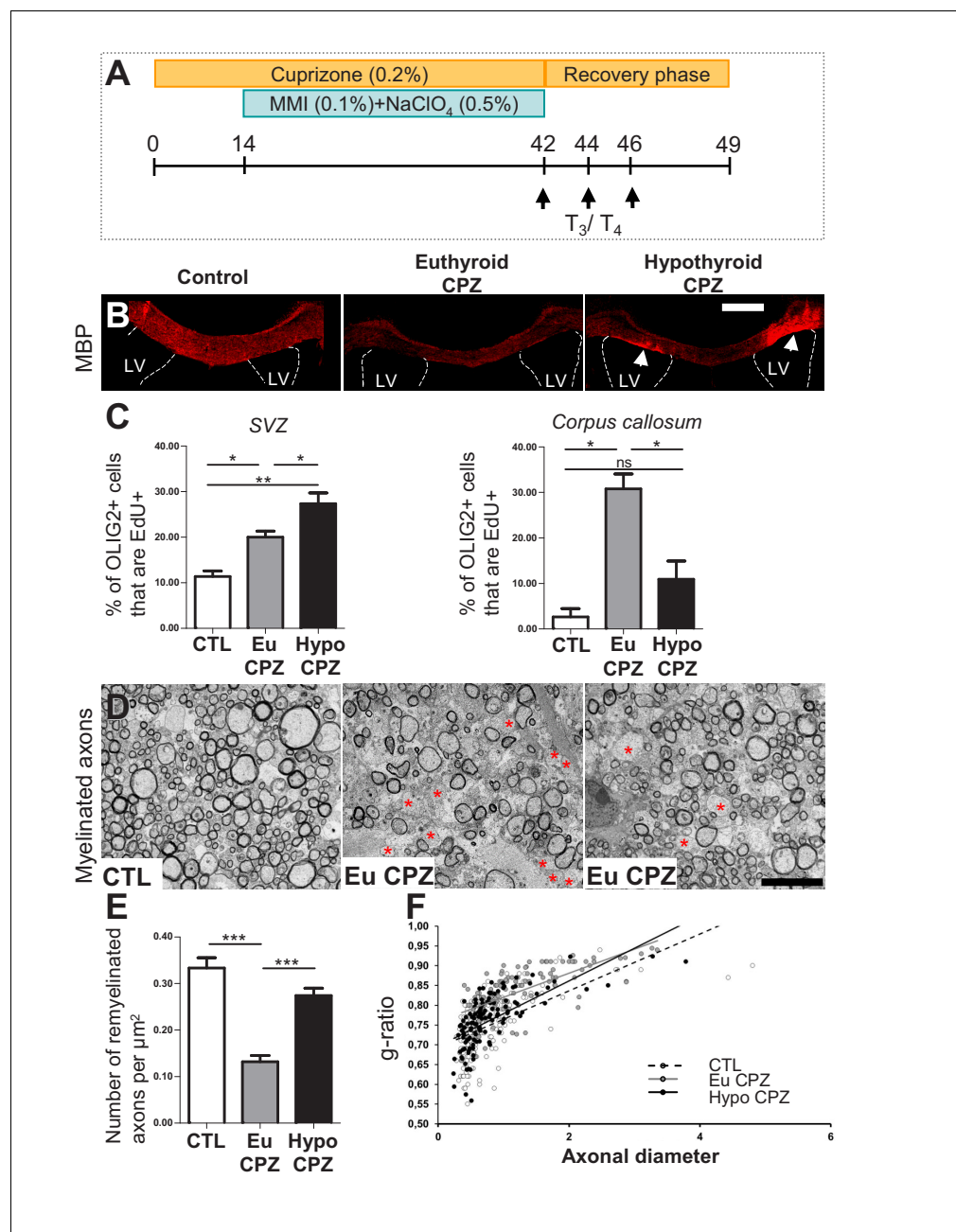


Figure 1. Hypothyroidism during demyelination favors oligodendrogenesis. (A) Experimental procedure: Cuprizone (CPZ) was added to the diet for 6 weeks (d0 to d42) and a T₃-free window applied for one month, two weeks after onset of CPZ treatment (d14 to d42). Three intraperitoneal injections of T₃/T₄ (d42, d44, d46) were given to accelerate remyelination after return to normal diet. (B) Extent of de/re-myelination in the corpus callosum was evaluated by MBP immunostaining 7d post-CPZ treatment. LV = lateral ventricle (C) Quantification of actively cycling oligodendrocyte progenitors (EdU+ OLIG2+) in the SVZ (mean ± SEM, n = 5–6 mice per group, **p=0.0015; Kruskal-Wallis test) and cycling pOPCs in corpus callosum during demyelination (d28) (mean ± SEM, n = 4–6 mice per group, *p=0.0109; Kruskal-Wallis test). (D) Remyelination of the corpus callosum after CPZ diet analyzed by electron microscopy of ultra-thin sections (Representative fields). Note that non-myelinated axons (red asterisks) are more numerous in EuCPZ compared to HypoCPZ samples. (E) Density of remyelinated axons per area (μm²) in CTL, EuCPZ and HypoCPZ after CPZ-induced demyelination (mean ± SEM, n = 12–18 sections from 2 (CTL) or 3 (EuCPZ and HypoCPZ) mice, CTL versus EuCPZ ***p<0.001, t = 7.952; EuCPZ versus HypoCPZ ***p<0.001, t = 25.835; One-way Anova test followed by Bonferroni post-hoc test) (F) Scatter plot of g-ratio values in CTL (dotted black line, n = 198), EuCPZ (grey line, n = 112), HypoCPZ (black line, n = 122). Scale bar in (B): 500 μm, in (D): 5 μm.

Figure 1 continued on next page

Figure 1 continued

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.002>

The following source data and figure supplements are available for figure 1:

Source data 1. Hypothyroidism during demyelination favors oligodendrogenesis.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.006>

Figure supplement 1. A T₃-free window during CPZ demyelination increases remyelination.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.003>

Figure supplement 2. SVZ-OPCs are recruited to the corpus callosum following a demyelinating insult.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.004>

Figure supplement 3. (A–B) Mice received T₃/T₄ pulses during the recuperation phase.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.005>

Furthermore, we analyzed effects of hypothyroidism on cycling pOPCs numbers in the corpus callosum versus cycling SVZ-derived OPC numbers using an EdU pulse applied at day 28 of demyelination. Applying the T₃-free window during CPZ-induced demyelination increased cycling oligodendrocyte progenitor numbers in the SVZ, but decreased pOPC numbers in the corpus callosum (**Figure 1C**).

Taken together, these results show that the effects of hypothyroidism during demyelination preferentially stimulate SVZ-OPCs production.

MBP expression does not necessarily indicate compact myelin formation, as premyelinating oligodendrocytes also express MBP. Transmission electron microscopy (TEM) was used to quantify myelinated axons in the corpus callosum and to quantify whether the oligodendrocytes generated from hypothyroidism-induced oligodendrocyte progenitors myelinate more than resident adult pOPCs. TEM revealed increased myelinated axon density in the periventricular area of HypoCPZ versus EuCPZ (**Figure 1D,E**). Further, evaluation of g-ratios representing myelin thickness with respect to axon diameter revealed that the significant reduction in myelin thickness in EuCPZ ($g = 0.83 \pm 0.07$) versus controls not subjected to demyelination ($g = 0.75 \pm 0.07$, $p < 0.001$) was rescued in HypoCPZ mice ($g = 0.77 \pm 0.06$) (**Figure 1D,F** and **Figure 1—figure supplement 3A,B**). Both the increased myelinated axon density and myelin thickness suggest structural and functional restoration of axons in hypothyroid conditions. Moreover, we verified whether hypothyroidism applied during demyelination (and not T₃ pulses applied during the one-week recuperation phase) is sufficient to restore normal myelin thickness. As shown in **Figure 1—figure supplement 3C–E**, the density of myelinated axons as well as the g-ratio and the myelin thickness were also rescued in HypoCPZ compared to EuCPZ treated-mice when mice in each group only received a saline solution (NaCl) after cuprizone treatment.

To assess whether the T₃-free window produced functional improvement of conduction in HypoCPZ mice, we recorded evoked compound action potentials (CAPs) in coronal corpus callosum slices. The demyelinated area was recognized as a brighter region surrounding white matter (**Figure 2A** and **Figure 2—figure supplement 1**) (Sahel et al., 2015). In each condition tested CAPs were characterized by a fast and slow component corresponding to myelinated and unmyelinated fiber responses (**Figure 2B**). CAP amplitudes increased upon increasing pulse stimulation (**Figure 2B**), being highly variable in all groups (coefficient of variation of the first component: 67.4% in controls, 83.4% in EuCPZ, 82.4% in HypoCPZ). However, no differences were observed in normalized stimulation-response curves between groups at any stimulation pulse (**Figure 2C**; $p > 0.05$ two way-ANOVA). Comparison of normalized CAP amplitudes revealed that the fast component was significantly reduced in EuCPZ mice compared to controls, but completely rescued in HypoCPZ mice (**Figure 2D,E**). Furthermore, the normalized area under the curve of the fast component (f-AUC) was smaller in EuCPZ mice, but regained control values in HypoCPZ mice (**Figure 2D,F**). This functional improvement was correlated with higher MBP expression levels in recorded slices of HypoCPZ mice (**Figure 2G**). These experiments indicate an extensive functional recovery of demyelinated fibers after transient hypothyroidism.

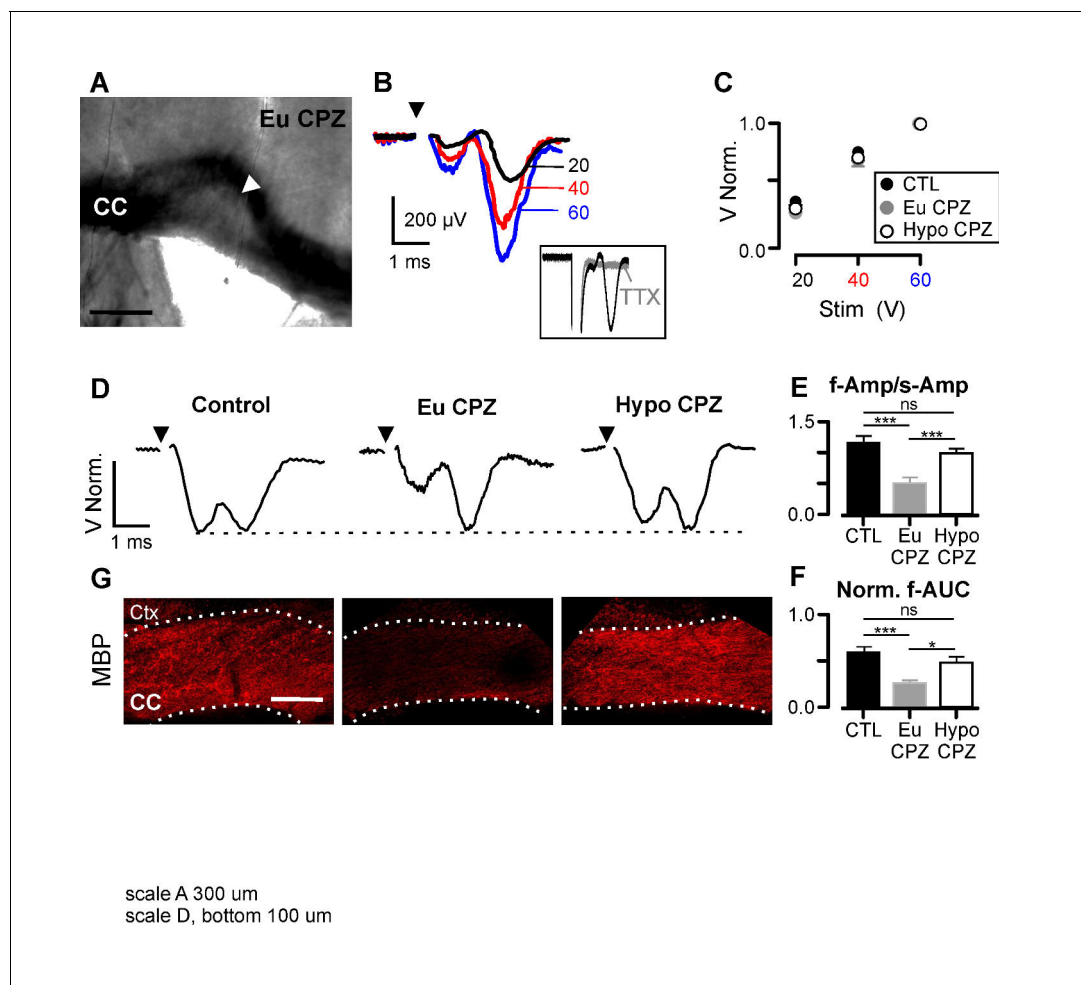


Figure 2. Hypothyroidism during demyelination induces functional recovery of myelinated axons. (A) Differential interference contrast image showing a brain slice (coronal view) from the CPZ group. CC = corpus callosum, arrowhead indicates the demyelinated lesion. (B) CAPs obtained following three different stimulation strengths (20, 40 and 60 V) for the brain slice shown in (A). CAPs were obtained after subtraction of the electrical artefact recorded in presence of TTX 1 μM (inset). (C) CAP amplitudes normalized by the response at 60V. No differences were found between groups at any stimulation strength (n = 10–14 per group per stimulation value, $p > 0.05$; Two-way Anova test). (D) Representative examples of CAPs (upper panels) for the studied groups. (E) Amplitude ratio between fast and slow components of the CAP (f-Amp/s-Amp, n = 10–14 per group, $***p < 0.001$; Kruskal-Wallis test followed by a Dunn's multiple comparison post-hoc test). (F) Normalized area under the curve for the fast component of the CAP (f-AUC, n = 10–14 per group, $***p < 0.001$, $*p < 0.05$, Kruskal-Wallis test followed by a Dunn's multiple comparison post-hoc test). (G) MBP expression was assessed by immunostaining after the recordings (bottom panels), CC = corpus callosum, Ctx = cortex. Scale bars: 300 μm in (A), 100 μm in (G).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.007>

The following source data and figure supplement are available for figure 2:

Source data 1. Hypothyroidism during demyelination induces functional recovery of myelinated axons.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.009>

Figure supplement 1. Differential interference contrast image (coronal view) of recorded acute slices from control, EuCPZ and HypoCPZ groups.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.008>

Trα1 and EGFR are associated with the neuronal and glial lineages respectively

We next investigated the cellular and molecular mechanisms underlying stimulation of functional remyelination induced by a short hypothyroid window. As T_3 -TRα1 is neurogenic (López-Juárez et al., 2012), a logical prediction would be that TRα1 should be excluded from cells expressing early oligodendroglial markers, such as OLIG2 or SOX10 (Lu et al., 2000; Stolt et al., 2004). Using the *Thra-lacZ* mouse (Macchia et al., 2001), we showed that TRα (βgal⁺) was strongly expressed in cells positive for DCX (Figure 3A,D) a neuronal lineage marker (Sapir et al., 2000) but

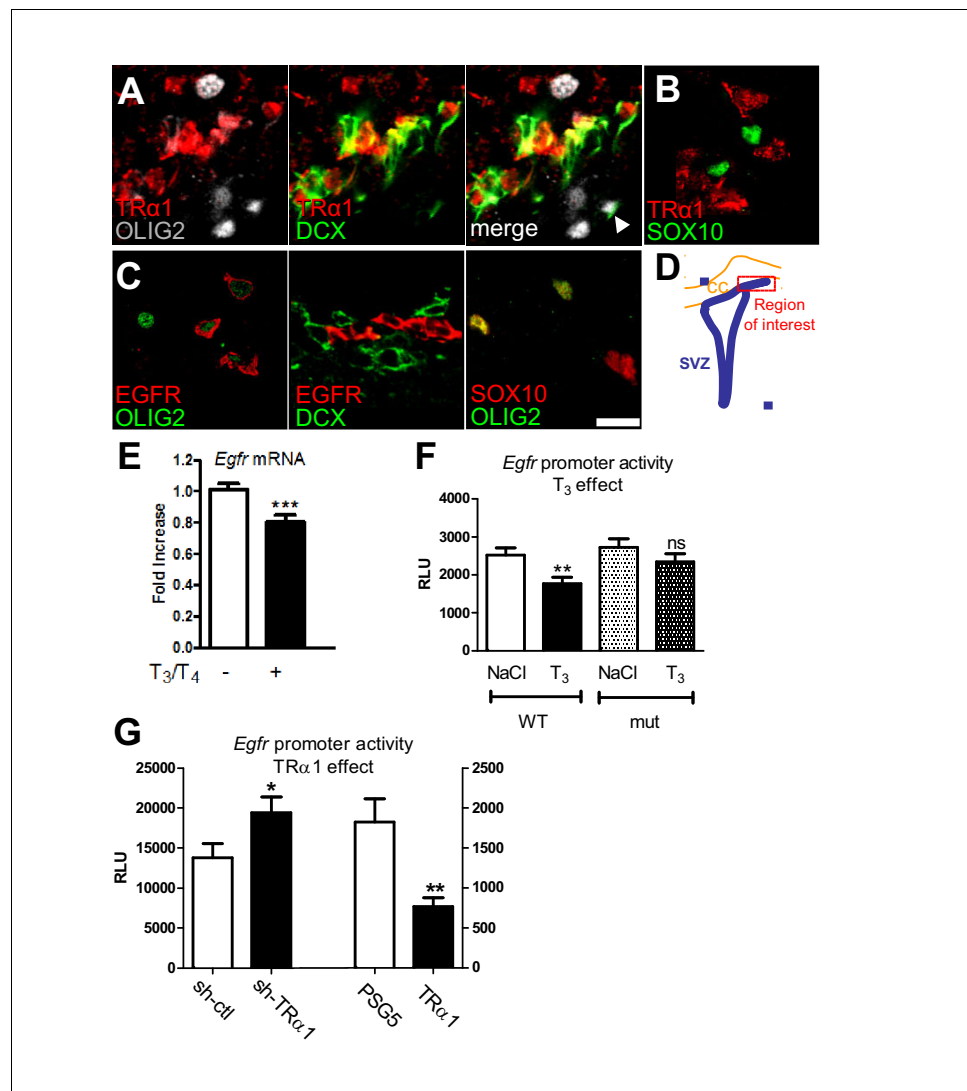


Figure 3. T₃/TRα1 signaling is excluded from the oligodendroglial lineage and represses EGFR expression in adult SVZ. (A–D) Coronal sections of adult SVZ treated for immunohistochemistry, TRα1 (red in A and B) is not expressed in OLIG2⁺ (grey) oligodendrocyte progenitors (A), nor SOX10⁺ (green) oligodendrocyte progenitors (B), but is expressed in DCX⁺ (green) neuroblasts (A) in the adult mouse SVZ. EGFR (red) is expressed in OLIG2⁺ (green) oligodendrocyte progenitors (C) but not in DCX⁺ (red) neuroblasts (middle panel in C). OLIG2 (red) and SOX10 (green) are co-expressed in oligodendrocyte progenitors (right panel in C), but very few OLIG2⁺ cells express DCX (white arrowhead in A). (D) Schematic representation of the brain area investigated. Tagged TRα1 was detected in TRα1^{+/0} mutant mice using a β-Gal antibody (A). To examine TRα1 expression in WT mice (B) a TRα1 antibody verified on TRα1^{+/0} mutant mice (see materials and methods) was used. Scale bar: 10 μm. (E) T₃ represses *Egfr* transcription in the adult SVZ. (means ± SEM, three experiments are pooled, n = 12 mice, **p=0.001, t = 3.64, df = 30; unpaired two-tailed Student's t test) (F) *In vivo*, T₃ repression of *Egfr-luc* requires an intact TRE. Transcription from wild-type (WT) and mutated (mut) constructs was compared following saline (NaCl) or T₃ injection. (means ± SEM, three experiments were pooled, n = 21–24 mice per group, **p<0.01. Kruskal-Wallis test followed by a Dunn's post-hoc test) (G) Transcription from *pEgfr-Luc* following loss (*sh-TRα1* versus *sh-ctrl*; means ± SEM, n = 16 mice, *p=0.039, t = 2.16, df = 27; Unpaired two-tailed Student's t test) and gain (*TRα1* over-expression versus control plasmid PSG5; means ± SEM, n = 12 mice, **p=0.043, t = 3.40, df = 14; Unpaired two-tailed Student's t test with Welch's correction) of TRα1 function.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.010>

The following source data and figure supplement are available for figure 3:

Source data 1. T₃/TRα1 signaling is excluded from the oligodendroglial lineage and represses EGFR expression in adult SVZ.

Figure 3 continued on next page

Figure 3 continued

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.012>

Figure supplement 1. TR α 1 signalling is associated with a neuronal fate *in vitro* and *in vivo*.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.011>

excluded from OLIG2⁺ cells (**Figure 3A,D** and **Figure 3—figure supplement 1A**). In wild-type mice, TR α 1 was also excluded from SOX10⁺ cells, that are also OLIG2⁺ (**Figure 3B,C**). Further, *in vitro* studies showed that TR α 1 co-localized with other neuronal markers such as TUJ1 (**Figure 3—figure supplement 1B**) but could be found in more mature OPCs expressing O4, another oligodendroglial marker (**Figure 3—figure supplement 1C,C'**). As expected, EGFR, a major gliogenic factor (**Aguirre et al., 2007**), co-localized with OLIG2, but was excluded from DCX⁺ cells (**Figure 3C,D**). These experiments show that TR α 1 is expressed in neural lineage cells whereas EGFR is more restricted to glial lineage cells in the adult SVZ.

TR α 1 repress *Egfr* expression within the adult SVZ

The differential lineage-dependent pattern of TR α 1/DCX versus EGFR suggested transcriptional repression of EGFR by T₃ in the SVZ, as seen *in vitro* (**Xu et al., 1993**). T₃ treatment repressed *Egfr* (**Figure 3E**) whereas hypothyroidism significantly increased SVZ *Egfr* mRNA (**Figure 3—figure supplement 1D**). In parallel, EGFR⁺ SVZ cell numbers were significantly increased in mice lacking TR α 1 (TR α ^{0/0} mice) (**Gauthier et al., 2001**) (**Figure 3—figure supplement 1E–G**). Lastly, using an *in vitro* neurosphere assay, we observed that T₃ decreased by about two-fold the numbers of EGFR⁺ cells after 7d differentiation (**Figure 3—figure supplement 1H**). To examine T₃/TR α 1 effects on *Egfr* transcription we used an *in vivo* gene transfer approach targeting the NSC population (**Lemkin et al., 2002**). T₃ repressed transcription from the wild-type *Egfr* promoter, whereas mutating a negative Thyroid Hormone Response Element (TRE) in the *Egfr* promoter abolished T₃/TR α 1 repression (**Figure 3F**). Loss of function using shTR α 1 increased *Egfr* promoter activity (**Figure 3G**, left) whereas gain of function with a TR α 1-encoding plasmid repressed transcription (**Figure 3G**, right). Thus, *Egfr* is a negative T₃-regulated gene in the adult SVZ.

TR α 1 and EGFR are asymmetrically distributed in mitotic progenitors

The lineage-dependent EGFR versus TR α 1 distributions suggested potential asymmetric partitioning during proliferation. TR α 1 was found in 80% (\pm 2%) of dividing cells, but was unequally distributed in 11% (\pm 3.6%) of these (**Figure 4A,B**). In these, TR α 1 localized to a polarized crescent in prophase (**Figure 4A,A'**), segregating preferentially to one daughter cell in telophase (**Figure 4B,B'**). Since asymmetric cell division can generate progeny with distinct fates, we analyzed respective distributions of TR α 1 and EGFR. As previously reported (**Sun et al., 2005**), EGFR localized asymmetrically in mitotic cells (see **Figure 4C** for a representative telophase), forming a crescent opposite that of TR α 1 during prophase (**Figure 4D,D'**). Hence, one daughter cell preferentially inherits TR α 1 and the other, EGFR (see telophase, **Figure 4E,E'**). Lastly, within the specific SOX2⁺ mitotic progenitor population, asymmetric TR α 1 localization was observed in 20% (\pm 3.4%) of these SOX2⁺ cells (**Figure 4F**). This smaller proportion of cells displaying asymmetric TR α 1 matches the oligodendrocyte versus neuron ratio produced in the adult SVZ in normal conditions, with the large majority of cells being neuronal (**Menn et al., 2006**).

SVZ oligodendrocyte progenitors are protected from T₃ action by type three deiodinase expression

Transcriptional activity of TR α 1 is modulated by availability of T₃, the biologically active form of thyroid hormone. T₃ availability is determined by the opposing actions of activating and inactivating deiodinases (type 2 (Dio2) and type 3 (Dio3) respectively) (**Gereben et al., 2008**). As T₃/TR α 1 together downregulate *Egfr* we hypothesized that T₃ availability could be limited by cell-specific distribution of the inactivating deiodinase Dio3, especially in EGFR⁺ activated NSC and progenitors. Dio3 was strongly expressed in SVZ-NSCs co-expressing Nestin and SOX2 (**Figure 5A**) or GFAP (**Figure 5—figure supplement 1A**). Furthermore, Dio3 expression was strongest in EGFR⁺ (**Figure 5B** and **Figure 5—figure supplement 1B**) and SOX2⁺ (**Figure 5—figure supplement 1C,D**) progenitors

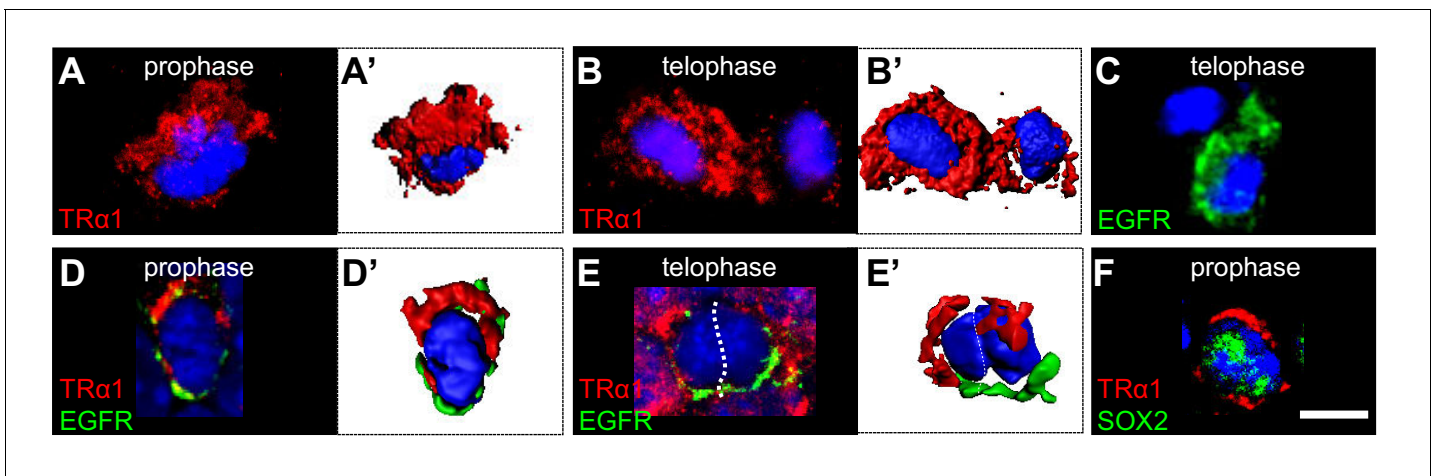


Figure 4. Asymmetric TR α 1/EGFR segregation in the adult SVZ. (A–F) TR α 1 and EGFR segregate asymmetrically in the adult SVZ *in vivo*. Coronal sections of WT adult mouse brain across the lateral ventricles were immunostained with anti-TR α 1 (red) and/or anti-EGFR (C–E', green) or anti-SOX2 (F, green) antibodies. Mitotic figures in the SVZ were identified under confocal microscopy (A–F) and 3D reconstructions (A', B', D', E') performed. (A and A') During prophase, TR α 1 is preferentially localized at one pole of the dividing cell. (B and B') In telophase, only one of the daughters (left cell) has inherited largely TR α 1. The other (on the right) shows residual TR α 1 expression. (C) During telophase, only one daughter cell (lower cell) inherited EGFR. (D and D') Double labeling for TR α 1 and EGFR shows opposite pole localizations during prophase. (E and E') During telophase, the left daughter is enriched in TR α 1 whereas the cell on the right received predominately EGFR. (F) Asymmetric distribution of TR α 1 (upper pole) occurs in SOX2⁺ progenitors Scale bar: 5 μ m.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.013>

and absent from DCX⁺ neuroblasts (Figure 5B and Figure 5—figure supplement 1B). Thus, even if EGFR⁺ cells express low levels of TR α 1, higher Dio3 will protect them from the neuronalizing effects of T₃. In the *Pdgfra:GFP* mouse (Hamilton et al., 2003), PDGFR α ⁺ OPCs were still Dio3 positive (Figure 5C). Strong co-expression of EGFR/Dio3 was confirmed *in vitro*, using adult SVZ neurosphere cultures: in basal conditions, DCX⁺ cells had barely detectable Dio3 as opposed to strongly Dio3 expressing-EGFR⁺ cells (Figure 5—figure supplement 1E).

To functionally address the significance of Dio3 expression in EGFR⁺ cells, we examined effects of loss of Dio3 function, using gene transfer *in vivo* with shDio3 expressing-plasmid. Down-regulating Dio3 expression by shDio3 significantly reduced cell proliferation by 50% (shctl: 9.2 \pm 0.6 versus shDio3: 4.6 \pm 0.8, $p=0.0097$, Figure 5D) and numbers of OLIG2⁺ oligodendrocyte progenitors by 30% (shctl: 55.5 \pm 5.8 versus shDio3: 35 \pm 6.6, $p=0.032$, Figure 5E), showing that down-regulation of Dio3 is sufficient to modulate oligodendrogenesis.

To address further the effects of variations in T₃ availability on cell fate, we used neurosphere cultures. A 24 h, T₃ (1 nM to 50 nM) pulse added before cell differentiation, promoted DCX⁺ neuronal genesis at the expense of OLIG2⁺ populations. T₃ (1 nM) decreased five-fold the ratio of OLIG2⁺-versus DCX⁺ cell numbers (Figure 5—figure supplement 2A,B).

Bringing together these *in vivo* and *in vitro* results shows that type three deiodinase, preferentially expressed in oligodendrocyte progenitors, maintains oligodendrogenesis in the adult SVZ.

Discussion

These results show that transient hypothyroidism stimulates oligodendrocyte production, by favoring oligodendrocyte progenitor lineage decisions (Figure 6). We demonstrated that a T₃-free window promoted SVZ-derived oligodendrocyte progenitor and OPC generation followed by functional remyelination in response to a demyelinating insult. In accordance with others studies SVZ-OPC-driven remyelination, as opposed to resident adult pOPC-derived remyelination, resulted in wrapping of denuded axons with myelin of normal thickness, restoring functional nerve conduction. Our results strongly suggest that SVZ-derived OPCs are more prone to participate to efficient brain remyelination than resident OPCs.

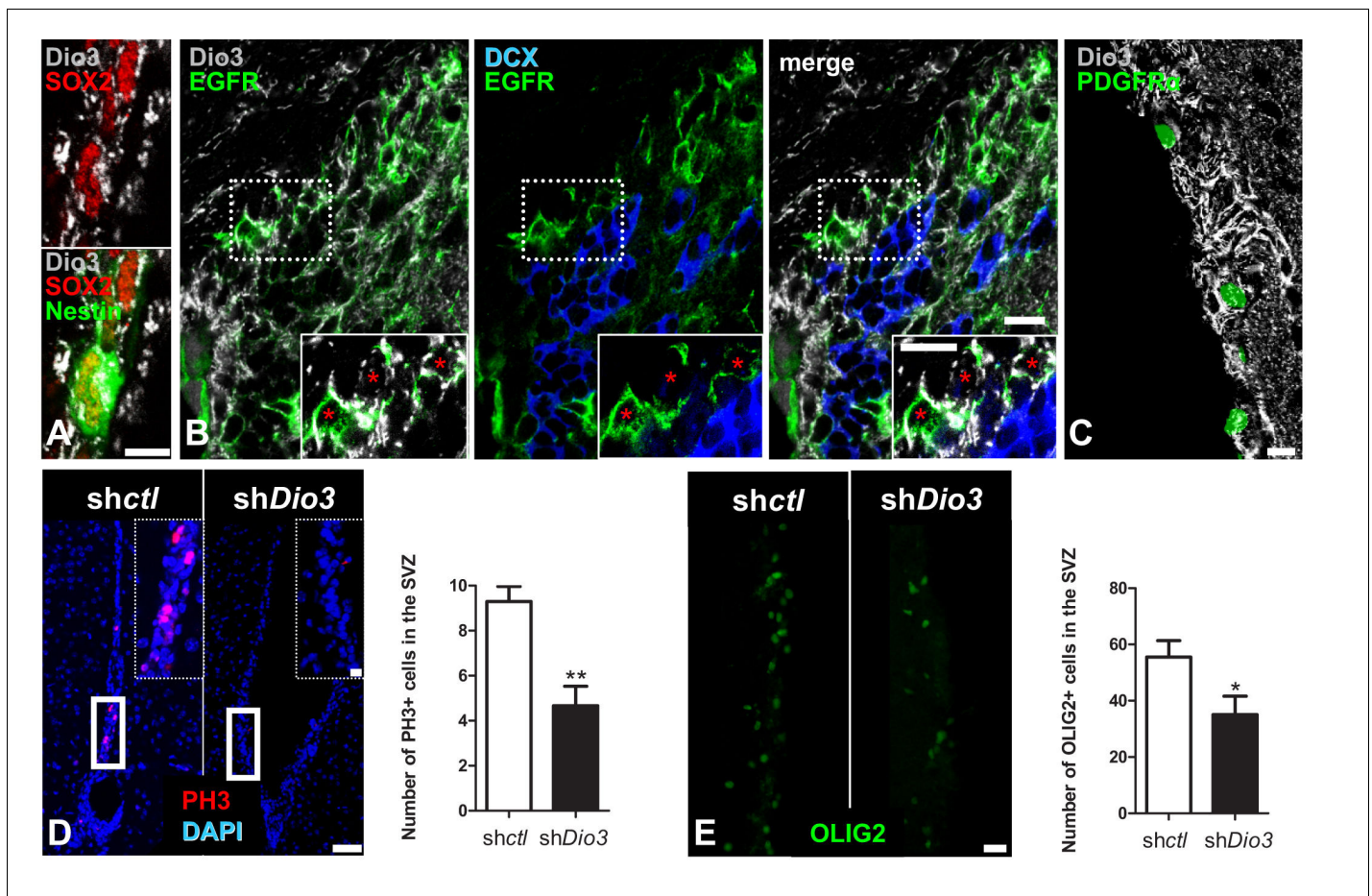


Figure 5. Cell-specific Dio3 expression in the adult SVZ. (A–C) The inactivating deiodinase, Dio3, is detected in SVZ-derived OPCs, but not in DCX⁺ neuroblasts. (A) Dio3 (grey) is detected in NSC identified by co-expression of SOX2 (red) and Nestin (green) markers. (B) EGFR⁺ progenitors (green) express high levels of Dio3 (grey). In contrast, Dio3 is hardly or not detected in DCX⁺ neuroblasts (blue). Dotted squares denote regions magnified in insets. Red asterisks denote EGFR⁺ progenitors expressing high levels of Dio3. (C) In the *Pdgfra-H2B:GFP* transgenic adult mouse (nuclear GFP staining), Dio3 (grey) is highly expressed in SVZ-derived OPCs (GFP⁺ cells). (D) Immunostaining against PH3 (mitotic marker, red) and (E) OLIG2 (OPC marker, green) following stereotaxic injection into the SVZ of *shDio3* or *sh-control* (*shctl*) plasmids. Dotted squares denote regions magnified in insets. Quantification of PH3⁺ (mean ± SEM, two experiments were pooled, n = 12 slides from 6 animals, **p=0.0097, U = 11, Mann Whitney test) and OLIG2⁺ (mean ± SEM, two experiments were pooled, n = 10 slides from 6 animals, *p=0.0325, t = 2.316, df = 18; Unpaired two-tailed Student's t test) cells in the SVZ in the injected hemisphere. Scale bar in A–C: 10 μm, in D and E: 20 μm (inset, 50 μm).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.014>

The following source data and figure supplements are available for figure 5:

Source data 1. Cell-specific Dio3 expression in the adult SVZ.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.017>

Figure supplement 1. Expression of the inactivating deiodinase, Dio3, excludes TH signalling from NSC, progenitors and oligodendrocyte progenitors.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.015>

Figure supplement 2. (A and B) SVZ tissues were sampled from WT adult mice for neurosphere culture.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.016>

Under euthyroid conditions, oligodendrocyte progenitor determination is favored by three factors that establish a T₃/TRα1-free state around SVZ progenitors. First, there is asymmetric distribution of EGFR and TRα1 in a subpopulation of proliferating progenitors. Second, the presence of the inactivating deiodinase, Dio3 in NSCs, progenitors and early OPCs will ensure degradation of any surrounding T₃. Third, this Dio3-generated absence of T₃ will limit repression of EGFR by any residual TRα1. Together these mechanisms block T₃/TRα1 signaling in glial-restricted progenitors. In contrast, in cells receiving TRα1, residual *Egfr* expression will be repressed by T₃/TRα1 permitting neuronal determination (López-Juárez et al., 2012).

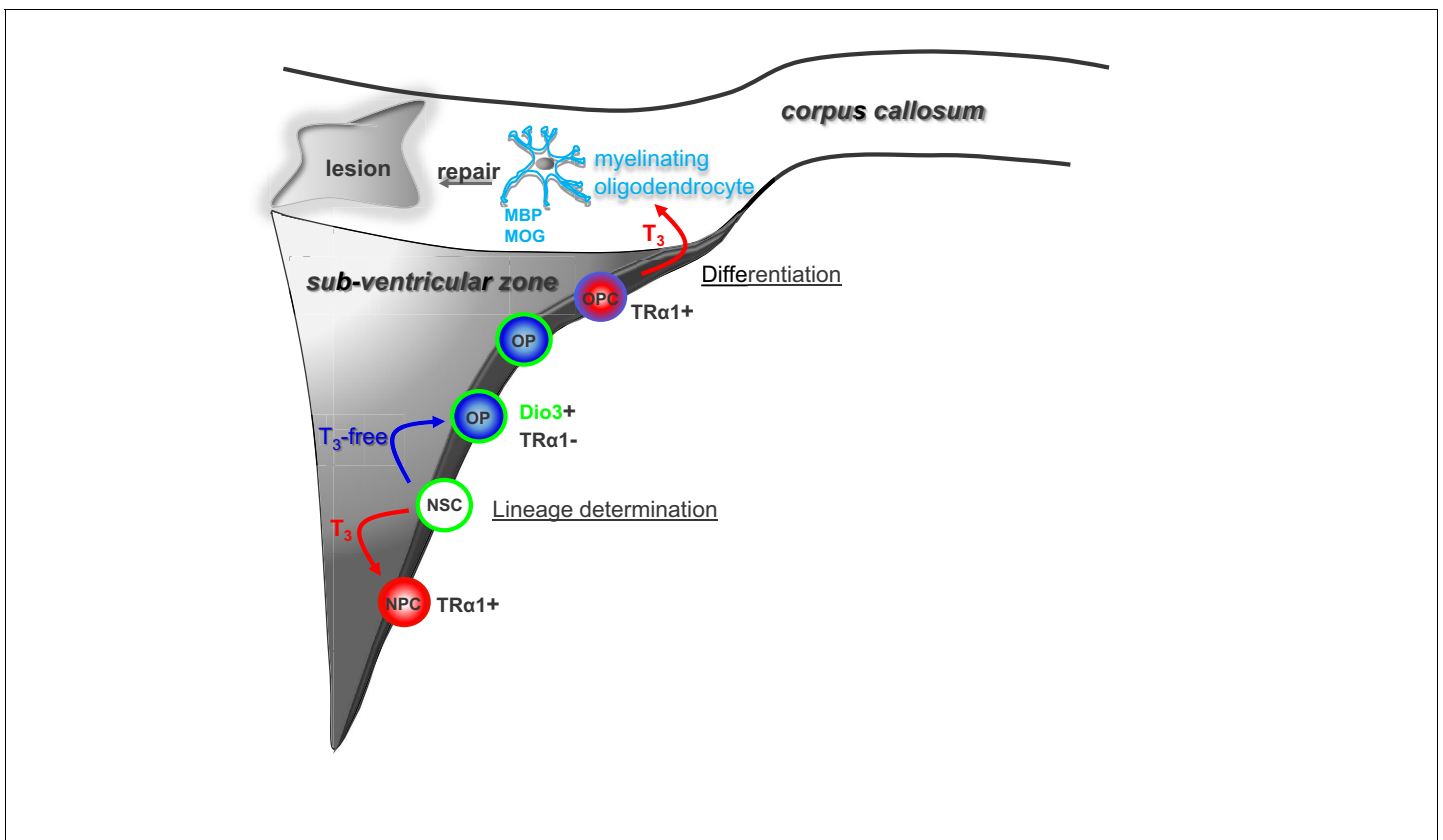


Figure 6. Modulation of timing of thyroid hormone (T₃) availability in the adult brain modifies cell fate decisions (neuronal versus oligodendroglial fate choice) in the sub-ventricular zone (SVZ). T₃ through its nuclear receptor, TRα1, favours progenitor commitment toward a neuroblast phenotype. In contrast, a transient lack of T₃ (T₃-free window) increases numbers of oligodendrocyte progenitors (OPs) and thus SVZ-derived OPCs with the capacity to repair myelin within the corpus callosum (CC) and to restore nerve conduction after a demyelinating insult. Note that, following progenitor asymmetric division, the oligodendrocyte progenitor is protected from the neuralizing effects of T₃ by (i) expression of the gliogenic factor EGFR and the T₃-inactivating enzyme (Dio3) and by (ii) the exclusion of TRα1.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.018>

These results could appear paradoxical given the rich datasets detailing the importance of T₃ for oligodendrocyte differentiation (Barres et al., 1994; Billon et al., 2002), maturation and myelination (Dugas et al., 2012). Yet our results do not contradict this well-established concept. As expected, addition of T₃ following a period of hypothyroidism consolidates remyelination (Figure 1). Strikingly, our data indicate that transient hypothyroidism during demyelination, prior to the addition of T₃, activates oligodendrogenesis in the dorsal SVZ favoring migration of remyelinating OPCs into the corpus callosum.

Even if we cannot exclude a role of resident adult pOPCs following a transient lack of T₃, several arguments from our experiments favor a facilitating role of SVZ-derived OPCs in functional brain repair. First, cell tracing using a eGFP lentivirus showed that the remyelinating OPCs derive from the SVZ. Second, a hypothyroid window (without cuprizone treatment) was sufficient to bolster significantly SVZ-OPCs and not resident pOPCs. Lastly, transient hypothyroidism increased the number of cycling oligodendrocyte progenitors in the SVZ, but decreased the number of cycling pOPCs located within the corpus callosum. Each of these findings suggest that SVZ-derived oligodendrocyte progenitors preferentially respond to a lack of T₃, as compared to pOPC populations.

The efficient remyelination capacity of SVZ-mobilized OPCs has been well-documented experimentally in the mouse brain (Nait-Oumesmar et al., 2007; Xing et al., 2014). In accordance with our results, Xing et al. (2014) and Brousse et al. (2015) demonstrated by *in vivo* fate-mapping that the region of the corpus callosum adjacent to the SVZ is more permissive to remyelination than that arising from pOPCs. A higher density of SVZ-derived OPCs is found adjacent to the dorso-lateral

part of the SVZ after acute demyelination (Xing *et al.*, 2014; Brousse *et al.*, 2015). Moreover, our study of myelin integrity deposited by newly generated oligodendrocytes after one-week of recovery in hypothyroid mice showed a g-ratio similar to control mice and significantly lower than in euthyroid mice. Of note, since animals were not examined for longer periods after stopping the cuprizone diet, we cannot ascertain the stability of the remyelination observed. However, this finding is again in agreement with published data showing that axons myelinated by SVZ-derived oligodendrocytes have lower g-ratios than axons myelinated by pOPCs (Xing *et al.*, 2014). Taken together, our work and previous studies (Xing *et al.*, 2014; Brousse *et al.*, 2015) show that resident pOPCs should not be considered as the only source of remyelinating cells and that SVZ-OPCs are also involved in efficient myelin repair.

A potential caveat might be that our observation is limited to the corpus callosum and that our findings cannot be extrapolated to other brain or spinal cord regions. However, in MS, lesions of the corpus callosum and prefrontal cortex are also of primary clinical concern, with ensuing cognitive impairments affecting decision-making with crucial consequences. So these findings have clinical relevance, although we realize that reaching therapeutic applications through local modulation of thyroid hormone availability is complicated by the fact that MS lesions are asynchronous and not localized to one particular area.

Turning to the capacity of resident OPCs to carry out remyelination, it is plausible that, despite the thin myelin and short internodes generated, conduction speed could be partially restored. A potential scenario would be recovery from a complete conduction block (demyelinated) to 45 m/s (thin myelin) as opposed to 50 m/s with thick myelin. However, cognitive actions depend on rapid decision-making and so, even in daily life, this slower conduction could still represent a severe handicap. In this respect, the recovery of CAPs suggests that remyelination in the cuprizone model preserves axon integrity as recently shown in an EAE model (Mei *et al.*, 2016).

It is interesting to note that, although the movement or mobilisation of cells can only be inferred when examining post-mortem tissue, in brains of MS patients, early glial progenitors were observed more frequently in periventricular lesions as opposed to lesions further away from the ventricle (Nait-Oumesmar *et al.*, 2007). Furthermore, in experimental models (Bunge *et al.*, 1961; Stidworthy *et al.*, 2003) as well as in MS patients (Périer and Grégoire, 1965), lesions that spontaneously remyelinate, forming 'shadow plaques', are characterized by a thinner myelin sheath. From our data, one could predict that remyelination closest to the SVZ should not yield shadow plaques because oligodendrocytes generated from SVZ-derived OPCs myelinate more efficiently and with normal sheath thickness. Indeed, Patrikios *et al.* (2006) described 51 autopsies of human MS cases and observed that complete remyelination was detected in some periventricular plaques, contrasting with shadow plaques observed at a greater distance from ventricles. This finding bolsters the clinical relevance of our findings and strengthens the concept that transient hypothyroidism could enhance generation of SVZ-derived OPCs in demyelinating diseases, a property that could be exploited for translational purposes.

Here we show that nerve conduction measured by evoked compound action potential is altered in EU-CPZ treated-mice and is completely restored in Hypo-CPZ animals. Crawford and collaborators reported that following 6 weeks-cuprizone diet with 3 to 6 weeks of normal diet led to regeneration of myelin but did not fully reverse nerve conduction (Crawford *et al.*, 2009), underlining the contrast with our data in hypothyroid conditions. Furthermore, using a mouse model of hypoxia, Scafidi *et al.* (2014) demonstrated that EGFR treatment rescued the increase in g-ratio in association with a complete functional recovery. These data emphasize the importance of myelin repair to recover normal functional axon conduction.

Our work demonstrates how an inactivating deiodinase that limits availability of a homeostatic endocrine signal, T_3 , determines neuronal cell fate decision. This result has evolutionary implications. Beyond the questions raised by co-evolution of the thyroid gland and the appearance of myelination, current hypotheses on the changes in vertebrate brain structure and function implicate control of progenitor pool size (Miller *et al.*, 2014). Interestingly, it has been shown that the *Drosophila* EGFR homologue DER regulates midline glial cells survival during embryonic and larval stages in the fly (Bergmann *et al.*, 2002; Hidalgo *et al.*, 2001; Zak and Shilo, 1990). The steroid ecdysone receptor (EcR), the invertebrate homolog of TR that controls metamorphosis in insects, stops mitotic activity in the glial population and may induce terminal differentiation by interfering with Ras/MAPK activity underlying DER activation (Giesen *et al.*, 2003). Thus, the ecdysone receptor may be a

functional homologue of vertebrate TR in the regulation of the number of glial cells and their differentiation. It is well established that brain development shares remarkable similarities between vertebrates and invertebrates, notably in the biology of NSC niches (Reichert, 2009). Here we propose a new evolutionary conserved crosstalk, between EGFR and the nuclear receptor superfamily containing EcR and TR, between vertebrates and invertebrates in the regulation of gliogenesis.

In conclusion, three major findings arise from this work. First, our results place a key homeostatic factor, thyroid hormone, at the crossroads of cellular decisions in the adult mouse neural stem cell niche, modulating actions of other players including TR α 1 or EGFR that determine adult NSC commitment to neuronal or oligodendrocyte progenitors, respectively. Second, we observe that newly-generated OPCs produce myelin of normal thickness. This contrasts with the thinner myelin sheath usually observed when remyelination is carried out by resident pOPCs, a situation that leads in MS to shadow plaques. Finally, remyelination with a thick myelin sheath provides a fully functional recovery, suggesting novel therapeutic targets for demyelinating disease.

Materials and methods

Animals

Swiss and C57BL/6 wild-type male mice, 8 weeks-old, were purchased from Janvier (Le Genest St. Isle, France). Food and water were available ad libitum. All procedures were conducted according to the principles and procedures in Guidelines for Care and Use of Laboratory Animals. TR α ^{0/0} mice (Gauthier et al., 2001), lacking all TR α gene products, were maintained on a 129/Sv strain (wild-type 129/Sv mice were purchased from Charles River Laboratories, L'Arbresle, France). TR gene was disrupted with an in-frame insertion of the *LacZ* reporter gene. The *Thra-LacZ* mouse was obtained from Karine Gauthier (ENS, Lyon France).

Two-month-old PDGFR α ^{EGFP} mice were purchased from Jackson Laboratory (RRID:IMSR_JAX:007669). They express a H2B-eGFP fusion protein from the endogenous *Pdgfra* locus.

Hypothyroid and hyperthyroid treatments

To induce hypothyroidism, 8 week-old male mice were given iodine-deficient food containing 6-n-propyl-2-thiouracil (PTU) at 0.15% (Harlan Tekland, Madison, WI) for two weeks. To induce hypothyroidism in newborn mice, pregnant dams were fed with PTU diet from day 14 of gestation through lactation. To test TH effects, T₃ alone (2.5 μ g/g body weight, bw) diluted in physiological solution (0.9% saline) was injected subcutaneously (s.c) in newborn mice or a mix of T₃/T₄ (0.3/0.012 μ g/g bw) was given intraperitoneally (i.p.) in adult mice along with 1.2 μ g/ml of T₄ in drinking water. Furthermore, the hypothyroid window in demyelination experiments (see below) was induced by administering 0.25% methimazole (MMI) and NaClO₄ (0.5%) in drinking water for 28 days.

Plasmids, non-viral injections for *in vivo* studies

Egfr-luc plasmid, provided by Zhang et al. (2007), contains –1242 to –21 bp of the mouse *Egfr* promoter cloned upstream of the Firefly luciferase coding sequence of the pGL3-enhancer *Luciferase* reporter vector. One putative TRE in the *Egfr* promoter region was mutated in the *Egfr-luc* reporter plasmid using the QuickChange II XL Site-directed Mutagenesis kit (Stratagene, La Jolla, CA). The plasmid driving transcription of a *shRNA* against *Dio3* (*sh-Dio3*) was generated by Eurofins MWG Operon. The *sh-Dio3* was produced by gene synthesis and incorporated downstream of a CMV-H1 hybrid promoter (Hassani et al., 2007). The *sh-TR α 1* and the TR α 1 expressing plasmids were as described (Hassani et al., 2007).

Plasmids DNA were diluted in a 5% glucose solution and complexed with in vivo-jetPEI (Polyplus transfection) with a ratio of 6 PEI nitrogen per DNA phosphate (Goula et al., 1998). As previously described (Goula et al., 1998), one-day old newborn mice were stereotaxically transfected into the lateral ventricle of the brain (bilateral injection) with 1 μ g DNA in 2 μ l. Mice were sacrificed 48 hr after transfection and SVZ were dissected and luciferase activity was assayed following the manufacturer's protocol (Promega, Madison, Wisconsin, USA). Luciferase activity was measured 48 hr after transfection to allow *shRNA* expression. Adult Swiss OF1 mice were transfected by stereotaxic injection into one lateral ventricle (unilateral injection, 0.2 mm posterior to bregma, 1.1 mm lateral, 2.2 mm deep from the pial surface) with 2.5 μ g DNA (maximal dose) in 5 μ l.

Lentiviral injection

SVZ-cells were labeled using a CMV-eGFP lentivirus (generously provided by Marie-Stéphanie Aigrot, ICM, Paris) by stereotaxic injection. One μl of the lentivirus stock, titered as $1.64\text{E} + 09$ TU/ml by FACS, was injected into the lateral ventricles of adult mice ($n = 3$ mice per group) using the same coordinates as described above. Viral particles were injected over 10 min at 300 nl/min to limit reflux along the needle track. We also used an ultra-fine silica fiber needle ($200 \times 100 \mu\text{m}$) that reduces damage during intra-cerebro-ventricular injections.

Immunostaining

Mice were anesthetized with Pentobarbital (130 mg/kg, Centravet) and perfused through the left heart ventricle rapidly with PBS and then with 4% paraformaldehyde in PBS (0.1 M, pH 7.4) and post-fixed at room temperature for 2 hr in the same fixative solution. Brains were cryoprotected in 30% sucrose in PBS at 4°C, embedded in OCT, frozen and stored at -80°C until processed. Brain coronal sections (30 μm thick) were incubated for 1 hr in a blocking solution of 10% normal donkey serum (Sigma) and 1% BSA (Sigma) in PBS and then incubated with the primary antibody diluted in the blocking solution overnight at 4°C. After washing in PBS (3 times for 10 min), sections were incubated with fluorescent secondary antibodies (1/500, Invitrogen) for 2 hr at room temperature. Three washing in PBS were then performed and sections were mounted onto SuperFrost glass slide (Fisher) before being mounted with Prolong Gold antifade reagent containing DAPI (Invitrogen).

Primary antibodies used: rabbit anti-TR α 1 (Rockland, 1/300, see below for antibody specificity verification), rabbit anti-EGFR (Millipore, 1/300), rabbit anti-Sox2 (Millipore, 1/300), goat anti-Sox2 (Santa-Cruz, 1/200), rabbit anti-PH3 (Millipore, 1/300), rabbit anti-Olig2 (Millipore, 1/300), guinea-pig anti-DCX (Millipore, 1/300), guinea-pig anti-Sox10 (gift from M. Wegner, 1/600), rabbit anti-Dio3 (Novus Biologicals, 1/500), rabbit anti-MBP (Millipore, 1/500), chicken anti-GFAP (Millipore, 1/500), rabbit anti-Iba1 (Millipore, 1/500), mouse anti-O4 (cultured supernatant produced in the lab, 1/10), rabbit anti-Sirt1 (Millipore, 1/500), mouse anti-Tuj1 (Abcam, 1/200), goat anti- β -galactosidase (Cappel, 1/300).

The specificity of the TR α 1 antibody (Rockland) was determined in three distinct experimental settings. First, immunocytochemistry with this antibody gave exactly the same expression pattern as with a β gal-antibody used in the heterozygous TR α /LacZ mouse. In this mouse, the fusion protein TR α - β gal, is expressed from the TR α allele (Macchia et al., 2001) as reported in López-Juárez et al. (2012). Second, DCX was found to be co-expressed with TR α 1 when TR α 1 was detected either using Rockland antibody in WT mice (as in López-Juárez et al., 2012) as well as with β gal antibody to detect tagged TR protein in TR α /LacZ mice (Figure 3A, this paper). Finally, the antibody gave the same cell-specific pattern as GFP following in vitro transfection of pTR α 1:GFP DNA plasmid (Mavinakere et al., 2012) transfection using the neurosphere assay (data not shown).

Secondary antibodies used: donkey anti-rabbit (Alexa Fluor 488, 594 and 647 nm), donkey anti-guinea pig (594 nm), donkey anti-goat (594 nm), donkey anti-chicken (594 nm), donkey anti-mouse (594 nm) all used diluted (1/500) in PBS containing 1% BSA and 1% normal donkey serum.

Images were acquired using LSM 710 and SP5 confocal microscopes. For confocal imaging of asymmetric cell division, a stack of images through the SVZ (a minimum of 20 images with a 0.2 μm step in the z-axis) was collected and projection (average) images made from z-stacks using Fiji software. Amira software was used to create 3D reconstructions of the asymmetric cells. Note that cell divisions were easily observed using two parameters: (i) PH3 staining reporting cell undergoing mitosis and (ii) condensed chromatin throughout the various stages of mitosis. The major phases of cell cycle progression were determined as a function of chromatin condensation, nuclear size and separation of daughter nuclei.

A signal threshold was applied using Fiji software to separate cell populations expressing different levels of protein markers determined by immunohistochemistry. Following this analysis, the statistical validity of the differences between sub-populations was established using ANOVA test.

Real-time PCR analysis

Lateral walls of the lateral ventricles were dissected under a binocular microscope, snap frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C . Total RNA was extracted with RNABle according the protocol provided with the reagent (Eurobio), concentrations/integrity were measured and stored at -80°C in

Tris 10 mM (ou mM)/EDTA 0.1 mM (pH 7.4). One microgram of total RNA was reverse-transcribed using high capacity cDNA reverse Transcription kit (Applied Biosystems). For qPCR analysis, 2 μ l of cDNA (diluted 20-fold) were used as template in a final volume of 20 μ l per well. TaqMan specific probes (Applied Biosystems) used were the following: *Egfr* (Mm00433023_m1) and control assays (GAPDH, Mm99999915_g1). qPCR reaction was performed using ABI PRISM 7300 Sequence Detection System (Applied Biosystems) as described previously (Decherf et al., 2010).

Neurosphere culture and differentiation

Five animals were sacrificed per preparation and the brains were sliced into small pieces. SVZ were dissected in DMEM-F12-glutamax (Gibco) and the lateral walls of the lateral ventricles were incubated in papain solution for 30 min at 37°C to obtain a single-cell suspension. Cells were collected by centrifugation at 1000 rcf for 5 min. The cellular pellets were resuspended in 200 μ l of DMEM-F12 (Gibco). Cells (10^5) were cultured in complete culture medium (DMEM-F12 [Gibco], 40 μ g/ml insulin [Sigma], 1/200 B-27 supplement [Gibco], 1/100 N-2 supplement [Gibco], 0.3% glucose, 5 nM HEPES, 100 U/ml penicillin/streptomycin) containing 20 ng/ml of EGF and 20 ng/ml of FGF2 (Pepro- tech) for one week to obtain primary neurospheres. The cultures were maintained in a 5% CO₂ environment at 37°C for 7 days. To analyse cell differentiation, neurospheres were dissociated into single cells and $2 \cdot 10^5$ cells were plated on Matrigel-coated glass coverslips in 24-well plated in complete culture medium without EGF/FGF2 for 7 days. To test the effects of T₃ on the early neuron/glia cell fate choice, a dose-dependent pulse of T₃ (1 nM, 10 nM, 50 nM) was given at day 1 of differentiation. Cells from the control group were grown in complete culture medium with no addition of T₃. Six days later, cells were fixed with 4% paraformaldehyde for 10 min.

Demyelination induction

Adult male mice C57BL/6, aged 8 weeks, were fed with 0.2% cuprizone (w/w) mixed into standard mouse chow for a total of 6 weeks (42 days) to induce demyelination in the corpus callosum. After cuprizone treatment, the diet was changed to normal chow for one week before studying remyelination at 49d. Aged matched normal controls (CTL) were fed with a standard chow without cuprizone. To analyze the effects of a lack of T₃ on remyelination, a critical hypothyroid window was applied during the active phase of demyelination, for one month (from 14d to 42d).

Transmission Electron Microscopy

One week after the end of the CPZ diet animals were perfused with an intra-cardiac injection of a solution containing 1.6% glutaraldehyde in phosphate buffer (0.12M, pH7.4). Brains were dissected and post fixed overnight in the same fixative solution at +4°C. Thick coronal sections (1 mm) at the level of the lateral ventricle (mouse brain atlas from Paxinos interaural: 4.30 mm bregma: 0.50 mm) were performed using a mouse brain slicer matrix (Zivic Instruments). Sections were rinsed with PB and post fixed with 1% osmium tetroxide in PB for 1 hr. Samples were dehydrated in a graded series of ethanol solutions (75, 80, 90% and 100%, 10 min each). Final dehydration was performed twice in 100% acetone for 20 min. Infiltration with Epon812 (epoxy resin) was performed in 2 steps: 1 night at +4°C in a 50:50 mixture of Epon and acetone, 6 hr at RT in fresh Epon812. Half sections were flat embedded with a drop of fresh resin in between two pieces of Aclar plastic foil. Polymerization was performed at 56°C for 48 hr in a dry oven. For sectioning samples were positioned at 90° (from flat) and cut with an UC7 ultramicrotome (Leica). Semi-thin sections (0.5 μ m thick) were stained with 1% toluidine blue in 1% borax. Ultra-thin sections (70 nm thick) were contrasted with 2% uranyl acetate and Reynold's lead citrate (Reynolds, ES (1963). The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. They were observed with a Hitachi HT7700 electron microscope, operating at 80 kV. Pictures (2048x2048 pixels) were taken with an AMT41B (pixel size: 7.4 μ m x7.4 μ m).

Acute slice preparation and compound action potential recordings

Acute coronal slices of *corpus callosum* (300 μ m) were prepared from 3.5-month-old mice in an ice-cold solution containing (in mM): 93 N-methyl-d-glucamine, 2.5 KCl, 1.2 NaH₂PO₄, 30 NaHCO₃, 20 HEPES, 25 glucose, 2 thiourea, 5 ascorbate, 3 pyruvate, 0.5 CaCl₂, and 10 MgCl₂ and incubated for 8 min in the same solution at 34°C (pH 7.4 equilibrated with HCl). Then, they were transferred for 20

min at 34°C into a standard extracellular solution containing (in mM): 126 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 26 NaHCO₃, 20 glucose, 5 pyruvate, 1 CaCl₂ and 2 MgCl₂ and maintain at RT (95% O₂, 5% CO₂). This procedure allows for a good recovery and preservation of adult brain tissue after slicing. Compound action potentials (CAPs) were recorded in a recording chamber perfused with the extracellular solution at 2–3 mL/min at 34°C. For comparison between the three groups of interest, CAPs were always recorded in the same rostral *corpus callosum* region identified under the microscope by the size of lateral ventricles opposed to the SVZ (N = 5 mice per group). Compound action potentials (CAPs) were evoked by stimulating white matter fibers with a monopolar tungsten electrode while a recording electrode (glass pipette) was placed either in the lesion core or normal appearing white matter, according to the group (100 μs stimulations; Iso-Stim 01D, npi electronic GmbH, Tamm, Germany). Electrophysiological recordings were obtained using Multiclamp 700B, filtered at 4 kHz and digitized at 20 kHz. Digitized data were analyzed off-line using pClamp10.1 (Molecular Devices).

Statistical analysis

All analyses were performed using GraphPad Prism 5.00 software (San Diego, California). All values are expressed as mean ± SEM. Each data group was first subjected to D'Agostino and Pearson normality Test. Statistical significance was determined using two-tailed Student's test or non-parametric Mann-Whitney test as indicated in figure legends. Multiple group comparisons were done using One or Two-Way ANOVA according experimental design or Kruskal-Wallis test (followed by a Dunn's multiple comparison post-hoc test). Quantifications were carried out from at least two or three independent experiments. Sample size (n) is mentioned in every figure legends. No statistical methods were used to predetermine sample sizes, but our sample sizes are similar those generally employed in the field. Variance was estimated for most results and no significant difference was found between control and experimental groups. The p-value p<0.05 was considered significant. P values, t-distributions and degrees of freedom (df) are given in figure legends.

Study approval

All experimental procedures involving mice in our study were approved by the French Ministry of Agriculture (authorization number, 01169.02).

Acknowledgements

We thank JL Thomas for helpful comments on the manuscript and CF Calvo for help with the neurosphere culture. The excellent animal care by Stephane Sosinsky and Fabien Uridat is gratefully acknowledged. The 'Plateforme d'Imagerie Cellulaire de la Pitié-Salpêtrière at ICM' provided excellent imaging advice. This work was supported by the EU FP7 contract Switchbox (Grant n° 259772), the EU H2020 contract Thyrage (Grant n°666869), the AFM; ANR grants Thrast and OLGA; CNRS; PRES/CUE Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, INSERM; the program 'Investissements d'Avenir' ANR-10-IAIHU-06, NeurATRIS, the National Brain Research and Lendület Programs of Hungary. FCO is recipient of a post-doctoral fellowship from FRM and ARSEP and supported by FONDECYT INICIACION #11160616. MCA team is supported by FRM («Equipe FRM DEQ20150331681»), Idex-USPC and ANR grants.

Additional information

Funding

| Funder | Author |
|---|---|
| Association Française contre les Myopathies | Sylvie Remaud Barbara Demeneix |
| European Commission | Barbara Demeneix |
| Agence Nationale de la Recherche | Sylvie Remaud Bernard Zalc Barbara Demeneix |

Fondation pour la Recherche
Médicale

Maria Cecilia Angulo

The funders had no role in study design, data collection and interpretation, or the decision to submit the work for publication.

Author contributions

Sylvie Remaud, Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Supervision, Funding acquisition, Validation, Visualization, Methodology, Writing—original draft; Fernando C Ortiz, Data curation, Formal analysis, Funding acquisition, Methodology, F.C.O carried out the electrophysiology experiments (compound action potentials measurements); Marine Perret-Jeanneret, Data curation, Formal analysis, Methodology; Marie-Stéphane Aigrot, Zsuzsanna Kváta-Papp, Dominique Langui, Data curation, Formal analysis; Jean-David Gothié, Data curation; Csaba Fekete, Conceptualization, Data curation, Methodology; Balázs Gereben, Conceptualization, Data curation, Formal analysis; Catherine Lubetzki, Conceptualization; Maria Cecilia Angulo, Formal analysis, Supervision, Validation, Methodology; Bernard Zalc, Conceptualization, Supervision, Validation, Methodology, Writing—original draft; Barbara Demeneix, Conceptualization, Resources, Supervision, Funding acquisition, Writing—original draft, Project administration

Author ORCIDs

Sylvie Remaud,  <http://orcid.org/0000-0002-5490-6129>Barbara Demeneix,  <http://orcid.org/0000-0003-4544-971X>

Ethics

Animal experimentation: All experimental procedures involving mice in our study were approved by the French Ministry of Agriculture (authorization number, 01169.02).

Decision letter and Author response

Decision letter <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.020>Author response <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.021>

Additional files

Supplementary files

- Transparent reporting form

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29996.019>

References

- Aguirre A**, Dupree JL, Mangin JM, Gallo V. 2007. A functional role for EGFR signaling in myelination and remyelination. *Nature Neuroscience* **10**:990–1002. DOI: <https://doi.org/10.1038/nn1938>, PMID: 17618276
- Aguirre A**, Gallo V. 2007. Reduced EGFR signaling in progenitor cells of the adult subventricular zone attenuates oligodendrogenesis after demyelination. *Neuron Glia Biology* **3**:209–220. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1740925X08000082>, PMID: 18634612
- Barres BA**, Lazar MA, Raff MC. 1994. A novel role for thyroid hormone, glucocorticoids and retinoic acid in timing oligodendrocyte development. *Development* **120**:1097–1108. PMID: 8026323
- Bergmann A**, Tugentman M, Shilo BZ, Steller H. 2002. Regulation of cell number by MAPK-dependent control of apoptosis: a mechanism for trophic survival signaling. *Developmental cell* **2**:159–170. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1534-5807\(02\)00116-8](https://doi.org/10.1016/S1534-5807(02)00116-8), PMID: 11832242
- Billon N**, Jolicoeur C, Tokumoto Y, Vennström B, Raff M. 2002. Normal timing of oligodendrocyte development depends on thyroid hormone receptor alpha 1 (TRalpha1). *The EMBO Journal* **21**:6452–6460. DOI: <https://doi.org/10.1093/emboj/cdf662>, PMID: 12456652
- Brousse B**, Magalon K, Durbec P, Cayre M. 2015. Region and dynamic specificities of adult neural stem cells and oligodendrocyte precursors in myelin regeneration in the mouse brain. *Biology Open* **4**:980–992. DOI: <https://doi.org/10.1242/bio.012773>, PMID: 26142314
- Buckley CE**, Marguerie A, Roach AG, Goldsmith P, Fleming A, Alderton WK, Franklin RJ. 2010. Drug reprofiling using zebrafish identifies novel compounds with potential pro-myelination effects. *Neuropharmacology* **59**:149–159. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.04.014>, PMID: 20450924

- Bunge MB**, Bunge RP, Ris H. 1961. Ultrastructural study of remyelination in an experimental lesion in adult cat spinal cord. *The Journal of Cell Biology* **10**:67–94. DOI: <https://doi.org/10.1083/jcb.10.1.67>, PMID: 13688845
- Crawford DK**, Mangiardi M, Xia X, López-Valdés HE, Tiwari-Woodruff SK. 2009. Functional recovery of callosal axons following demyelination: a critical window. *Neuroscience* **164**:1407–1421. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.09.069>, PMID: 19800949
- Dawson MR**, Polito A, Levine JM, Reynolds R. 2003. NG2-expressing glial progenitor cells: an abundant and widespread population of cycling cells in the adult rat CNS. *Molecular and Cellular Neuroscience* **24**:476–488. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1044-7431\(03\)00210-0](https://doi.org/10.1016/S1044-7431(03)00210-0), PMID: 14572468
- Decherf S**, Seugnet I, Kouidhi S, Lopez-Juarez A, Clerget-Froidevaux MS, Demeneix BA. 2010. Thyroid hormone exerts negative feedback on hypothalamic type 4 melanocortin receptor expression. *PNAS* **107**:4471–4476. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0905190107>, PMID: 20160073
- Deshmukh VA**, Tardif V, Lyssiotis CA, Green CC, Kerman B, Kim HJ, Padmanabhan K, Swoboda JG, Ahmad I, Kondo T, Gage FH, Theofilopoulos AN, Lawson BR, Schultz PG, Lairson LL. 2013. A regenerative approach to the treatment of multiple sclerosis. *Nature* **502**:327–332. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature12647>, PMID: 24107995
- Doetsch F**, Caillé I, Lim DA, García-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. 1999. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* **97**:703–716. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80783-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80783-7), PMID: 10380923
- Doetsch F**, Petreanu L, Caille I, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. 2002. EGF converts transit-amplifying neurogenic precursors in the adult brain into multipotent stem cells. *Neuron* **36**:1021–1034. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)01133-9](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)01133-9), PMID: 12495619
- Dugas JC**, Ibrahim A, Barres BA. 2012. The T3-induced gene KLF9 regulates oligodendrocyte differentiation and myelin regeneration. *Molecular and Cellular Neuroscience* **50**:45–57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2012.03.007>, PMID: 22472204
- Dutta R**, Trapp BD. 2011. Mechanisms of neuronal dysfunction and degeneration in multiple sclerosis. *Progress in Neurobiology* **93**:1–12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.09.005>, PMID: 20946934
- El Waly B**, Macchi M, Cayre M, Durbec P. 2014. Oligodendrogenesis in the normal and pathological central nervous system. *Frontiers in Neuroscience* **8**:145. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00145>, PMID: 24971048
- Franklin RJ**. 2002. Why does remyelination fail in multiple sclerosis? *Nature Reviews Neuroscience* **3**:705–714. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn917>, PMID: 12209119
- Franklin RJ**. 2015. Regenerative medicines for remyelination: from aspiration to reality. *Cell Stem Cell* **16**:576–577. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2015.05.010>, PMID: 26046755
- Gauthier K**, Plateroti M, Harvey CB, Williams GR, Weiss RE, Refetoff S, Willott JF, Sundin V, Roux JP, Malaval L, Hara M, Samarut J, Chassande O. 2001. Genetic analysis reveals different functions for the products of the thyroid hormone receptor alpha locus. *Molecular and Cellular Biology* **21**:4748–4760. DOI: <https://doi.org/10.1128/MCB.21.14.4748-4760.2001>, PMID: 11416150
- Gereben B**, Zavacki AM, Ribich S, Kim BW, Huang SA, Simonides WS, Zeöld A, Bianco AC. 2008. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocrine Reviews* **29**:898–938. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2008-0019>, PMID: 18815314
- Giesen K**, Lammel U, Langehans D, Krukkert K, Bunse I, Klämbt C. 2003. Regulation of glial cell number and differentiation by ecdysone and Fos signaling. *Mechanisms of Development* **120**:401–413. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0925-4773\(03\)00009-1](https://doi.org/10.1016/S0925-4773(03)00009-1), PMID: 12676319
- Goula D**, Remy JS, Erbacher P, Wasowicz M, Levi G, Abdallah B, Demeneix BA. 1998. Size, diffusibility and transfection performance of linear PEI/DNA complexes in the mouse central nervous system. *Gene Therapy* **5**:712–717. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3300635>, PMID: 9797878
- Hamilton TG**, Klinghoffer RA, Corrin PD, Soriano P. 2003. Evolutionary divergence of platelet-derived growth factor alpha receptor signaling mechanisms. *Molecular and Cellular Biology* **23**:4013–4025. DOI: <https://doi.org/10.1128/MCB.23.11.4013-4025.2003>, PMID: 12748302
- Hassani Z**, François JC, Alfama G, Dubois GM, Paris M, Giovannangeli C, Demeneix BA. 2007. A hybrid CMV-H1 construct improves efficiency of PEI-delivered shRNA in the mouse brain. *Nucleic Acids Research* **35**:e65. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkm152>, PMID: 17426128
- Hidalgo A**, Kinrade EF, Georgiou M. 2001. The Drosophila neuregulin vein maintains glial survival during axon guidance in the CNS. *Developmental Cell* **1**:679–690. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1534-5807\(01\)00074-0](https://doi.org/10.1016/S1534-5807(01)00074-0), PMID: 11709188
- Kapoor R**, Fanibunda SE, Desouza LA, Guha SK, Vaidya VA. 2015. Perspectives on thyroid hormone action in adult neurogenesis. *Journal of Neurochemistry* **133**:599–616. DOI: <https://doi.org/10.1111/jnc.13093>, PMID: 25772646
- Keirstead HS**, Blakemore WF. 1999. The role of oligodendrocytes and oligodendrocyte progenitors in CNS remyelination. *Advances in experimental medicine and biology* **468**:183–197. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4685-6_15, PMID: 10635029
- Lemkine GF**, Mantero S, Migné C, Raji A, Goula D, Normandie P, Levi G, Demeneix BA. 2002. Preferential transfection of adult mouse neural stem cells and their immediate progeny in vivo with polyethylenimine. *Molecular and Cellular Neuroscience* **19**:165–174. DOI: <https://doi.org/10.1006/mcne.2001.1084>, PMID: 11860270

- Lemkine GF**, Raj A, Alfama G, Turque N, Hassani Z, Alegria-Prévot O, Samarut J, Levi G, Demeneix BA. 2005. Adult neural stem cell cycling in vivo requires thyroid hormone and its alpha receptor. *The FASEB Journal* **19**:863–865. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.04-2916fje>, PMID: 15728663
- Lois C**, Alvarez-Buylla A. 1993. Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. *PNAS* **90**:2074–2077. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.90.5.2074>, PMID: 8446631
- López-Juárez A**, Remaud S, Hassani Z, Jolivet P, Pierre Simons J, Sontag T, Yoshikawa K, Price J, Morvan-Dubois G, Demeneix BA. 2012. Thyroid hormone signaling acts as a neurogenic switch by repressing Sox2 in the adult neural stem cell niche. *Cell Stem Cell* **10**:531–543. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.04.008>, PMID: 22560077
- Lu QR**, Yuk D, Alberta JA, Zhu Z, Pawlitzky I, Chan J, McMahon AP, Stiles CD, Rowitch DH. 2000. Sonic hedgehog-regulated oligodendrocyte lineage genes encoding bHLH proteins in the mammalian central nervous system. *Neuron* **25**:317–329. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80897-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80897-1), PMID: 10719888
- Ludwin SK**. 1978. Central nervous system demyelination and remyelination in the mouse: an ultrastructural study of cuprizone toxicity. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* **39**:597–612. PMID: 739762
- Macchia PE**, Takeuchi Y, Kawai T, Cua K, Gauthier K, Chassande O, Seo H, Hayashi Y, Samarut J, Murata Y, Weiss RE, Refetoff S. 2001. Increased sensitivity to thyroid hormone in mice with complete deficiency of thyroid hormone receptor alpha. *PNAS* **98**:349–354. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.011306998>, PMID: 11120878
- Mahad DH**, Trapp BD, Lassmann H. 2015. Pathological mechanisms in progressive multiple sclerosis. *The Lancet Neurology* **14**:183–193. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70256-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70256-X), PMID: 25772897
- Mavinakere MS**, Powers JM, Subramanian KS, Roggero VR, Allison LA. 2012. Multiple novel signals mediate thyroid hormone receptor nuclear import and export. *Journal of Biological Chemistry* **287**:31280–31297. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.397745>, PMID: 22815488
- Mei F**, Fancy SPJ, Shen YA, Niu J, Zhao C, Presley B, Miao E, Lee S, Mayoral SR, Redmond SA, Etxeberria A, Xiao L, Franklin RJM, Green A, Hauser SL, Chan JR. 2014. Micropillar arrays as a high-throughput screening platform for therapeutics in multiple sclerosis. *Nature Medicine* **20**:954–960. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm.3618>, PMID: 24997607
- Mei F**, Lehmann-Horn K, Shen YA, Rankin KA, Stebbins KJ, Lorrain DS, Pekarek K, A Sagan S, Xiao L, Teuscher C, von Büdingen HC, Wess J, Lawrence JJ, Green AJ, Fancy SP, Zamvil SS, Chan JR. 2016. Accelerated remyelination during inflammatory demyelination prevents axonal loss and improves functional recovery. *eLife* **5**:pii: e18246. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.18246>, PMID: 27671734
- Menn B**, Garcia-Verdugo JM, Yaschine C, Gonzalez-Perez O, Rowitch D, Alvarez-Buylla A. 2006. Origin of oligodendrocytes in the subventricular zone of the adult brain. *Journal of Neuroscience* **26**:7907–7918. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1299-06.2006>, PMID: 16870736
- Miller JA**, Ding SL, Sunkin SM, Smith KA, Ng L, Szafer A, Ebbert A, Riley ZL, Royall JJ, Aiona K, Arnold JM, Bennet C, Bertagnolli D, Brouner K, Butler S, Caldejon S, Carey A, Cuhacian C, Dalley RA, Dee N, et al. 2014. Transcriptional landscape of the prenatal human brain. *Nature* **508**:199–206. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature13185>, PMID: 24695229
- Nait-Oumesmar B**, Decker L, Lachapelle F, Avellana-Adalid V, Bachelin C, Baron-Van Evercooren A. 1999. Progenitor cells of the adult mouse subventricular zone proliferate, migrate and differentiate into oligodendrocytes after demyelination. *European Journal of Neuroscience* **11**:4357–4366. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1999.00873.x>, PMID: 10594662
- Nait-Oumesmar B**, Picard-Riera N, Kerninon C, Decker L, Seilhean D, Höglinger GU, Hirsch EC, Reynolds R, Baron-Van Evercooren A. 2007. Activation of the subventricular zone in multiple sclerosis: evidence for early glial progenitors. *PNAS* **104**:4694–4699. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0606835104>, PMID: 17360586
- Najm FJ**, Madhavan M, Zaremba A, Shick E, Karl RT, Factor DC, Miller TE, Nevin ZS, Kantor C, Sargent A, Quick KL, Schlatter DM, Tang H, Papoian R, Brimacombe KR, Shen M, Boxer MB, Jadhav A, Robinson AP, Podojil JR, et al. 2015. Drug-based modulation of endogenous stem cells promotes functional remyelination in vivo. *Nature* **522**:216–220. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14335>, PMID: 25896324
- Ortega JA**, Radonjić NV, Zecevic N. 2013. Sonic hedgehog promotes generation and maintenance of human forebrain Olig2 progenitors. *Frontiers in Cellular Neuroscience* **7**:254. DOI: <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00254>, PMID: 24379757
- Patrikios P**, Stadelmann C, Kutzelnigg A, Rauschka H, Schmidbauer M, Laursen H, Sorensen PS, Brück W, Lucchinetti C, Lassmann H. 2006. Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain* **129**:3165–3172. DOI: <https://doi.org/10.1093/brain/awl217>, PMID: 16921173
- Périer O**, Grégoire A. 1965. Electron microscopic features of multiple sclerosis lesions. *Brain* **88**:937–952. DOI: <https://doi.org/10.1093/brain/88.5.937>, PMID: 5864468
- Reichert H**. 2009. Evolutionary conservation of mechanisms for neural regionalization, proliferation and interconnection in brain development. *Biology Letters* **5**:112–116. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2008.0337>, PMID: 18755655
- Remaud S**, Gothié JD, Morvan-Dubois G, Demeneix BA. 2014. Thyroid hormone signaling and adult neurogenesis in mammals. *Frontiers in Endocrinology* **5**:62. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00062>, PMID: 24808891
- Sahel A**, Ortiz FC, Kerninon C, Maldonado PP, Angulo MC, Nait-Oumesmar B. 2015. Alteration of synaptic connectivity of oligodendrocyte precursor cells following demyelination. *Frontiers in Cellular Neuroscience* **9**:77. DOI: <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00077>, PMID: 25852473

- Sapir T**, Horesh D, Caspi M, Atlas R, Burgess HA, Wolf SG, Francis F, Chelly J, Elbaum M, Pietrokovski S, Reiner O. 2000. Doublecortin mutations cluster in evolutionarily conserved functional domains. *Human Molecular Genetics* **9**:703–712. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/9.5.703>, PMID: 10749977
- Scafidi J**, Hammond TR, Scafidi S, Ritter J, Jablonska B, Roncal M, Szigeti-Buck K, Coman D, Huang Y, McCarter RJ, Hyder F, Horvath TL, Gallo V. 2014. Intranasal epidermal growth factor treatment rescues neonatal brain injury. *Nature* **506**:230–234. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature12880>, PMID: 24390343
- St Germain DL**, Galton VA, Hernandez A. 2009. Minireview: Defining the roles of the iodothyronine deiodinases: current concepts and challenges. *Endocrinology* **150**:1097–1107. DOI: <https://doi.org/10.1210/en.2008-1588>, PMID: 19179439
- Stidworthy MF**, Genoud S, Suter U, Mantei N, Franklin RJ. 2003. Quantifying the early stages of remyelination following cuprizone-induced demyelination. *Brain Pathology* **13**:329–339. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2003.tb00032.x>, PMID: 12946022
- Stolt CC**, Lommes P, Friedrich RP, Wegner M. 2004. Transcription factors Sox8 and Sox10 perform non-equivalent roles during oligodendrocyte development despite functional redundancy. *Development* **131**:2349–2358. DOI: <https://doi.org/10.1242/dev.01114>, PMID: 15102707
- Sun Y**, Goderie SK, Temple S. 2005. Asymmetric distribution of EGFR receptor during mitosis generates diverse CNS progenitor cells. *Neuron* **45**:873–886. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.01.045>, PMID: 15797549
- Suzuki SO**, Goldman JE. 2003. Multiple cell populations in the early postnatal subventricular zone take distinct migratory pathways: a dynamic study of glial and neuronal progenitor migration. *Journal of Neuroscience* **23**:4240–4250. PMID: 12764112
- Tripathi RB**, Rivers LE, Young KM, Jamen F, Richardson WD. 2010. NG2 glia generate new oligodendrocytes but few astrocytes in a murine experimental autoimmune encephalomyelitis model of demyelinating disease. *Journal of Neuroscience* **30**:16383–16390. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3411-10.2010>, PMID: 21123584
- Wolswijk G**, Noble M. 1989. Identification of an adult-specific glial progenitor cell. *Cell Differentiation and Development* **105**:203–400. DOI: [https://doi.org/10.1016/0922-3371\(89\)90618-7](https://doi.org/10.1016/0922-3371(89)90618-7), PMID: 2680425
- Xing YL**, Röth PT, Stratton JA, Chuang BH, Danne J, Ellis SL, Ng SW, Kilpatrick TJ, Merson TD. 2014. Adult neural precursor cells from the subventricular zone contribute significantly to oligodendrocyte regeneration and remyelination. *Journal of Neuroscience* **34**:14128–14146. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3491-13.2014>, PMID: 25319708
- Xu J**, Thompson KL, Shephard LB, Hudson LG, Gill GN. 1993. T3 receptor suppression of Sp1-dependent transcription from the epidermal growth factor receptor promoter via overlapping DNA-binding sites. *The Journal of biological chemistry* **268**:16065–16073. PMID: 8393457
- Zak NB**, Shilo BZ. 1990. Biochemical properties of the Drosophila EGF receptor homolog (DER) protein. *Oncogene* **5**:1589–1593. PMID: 2250916
- Zhang YW**, Wang R, Liu Q, Zhang H, Liao FF, Xu H. 2007. Presenilin/gamma-secretase-dependent processing of beta-amyloid precursor protein regulates EGF receptor expression. *PNAS* **104**:10613–10618. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0703903104>, PMID: 17556541

952 **Supplementary figure legends**

953

954 **Figure 1 – figure supplement 1.**

955 *A T₃-free window during CPZ demyelination increases remyelination.*

956 (A) Quantification of Olig2+ oligodendrocyte progenitors in the SVZ and in the corpus
957 callosum following four weeks of hypothyroidism (without cuprizone). (B) Quantification
958 of MBP mean fluorescence intensity in the corpus callosum in control, EuCPZ and
959 HypoCPZ mice (C and D) Hypothyroidism does not affect astrocyte (GFAP, grey) or
960 microglial (IBA1, pink) responses. Scale bar: 500 μ m. (E and F) Extent of remyelination
961 was evaluated by MOG immunostaining in the corpus callosum (E) and in the septum (F)
962 one week after the end of CPZ treatment. The mild remyelination observed in euthyroid
963 mice contrasts with the intense remyelination of hypothyroid mice both in corpus callosum
964 (E) and in the septum (F). Scale bar: 100 μ m. (G) Extent of remyelination was evaluated
965 by OLIG2 immunostaining in the corpus callosum one week after the end of CPZ diet.
966 Scale bar: 30 μ m.

967

968 **Figure 1 – figure supplement 2.**

969 *SVZ-OPCs are recruited to the corpus callosum following a demyelinating insult.*

970 Coronal sections showing GFP+ cells (green) 20d after viral injection of the adult SVZ.
971 GFP+ cells are mainly confined in the SVZ of CTL (n=3) and EuCPZ (n=3) mice. Few
972 GFP+ cells displaying oligodendrocyte morphologies can be observed in the corpus
973 callosum of EuCPZ mice (see highlight, scale bar 10 μ m)). Furthermore, we observed a
974 large number of GFP+ in the corpus callosum of HypoCPZ (n=3) mice, just above the
975 lateral ventricle (LV). CC=corpus callosum, St=striatum, LV=lateral ventricle. Scale bar:
976 50 μ .

977

978 **Figure 1 - figure supplement 3.**

979 (A-B) Mice received T3/T4 pulses during the recuperation phase (A) Quantification of
980 the g-ratio in control (CTL), euthyroid-CPZ (Eu CPZ) and hypothyroid CPZ (Hypo CPZ)
981 (mean \pm SEM, n>100 per group. ***, p<0.001, Kruskal-Wallis test followed by a Dunn's
982 post-hoc test). (B) Quantification of myelin thickness of the myelin sheath in
983 hypothyroid-CPZ (Hypo CPZ) conditions shows thickness is restored to control levels
984 compared to euthyroid-CPZ condition (Eu CPZ). (mean \pm SEM, n>100 per group. ***,
985 p<0.001, **, p<0.001, Kruskal-Wallis test followed by a Dunn's post-hoc test). (C-E)
986 Mice received NaCl during the recuperation phase. (C) Density of remyelinated axons per
987 area (μ m²) in CTL, EuCPZ and HypoCPZ after CPZ-induced demyelination.
988 (mean \pm SEM, n=10-12 sections from 2 CTL, 2 EuCPZ and 2 HypoCPZ mice, ***,
989 p<0.0001, Kruskal-Wallis test) (D) Quantification of the g-ratio in CTL, Eu CPZ and
990 HypoCPZ mice (mean \pm SEM, n>100 per group. ***, p<0.001, Kruskal-Wallis test
991 followed by a Dunn's post-hoc test). (E) Quantification of myelin thickness of the myelin
992 sheath in CTL, Eu CPZ and HypoCPZ mice (mean \pm SEM, n>100 per group. ***,
993 p<0.001, **, p<0.001, Kruskal-Wallis test followed by a Dunn's post-hoc test).

994

995 **Figure 2 - figure supplement 1.**

996 Differential interference contrast image (coronal view) of recorded acute slices from control,
997 EuCPZ and HypoCPZ groups. CC=corpus callosum. Scale bar: 200 μ m.

998

999 **Figure 3 – figure supplement 1.**

1000 *TRα1* signalling is associated with a neuronal fate *in vitro* and *in vivo*

1001 (A) Analysis of TRα1 (β-Gal) and OLIG2 fluorescent signals. Two distinct cell
1002 populations are discriminated: a population of OLIG2^{high}/TRα1^{low} (blue circle) is clustered
1003 as a separate population of OLIG2^{low}/TRα1^{high} (red circle). (B-C') Neurospheres were
1004 generated from SVZ sampled from WT adult mice. Dissociated cells from neurospheres
1005 were induced to differentiate. Following 7-day differentiation, immunolabelling for TRα1
1006 (green), the neuronal marker TUJ1 (red, B), the oligodendrocyte marker O4 (red, C and
1007 C') were performed. Endogenous TRα1 is detected in all TUJ1⁺ neuronal cells (B) and can
1008 be found in more mature O4⁺ glial cells (C,C'). DAPI nuclear staining revealed all cells in
1009 the slides. Scale bar: 5 μm. (D) T₃ represses *Egfr* expression in the adult SVZ. SVZ of
1010 long-term hypothyroid adult mouse brains (*versus* euthyroid) were dissected and *Egfr*
1011 mRNA were quantified by qPCR and normalized against *GAPDH* using the DDCt method.
1012 *Egfr* levels are given as a function of control levels. (mean±SEM, Pooled data from three
1013 experiments are given, n>12 mice, **p=0.008, U=4, Mann-Whitney test). (E and F)
1014 Immunodetection of EGFR in the dorsal part of the SVZ from WT (E) or *TRα1*^{o/o} (F) adult
1015 mice showing that TRα1 loss of function increases the EGFR⁺ population in the adult
1016 mouse SVZ. Scale bar: 50 μm. (G) Quantification of EGFR signal in the dorsal part of the
1017 adult SVZ of WT *versus* *TRα1*^{o/o} mice.(Data are presented as mean IOD ± SEM, n=8, 4
1018 slices from 2 animals, **p=0.0022, U=3, Mann Whitney test). IOD, Integrated Optical
1019 Density. (H) Quantified proportion of EGFR-positive cells after 7 days differentiation in
1020 presence or not of T₃ (50nM). (mean±SEM, n=16, ***p=0.0002, Mann-Whitney test).

1021

1022 **Figure 5 – figure supplement 1**

1023 *Expression of the inactivating deiodinase, Dio3, excludes TH signalling from NSC,*
1024 *progenitors and oligodendrocyte progenitors.*

1025 (A) The SVZ from *nestin:GFP* adult mice was double-stained with anti-GFAP (red) and
1026 anti-Dio3 (grey) antibodies. Note that Dio3 is highly expressed in the radial process of
1027 Nestin⁺ and GFAP⁺ NSC (arrowheads). (B) Correlations between the expression levels of
1028 Dio3 (black, y axis) and EGFR (red, x axis) versus DCX (blue, x axis) expression levels.
1029 (C and D) Coronal sections across the lateral ventricle of *nestin:GFP* adult mouse were
1030 stained with anti-SOX2 (red, C), anti-DCX (blue, C and D) and anti-Dio3 (grey, D). Note
1031 that Dio3 shows much lower expression in DCX⁺ neuroblasts but is highly expressed in
1032 Nestin (GFP⁺) and SOX2⁺ progenitors. (E) Immunolabelling for EGFR (red), DCX (green)
1033 and Dio3 (grey) was performed on cells dissociated from neurospheres. Dio3 is strongly
1034 expressed in EGFR⁺ progenitors and much lower expressed in DCX⁺ neuroblasts.

1035

1036 **Figure 5 – figure supplement 2**

1037 (A and B) SVZ tissues were sampled from WT adult mice for neurosphere culture. After
1038 plating, dissociated cells from neurospheres were induced to differentiate in presence of a
1039 short pulse of T₃ at four different concentrations (0, 1, 10 and 50nM). One week after
1040 initial plating, cells were fixed and stained with antibodies against DCX (red) and OLIG2
1041 (green). (A) Representative distributions of DCX⁺ and OLIG2⁺ cells are shown for each T₃
1042 dose. Scale bar: 50 μm (B) Quantification of the DCX/OLIG2 ratio is shown for each dose
1043 of T₃. The ratio decreased in a dose-dependent manner. (mean±SEM, n=4 per group. *,
1044 p<0.05, Kruskal-Wallis Test).

1045

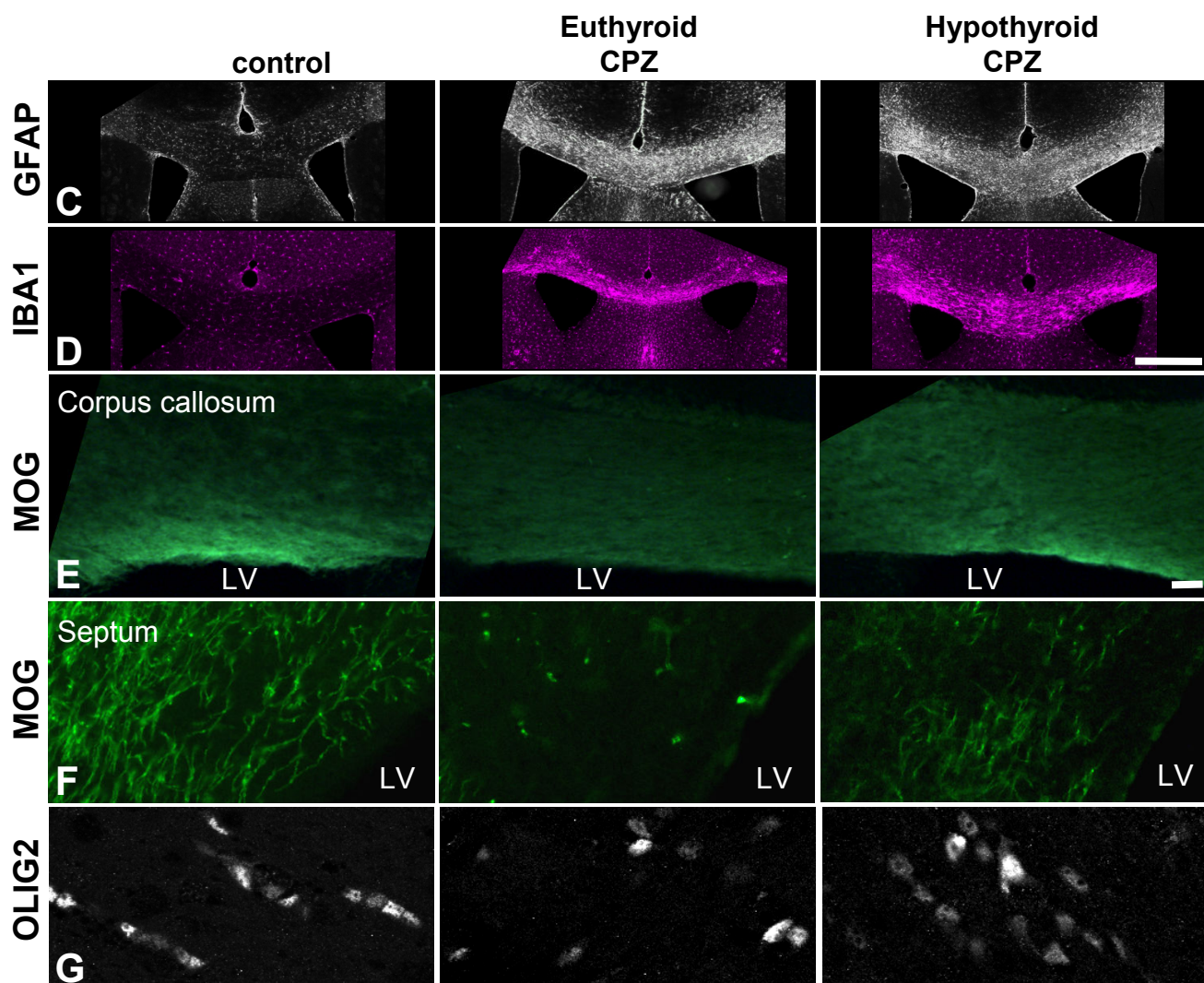
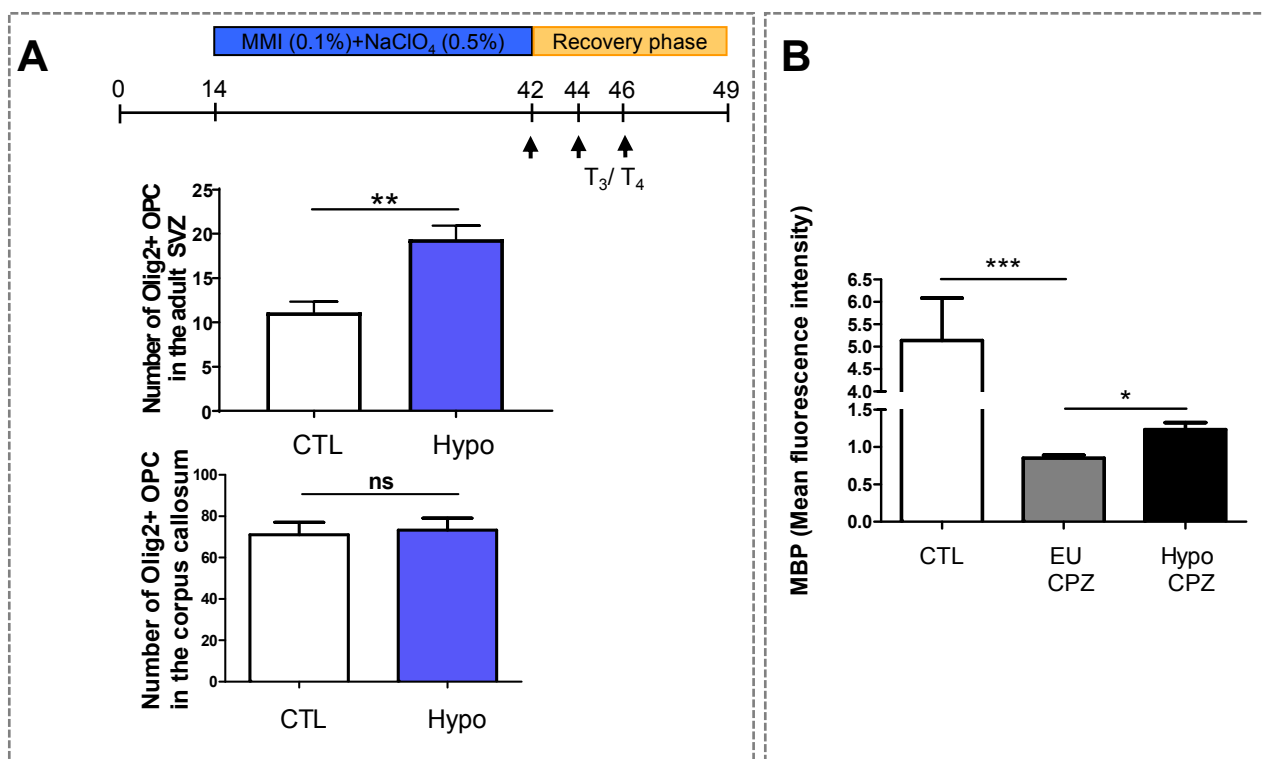


Figure 1 – figure supplement 1

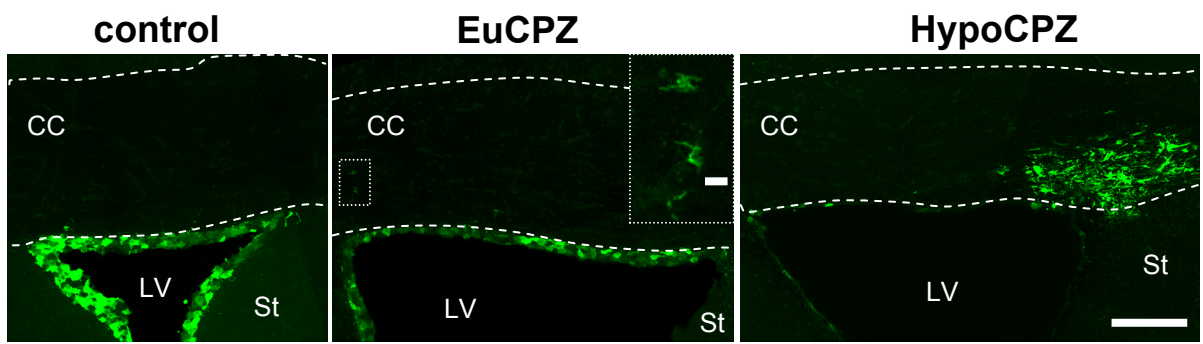
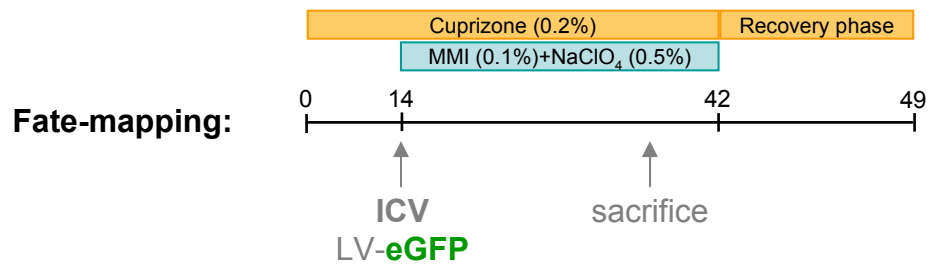


Figure 1 – figure supplement 2

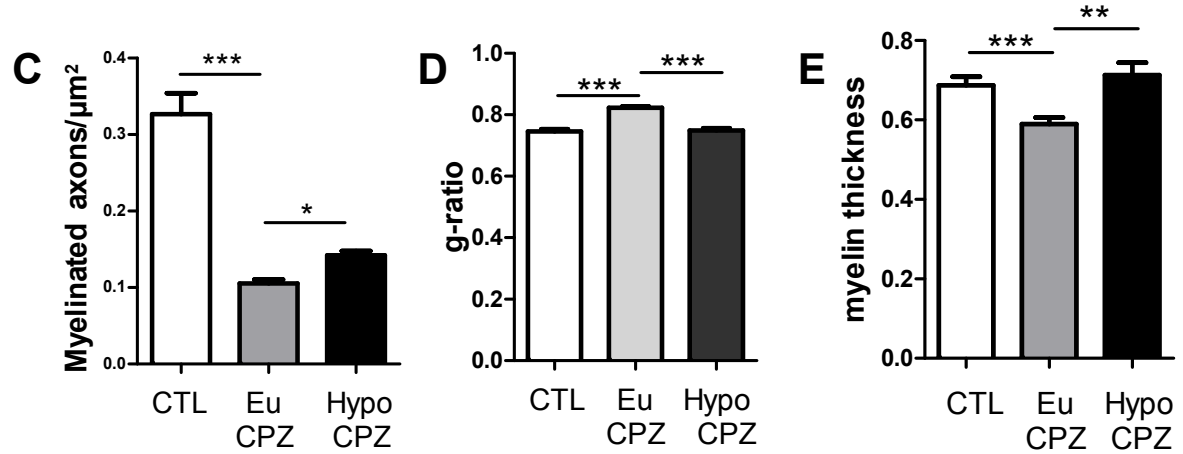
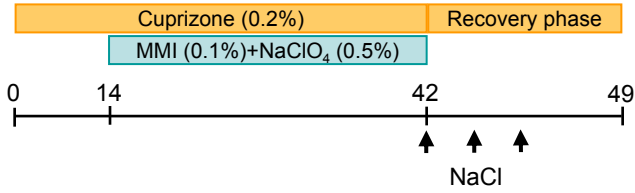
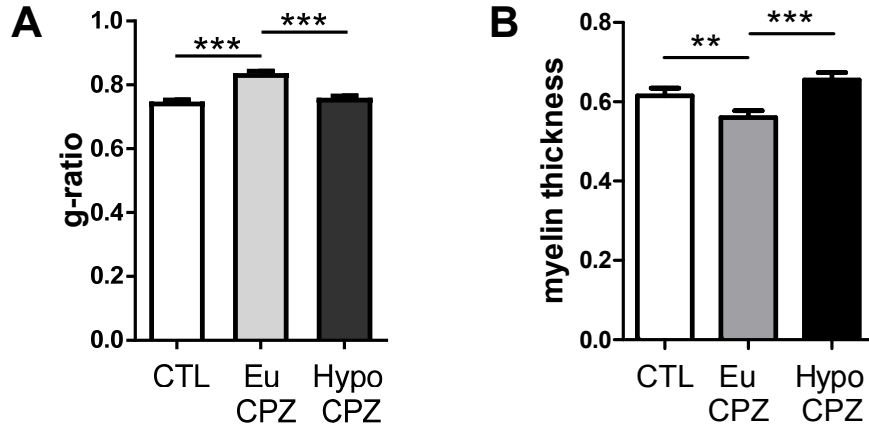
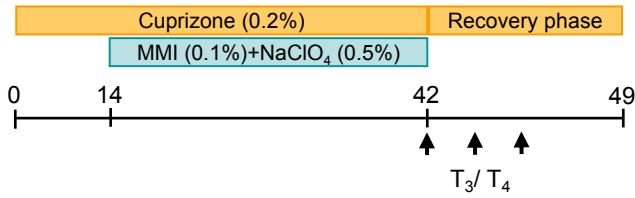


Figure 1 – figure supplement 3

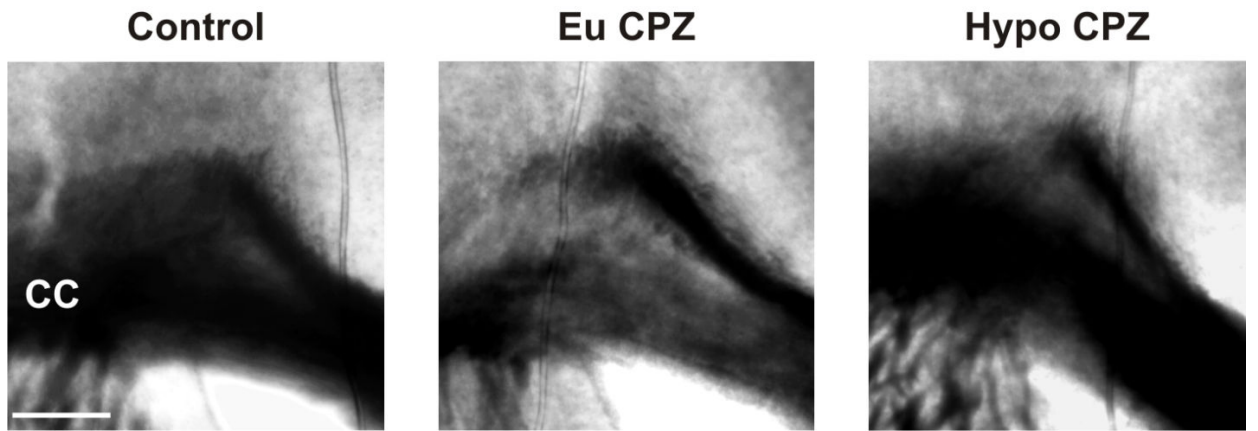


Figure 2 – figure supplement 1

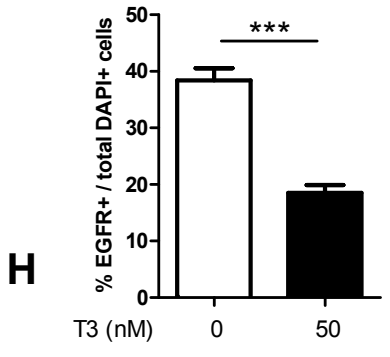
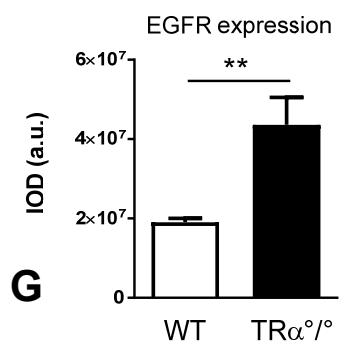
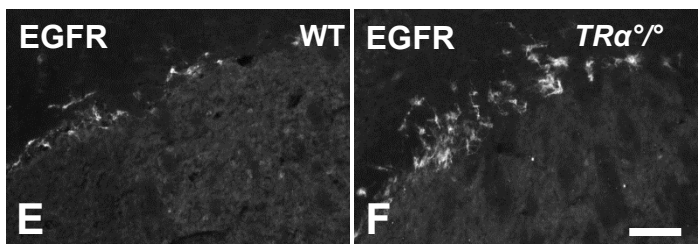
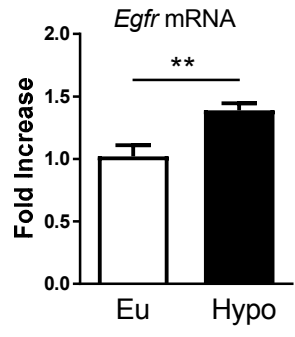
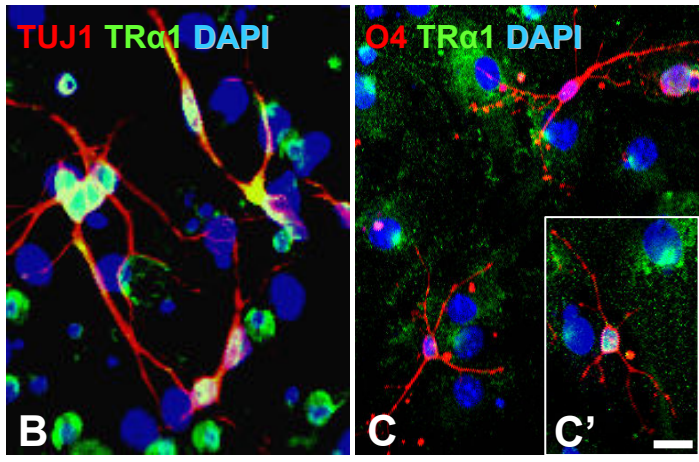
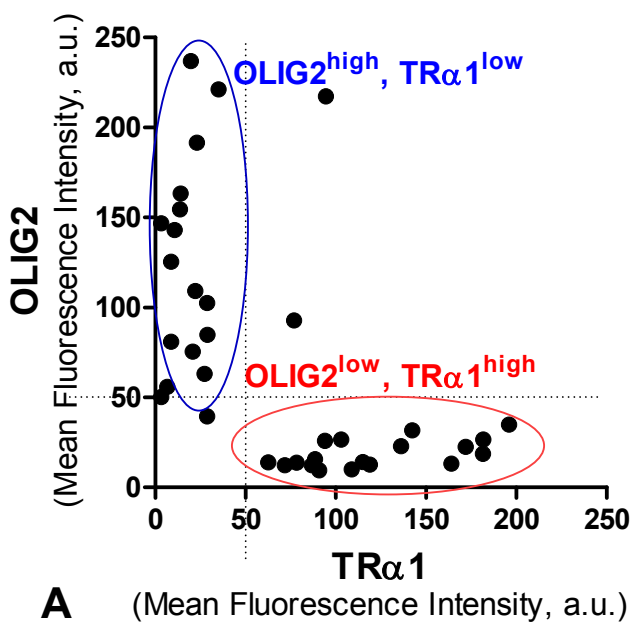


Figure 3 – figure supplement 1

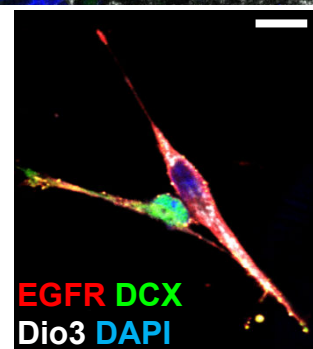
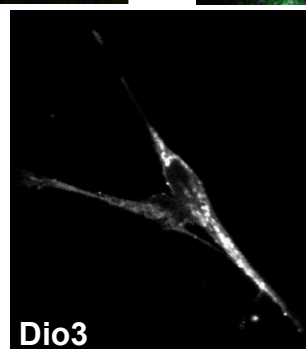
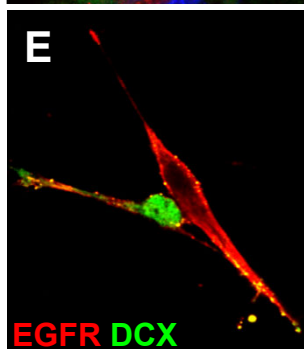
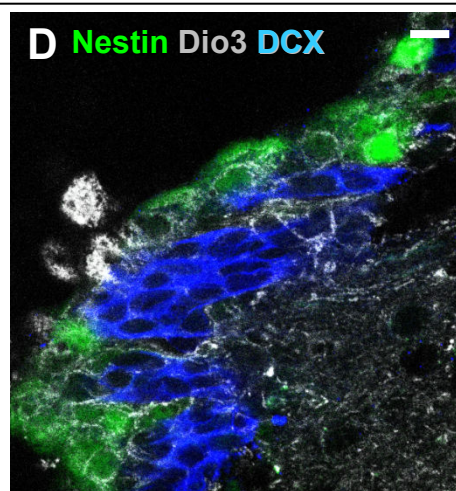
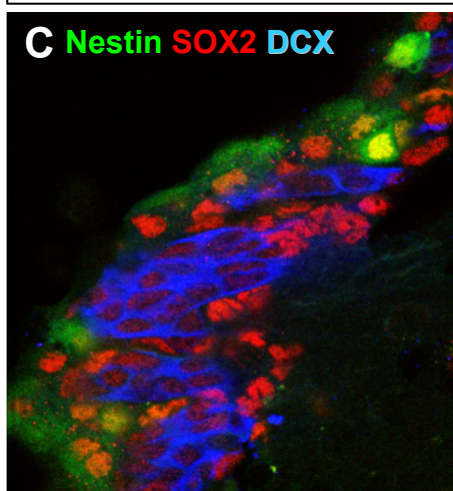
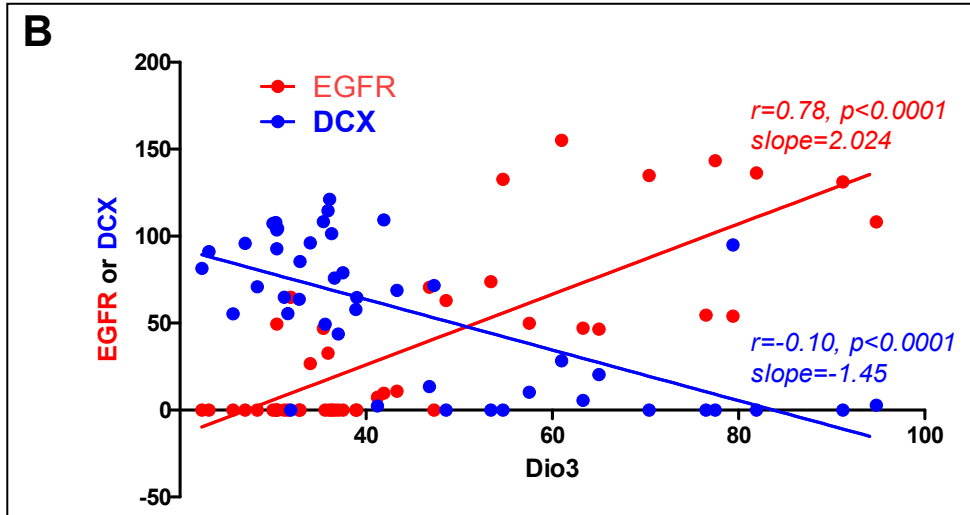
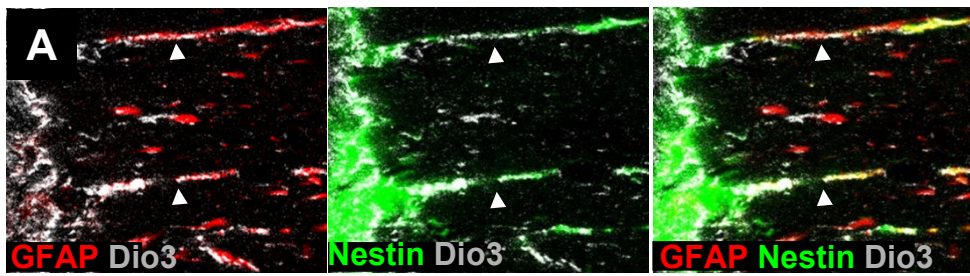


Figure 5 – figure supplement 1

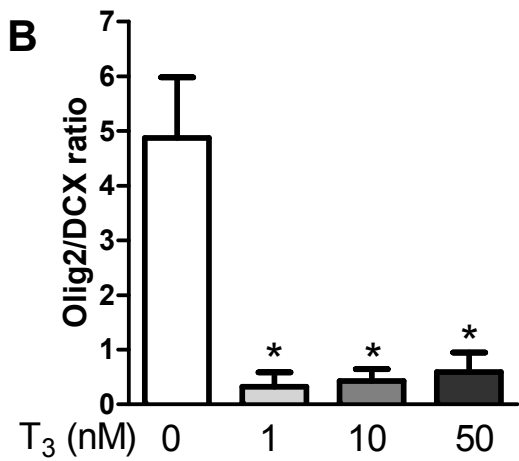
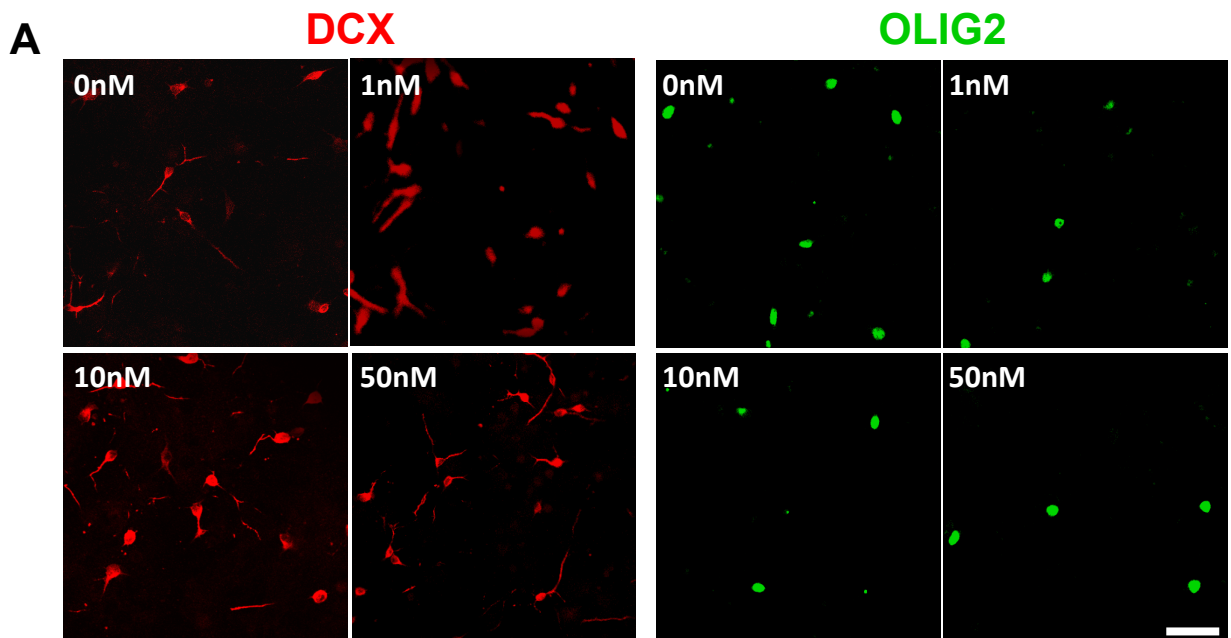


Figure 5 – figure supplement 2

Annexe II : Comparative approaches to understanding thyroid hormone regulation of neurogenesis

Article soumis le 2 février et accepté pour publication le 19 mai 2017 dans le journal *Molecular and Cellular Endocrinology*.

Gothié J. D., Demeneix, B. and Remaud, S. (2017) 'Comparative approaches to understanding thyroid hormone regulation of neurogenesis', *Mol Cell Endocrinol.* ; doi : 10.1016/j.mce.2017.05.020.



Contents lists available at ScienceDirect

Molecular and Cellular Endocrinology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/mce

Comparative approaches to understanding thyroid hormone regulation of neurogenesis

Jean-David Gothié, Barbara Demeneix*, Sylvie Remaud**

CNRS, UMR 7221, Muséum National d'Histoire Naturelle, F-75005 Paris France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 February 2017
Received in revised form
11 May 2017
Accepted 19 May 2017
Available online xxx

Keywords:

Neurogenesis
Thyroid hormone
Evo-devo
Neurodevelopmental diseases

ABSTRACT

Thyroid hormone (TH) signalling, an evolutionary conserved pathway, is crucial for brain function and cognition throughout life, from early development to ageing. In humans, TH deficiency during pregnancy alters offspring brain development, increasing the risk of cognitive disorders. How TH regulates neurogenesis and subsequent behaviour and cognitive functions remains a major research challenge. Cellular and molecular mechanisms underlying TH signalling on proliferation, survival, determination, migration, differentiation and maturation have been studied in mammalian animal models for over a century. However, recent data show that THs also influence embryonic and adult neurogenesis throughout vertebrates (from mammals to teleosts). These latest observations raise the question of how TH availability is controlled during neurogenesis and particularly in specific neural stem cell populations. This review deals with the role of TH in regulating neurogenesis in the developing and the adult brain across different vertebrate species. Such evo-devo approaches can shed new light on (i) the evolution of the nervous system and (ii) the evolutionary control of neurogenesis by TH across animal phyla. We also discuss the role of thyroid disruptors on brain development in an evolutionary context.

© 2017 Published by Elsevier Ireland Ltd.

Contents

| | |
|--|----|
| 1. Introduction | 00 |
| 2. Roles of thyroid hormone signalling during embryonic and fetal brain development | 00 |
| 2.1. Human studies | 00 |
| 2.2. Animals models | 00 |
| 2.2.1. Mammalian models | 00 |
| 2.2.2. Non-mammalian models | 00 |
| 3. Roles of thyroid hormone signalling during adult neurogenesis | 00 |
| 3.1. Mammalian models | 00 |
| 3.1.1. Neurogenesis in the adult SVZ and SGZ niches | 00 |
| 3.1.2. TH regulation of adult SVZ and SGZ neurogenesis | 00 |
| 3.1.3. Metabolic regulations | 00 |
| 3.2. Non-mammalian models | 00 |
| 4. Roles of TH in the ageing brain | 00 |
| 5. Evolutionary implications of endocrine-disrupting chemicals exposure for brain function | 00 |
| 6. Conclusions | 00 |
| Acknowledgements | 00 |
| References | 00 |

* Corresponding author.

** Corresponding author.

E-mail addresses: bdem@mnhn.fr (B. Demeneix), sremaud@mnhn.fr (S. Remaud).

1. Introduction

In mammals, thyroid hormones (thyroxine, T₄; triiodothyronine, T₃) are crucial for brain development and function throughout life, from early embryogenesis to neurogenesis in the adult brain. Thyroid hormone (TH) signalling governs many aspects of neurogenesis including proliferation, survival, cell fate decision, migration, differentiation and maturation of both neuronal and glial cells. The fundamental role of TH signalling in developmental processes and more specifically in neurodevelopmental events is not restricted to mammals, but is well conserved throughout vertebrates. For example, in amphibians (Su et al., 1999) and some teleosts such as the flatfishes (Power et al., 2001) TH regulates larval metamorphosis, including remodeling of the nervous system. Furthermore, in avian species, TH is also essential for nervous system development (McNabb, 2006) and for adult neurogenesis (Alvarez-Buylla, 1990). Metamorphosis in non-chordates can also be initiated by TH, even though they do not possess a thyroid gland, for example in echinoderm larvae that obtain exogenous TH from their food (Heyland and Moroz, 2005; Heyland et al., 2006).

The timing of TH-programmed development of the fetal brain involves simultaneous activity, at the tissue level, of a complex set of evolutionarily conserved distributor proteins, transporters, deiodinases, receptors and cofactors. Thus, taking a comparative approach (evo-devo) to analyse roles of TH during brain development can provide information on the cellular and molecular mechanisms underlying TH regulation of neurogenesis, from early to adult neurogenesis.

THs are released from the thyroid gland then transported to target tissues where they regulate genomic and non-genomic actions. More than 99% of circulating T₃ and T₄ are bound to plasma binding proteins such as transthyretin (TTR), thyroxine-binding globulin (TBG) or albumin. In the central nervous system (CNS), in presence or absence of T₃, transcriptional regulations are mediated by TH nuclear receptors (TRs). Four classic receptor isoforms are encoded by two genes: TR α 1 and TR α 2 (from *THRA* gene) and TR β 1 and TR β 2 (from *THRB* gene). Three TR isoforms are able to bind with high-affinity to T₃: TR α 1, the predominant subtype expressed in the CNS, TR β 1 and TR β 2. On a positively regulated target gene, in absence of T₃, the unliganded TR (aporeceptor) recruits corepressors and histone deacetylases that repress T₃-target gene transcription. In contrast, when T₃ binds to TR, corepressors are released and coactivators together with histone acetylases are recruited, thereby activating transcription (Bernal, 2007). In all tissues, especially in different developing brain structures, TH availability is precisely modulated by the ontogenic profiles of three iodothyronine deiodinases (DIO1, DIO2 and DIO3) (Burrow et al., 1994; St Germain et al., 2005). DIO2 and DIO3 are the main deiodinases expressed in mammalian brains. DIO2 converts T₄ to T₃ and is highly expressed in brain, enabling a local production of T₃. Lastly, DIO3 that inactivates T₃ and T₄ is strongly expressed in fetal and placental tissues, including the brain where it is expressed in neurons (Kaplan and Yaskoski, 1981), thus limiting TH effects during much of fetal life. TH transport into the brain is mediated by transmembrane transporters such as MCT8, MCT10, LAT1, LAT2, OATP1c1 (for review, see (Wirth et al., 2014)). These transporters, especially MCT8, are needed for THs uptake across the blood-brain-barrier (BBB) and for THs transport between cerebral cells like astrocytes and neurons within the brain.

In this review, we provide an overview of the impact of TH in the developing embryo/fetal brain in mammalian and non-mammalian vertebrates. The second part focuses on the roles of TH during adult

neurogenesis especially in mammals. We also discuss the role of neural stem cells during ageing and the implications of THs in neurogenic regions of the aged brain. Lastly, we apply an evolutionary approach to discuss long-term impacts of the interaction between TH signalling and environmental thyroid disruptors on brain development and adult neurogenesis.

2. Roles of thyroid hormone signalling during embryonic and fetal brain development

The evidence for the role of TH in vertebrate brain development comes from three different sources: (i) epidemiological data collected in areas of iodine deficiency and (ii) studies of children born to women with thyroid disorders and (iii) studies of animal models including mammalian (rodents, sheep, chickens, marmosets) and non-mammalian models (amphibians, birds and teleosts).

2.1. Human studies

THs are essential for human brain development from the beginning of pregnancy to the first years of life (Berbel et al., 2014). Inadequate maternal TH levels, due to clinical or subclinical hypothyroidism, irreversibly alter neurodevelopment in the progeny, leading to mental and physical disorders. Among neurological diseases, cretinism, deafness, schizophrenia and attention deficit hyperactive disorder (ADHD) have been linked to insufficient iodine levels during gestation and the early post-natal period (de Escobar et al., 2007; Haddow et al., 1999; Hetzel, 2000; Zimmermann et al., 2008). More recently, maternal hypothyroidism was associated with a higher risk for autism in the progeny (Román, 2007; Román et al., 2013).

Most of the literature describes the crucial role of TH in brain development during the perinatal period (Bernal, 2007). However, recent epidemiological and clinical studies highlight that the first half of pregnancy, before the onset of the fetal thyroid gland at mid-gestation (week 12–22 of gestation), is a maternal TH-sensitive period for optimal fetal neurodevelopment (Berbel et al., 2009; Downing et al., 2012). During the first trimester, the human fetus is strictly dependent on maternal THs for early cortical neurogenesis (from week 5–20 of gestation), neuronal migration, and early phases of maturation (axonogenesis and dendrogenesis). In a severely iodine-deficient area of China, iodine treatment to mothers up to the end of the second trimester of pregnancy improves fetal neurological status (Cao et al., 1994). Even if *Dio3* expression in placental membranes and fetal tissues limits maternal TH supply to fetal compartments, the early human fetal brain is exposed to biologically relevant TH concentrations (Calvo et al., 2002). Several arguments strongly suggest that maternal THs can exert a biological function in the fetal brain before the onset of fetal thyroid gland at mid-gestation. First, chorionic gonadotropin (hCG), produced by fetal trophoblast cells, acts as a thyrotropic agonist (TSH-like activity) and directly increases maternal free T₄ secretion following thyrocytes stimulation up to the end of the first trimester (Bancalari et al., 2012). In parallel, circulating TBG is also transiently increased (Glinoe, 2007). This increased maternal thyroid function involves increased iodine uptake by the thyroid gland. Second, the increased synthesis and secretion of TTR by the human placenta during the first trimester is thought to facilitate maternal TH delivery to the developing fetus (Alshehri et al., 2015; Landers et al., 2013). Third, T₄ concentrations are similar in fetal and maternal fluids (Calvo et al., 2002). Moreover, TR α 1 and TR β 1 isoforms are detected at low levels from 8 to 10

weeks of gestation; TR α 1 mRNA and receptor binding increase 8- to 10-fold by 16–18 weeks (Bernal and Pekonen, 1984; Kilby et al., 2000). Lastly, high T₃ levels are found in the human cortex from the 9th to the 13th week of fetal life and about 25% of nuclear receptors are bound by T₃ (Ferreiro et al., 1988). This is due to the ontogenic profile of DIO2: DIO2 activity increases in the developing cerebral cortex, being involved in correct cerebral layering during the first trimester (Chan et al., 2002).

Minor dysfunction of the maternal thyroid axis is sufficient to alter neuro-motor development in the child (Boas et al., 2012). Early maternal hypothyroxinemia induces in the progeny a lower intelligence quotient (Ghassabian et al., 2014), a deficit in motor performance (de Escobar et al., 2004; Pop et al., 2003) and a slower response speed (Finken et al., 2013). This impaired psychomotor development may be associated with a lower child's scholastic performance (Korevaar et al., 2016; Noten et al., 2015; Pääkkilä et al., 2015). Both low and high levels of maternal THs during early pregnancy are deleterious to child IQ and brain morphology (Korevaar et al., 2016), showing that the supply of maternal THs should be tightly controlled for proper brain development.

For obvious ethical constraints, the role of TH on brain development at cellular and molecular levels is currently studied using animals models, especially rodents (see below). However, it has been recently demonstrated using imaging techniques (especially MRI scans) that many aspects of brain structure and maturation are impaired in newborns and infants of mothers diagnosed with hypothyroidism during pregnancy (Korevaar et al., 2016; Lischinsky et al., 2016; Samadi et al., 2015; Stagnaro-Green, 2011; Willoughby et al., 2014a,b). Moreover, children whose mothers suffered from low TH levels in the first trimester have smaller hippocampus that can be associated with a memory deficit (Willoughby et al., 2014a), showing that the first trimester in human is a critical period for TH signalling that controls many neurogenesis-promoting events. This early fetal period, and up to the end of the second trimester, is a period of active neuronal proliferation and migration. In the ventricular zone, radial glia cells (embryonic neural stem cells) give rise to neuronal precursors that use radial glial fibres to migrate into the six-layered developing cortex and then generating cortical neurons (Moog et al., 2017).

2.2. Animals models

As previously mentioned, the TH signalling pathway is an ancient and strongly evolutionary conserved pathway that regulates many aspects of developmental events even in basal chordates (cephalochordates and urochordates) (Klootwijk et al., 2011; Paris et al., 2010; Paris and Laudet, 2008; Patricolo et al., 2001) and non-chordates (echinoderms, mollusks ...) (Heyland et al., 2006; Huang et al., 2015). However, while there is some evidence for developmental and physiological roles for TH in these basal organisms, the source of THs and the mechanisms of action, especially during neural development, are unclear. Thus, analyzing TH action during neurodevelopmental processes in basal species could be a very promising area of research for future studies that should improve our knowledge on evolutionary mechanisms underlying TH actions.

In contrast, experimental mammalian and non-mammalian vertebrate models have largely been used to study cellular and molecular mechanisms underlying TH control of neurogenesis (Bernal, 2007). Recently developed animal models permit to investigate more closely the consequences on neurological processes of TH signalling modulations with genetic mutations of TH components (receptor, transporter, deiodinase). Moreover, hypothyroidism can be induced by surgical thyroidectomy, iodine deficient diets or anti-thyroid agents such as propylthiouracil (PTU) or

methimazole (MMI). Non-mammalian models such as amphibians, teleosts are also very useful for study how TH influence brain development because embryos are readily accessible (extra uterine development) and controlling TH availability during development is easier.

2.2.1. Mammalian models

2.2.1.1. Regulation of cellular processes. The early contribution of maternal THs to fetal cortical neurogenesis has best been elucidated in rodents and allows extrapolation to studies in human offspring whose mothers were iodine deficient during pregnancy. Experimentally induced maternal hypothyroxinemia in gestating rats (between embryonic days E12 and E15), before the onset of the fetal thyroid gland (E18), causes an abnormal neuronal migration in the cortex and hippocampus of young postnatal rats analyzed at post-natal day 40 (Ausó et al., 2004). Mohan et al. (2012) showed that decreased maternal THs irreversibly reduced proliferation and commitment of neuronal progenitors located within the ventricular zone. Prior to birth, maternal THs cross the placenta and the fetal blood brain barrier reaching the fetal brain *via* the cerebral spinal fluid produced by the choroid plexus of the ventricles (Dratman et al., 1991). Thus, maternal THs can reach the ventricular zone and regulate fetal neurogenesis. The overall reduction of neurogenesis in the fetal neocortex is partially rescued following TH treatment in hypothyroid dams (Mohan et al., 2012).

The dependence of the perinatal period on THs has been extensively reviewed by Bernal (Bernal et al., 2003). During this period, THs promote neurogenesis, neuronal proliferation, migration of post-mitotic neurons from the ventricular zone towards the pial surface in the developing cerebral cortex, the hippocampus and the ganglionic eminence. After birth, THs entirely derived from the newborn's thyroid gland control glial cell proliferation and migration, differentiation and their maturation into myelinating oligodendrocytes within the cortex, the hippocampus and the cerebellum. Axonal outgrowth, dendritic branching and synaptogenesis also occur. Inducing hypothyroidism during the perinatal period impairs neuronal cell proliferation, migration and differentiation. Notably, dendritic arborization of cerebellar Purkinje cells is reduced (hypoplasia of the dendritic tree, reduction in spine number) in the cerebellum demonstrating the action of T₃ on Purkinje cell differentiation and maturation. Myelination in hypothyroidism is also delayed due to oligodendrocyte differentiation and maturation defaults. Several TH-target genes involved in both neurogenesis and gliogenesis are crucial for neo-natal brain development (Bernal et al., 2003).

2.2.1.2. Molecular mechanisms of TH actions in neurogenesis.

In mammals, both T₃ and T₄ are detected in fetal fluids and brain prior to onset of fetal thyroid function, suggesting a role for maternal THs (Grijota-Martínez et al., 2011). Accordingly, early studies on maternal T₃-dependent gene expression show the importance of TH action in the brain before the onset of fetal thyroid function (Dowling et al., 2000). In the brain, the local T₃ production is tightly regulated by deiodinases, transporters and TRs. High DIO2 expression is mostly detected in glial cells of the rat brain (Riskind et al., 1987). Surprisingly, *Dio2* knockout mice present a mild neurological phenotype (Galton et al., 2007), suggesting that compensatory mechanisms limit consequences of *Dio2* absence. TR α 1 is the earliest and the most widely distributed isoform to be expressed before the onset of fetal thyroid function (Forrest et al., 1991), strongly suggesting that TR α controls most of T₃ effects in the fetal brain. A weak expression of TR β just prior to the onset of fetal gland is detected in specific brain areas of rat (hippocampus) and mouse (developing pituitary, vestibule-cochlear). The current model is that intracellular T₃ levels

detected in the fetal murine brain are produced by local DIO2 activity in astrocytes that converts maternal T₄ to intracellular T₃ that is taken up by neural target cells (Gereben et al., 2008; Morte and Bernal, 2014). Additionally, MCT8 promotes the direct transfer of T₃ (and T₄) through the blood-brain-barrier of the choroid plexus. Later during brain development, after the secretion of fetal THs from the fetal thyroid gland, maternal T₄ protects fetal brain from a potential T₃ deficiency. Only supplying T₄ (and not T₃) to pregnant rats increases T₃ levels in the brain of hypothyroid fetus (Calvo et al., 1990).

2.2.2. Non-mammalian models

2.2.2.1. Regulation of cellular processes.

In non-mammalian vertebrate models, a lack of maternal THs recapitulates features observed in mammals. In chick, exogenous T₃ interferes with neural tube morphogenesis (Flamant and Samarut, 1998). In zebrafish, an early lack of maternal THs supply decreases neuronal proliferation and differentiation in the developing brain (Campinho et al., 2014). During early *Xenopus* embryogenesis, a reduction of TH signalling by the TH antagonist NH3 decreases proliferating cells and induces delayed neural differentiation in the neurogenic zones (Fini et al., 2012). Similarly, the same treatment strongly affects embryonic neural crest cells migration (Bronchain et al., 2017). In post-embryonic development, T₃ is also required for brain remodeling that occurs during tadpole metamorphosis (Denver, 1998). More precisely, T₃ through its receptor TR α , promotes cell proliferation in the ventricular/sub-ventricular zone of the brain (Denver et al., 2009).

2.2.2.2. Molecular mechanisms of TH actions in neurogenesis.

As in mammalian species, T₃ and T₄ are also detected during early brain development in non-mammalian species. Both the human fetus and the chicken have a well thyroid function at birth/hatching. In some species born or hatch with well matured sensory and motor nervous systems (e.g. certain mammals like sheep, deer and certain nidifuge birds as exemplified by the chicken), a peak of THs precedes birth/hatching (Buchholz, 2015; Darras et al., 1992; Thommes and Hylka, 1977). By this way, chicken is a better model than common rodent mammalian models to understand these transitions (Darras et al., 1999). However, returning to early roles of TH in developing brain, THs are detected in chick embryo brain on day 6 of development. Flamant and Samarut (1998) demonstrated that at the blastula and neurulation stages, T₃ is enriched in Hensen's node, the embryo organizer. TR α mRNA is detected at the blastula stage and expression levels increase during neurulation in neural plate cells close to the site of T₃ release, Hensen's node (Flamant and Samarut, 1998). Later on embryonic day 5, TR α mRNA is expressed in fore-, mid- and hindbrain (Forrest et al., 1991). Just before hatching, higher levels of TR β in cerebellum may regulate neuronal differentiation and maturation (Forrest et al., 1991). At this stage, downregulation of *Dio1* in the internal granular cells of the cerebellum, secondary to hypothyroidism induction, alters TH-dependent gene expression (*reelin*, *tenascin-C*, *disabled protein 1* ...) delaying neuronal proliferation and migration in the cerebellum (Verhoelst et al., 2004, 2005). Thus, as in mammalian species, local TH availability is tightly regulated via the ontogenic changes in deiodinases expression allowing proper brain lamination (Gereben et al., 2004; Verhoelst et al., 2005).

Fish and amphibian eggs contain relevant concentrations of maternal THs that decrease as a function of egg development (Chang et al., 2012; Morvan Dubois et al., 2006). The knockdown of *Mct8* (a selective TH transporter, see above paragraph 2.2.1.2, responsible for Allen Herndon Dudley syndrome (a form of X-linked mental retardation) in humans (Friesema et al., 2004), shows that maternal THs availability participates in regionalization,

survival and differentiation of specific neural cell lineages in zebrafish embryos (Campinho et al., 2014). This phenotype has been recapitulated in other vertebrate species (Braun et al., 2011; Trajkovic et al., 2007; van der Deure et al., 2010). TRs have also been identified in developing teleost embryos (Campinho et al., 2010; Essner et al., 1997). Functional studies during zebrafish development suggest that TRs have a ligand-independent function thus acting as a transcriptional repressor, notably by repressing retinoic-acid signalling (Essner et al., 1997). In *Xenopus*, TR α and TR β mRNA are detected in the oocyte and in embryos (Fini et al., 2012; Havis et al., 2006; Oofusa et al., 2001). Moreover, detectable levels of mRNA encoding *Dio1*, *Dio2* and *Dio3* are found in embryos at neurula stage. This early expression of deiodinases in eggs and embryos may indicate a maternal origin of these mRNA (Morvan Dubois et al., 2008). Furthermore, from late neurula to embryo/larva transition, the three deiodinases mRNA are strongly expressed in the head region together with a high DIO2 activity (Morvan Dubois et al., 2006), suggesting a tight control of TH availability in the brain during early *Xenopus* development.

To conclude this section, maternal THs are concentrated in eggs of vertebrates with metamorphic stages as well as in fetal fluids of mammalian vertebrates via the placenta. They regulate early brain development.

3. Roles of thyroid hormone signalling during adult neurogenesis

Research in the last twenty years has firmly established that new neurons are generated throughout life in the brain of many animal phyla. However, the capacity for generating new neurons decreases significantly during the course of evolution (Lindsey and Tropepe, 2006) and during aging (see below, section 5). In post-natal brain, especially in mammals and birds, neurogenesis persists in specific active proliferative brain areas, called neurogenic niches where neural stem cells (NSC) are located. These NSC are able to generate both neurons and glia, including astrocytes and oligodendrocytes. Adult neurogenesis is a highly dynamic process and is regulated by several physiological signals. In mammals, TH signalling is one of the main regulators controlling neurogenesis not only in the developing brain (see section 2) but also in the adult brain (Ambrogini et al., 2005; Desouza et al., 2005, 2011; Kapoor et al., 2010, 2011, 2012, 2015; Lemkine et al., 2005; López-Juárez et al., 2012; Montero-Pedrazuela et al., 2006; Remaud et al., 2014; Zhang et al., 2009).

Adult neurogenesis contributes to different brain functions such as memory and learning (Bruel-Jungerman et al., 2007; Gonçalves et al., 2016), olfaction (Arenkiel, 2010), as well as social and reproductive behaviour (Migaud et al., 2016) and other cognitive processes (Swan et al., 2014; Zhuo et al., 2016). In humans, alterations in adult neurogenesis have been linked to cognitive deficits, neurodegenerative diseases and neuropsychiatric disorders (Apple et al., 2017; Kaneko and Sawamoto, 2009). Furthermore, many mental disorders such as mood instability, depression or dementia are associated with thyroid dysfunction (Baldini et al., 1997; Dugbartey, 1998; Gyulai et al., 2003; Smith et al., 2002; Whybrow et al., 1969), either occurring in the adult or in predisposed children born to hypothyroid mothers. Most recently maternal hypothyroidism was shown to be associated with increased risk of schizophrenia (Gyllenberg et al., 2016). However, whether schizophrenia is a result of TH-disruption of neurogenesis is not known and this constitutes a research area with strong potential.

This section is focused on the well-known roles of THs on NSC (cell fate decision neuron/glie, cell proliferation, migration and differentiation) located in the neurogenic niches of the vertebrate mammalian and non-mammalian adult brain. The current

discussion will not include studies on the adult neurogenesis occurring in some basal non-vertebrate species. For example, in several cnidarian model systems (Hydra, Clytia, Podocoryne, Nematostella, Aurelia) many signalling pathways regulating neurogenesis have been identified (for review, see (Galliot et al., 2009)). Crosstalks between some of them (FGF, Wnt, Notch, SHH) have been described as relevant to vertebrate adult neurogenesis (Adachi et al., 2007; Aguirre et al., 2010; Alvarez-Medina et al., 2009). However, in such animal models, TH function during neurogenesis is not yet known.

3.1. Mammalian models

3.1.1. Neurogenesis in the adult SVZ and SGZ niches

Adult neurogenesis in mammals is restricted to two main brain regions: the subventricular zone (SVZ) lining the lateral ventricle and the subgranular zone (SGZ) of the dentate gyrus within the hippocampus. In both neurogenic niches, adult NSCs divide asymmetrically to generate a pool of highly proliferative progenitors. Under physiological conditions, these progenitors mainly generate neuroblasts. To a lesser extent, in rodents, progenitors give rise to oligodendrocyte progenitor cells that migrate towards the corpus callosum, adjacent to the lateral ventricle, where they differentiate into myelinating oligodendrocytes (Menn et al., 2006). Gliogenesis also occurs in human brains but the cellular and molecular mechanisms remain elusive (Nait-Oumesmar et al., 2008; Rusznák et al., 2016).

In rodents and non-human primates, neuroblasts migrate from the SVZ to the olfactory bulb where they differentiate and integrate into pre-existing neuronal networks. In the adult human, functional neurogenesis is still questioned in the SVZ. The SVZ niche cytoarchitecture and the pattern of neuroblast migration differ in humans and rodents. Neuroblast migration toward the olfactory bulb occurs only in infants up to 18 months (Sanai et al., 2011) and is absent in the adult human brain (Bergmann et al., 2012; Sanai et al., 2004). A recent study shows that human neuroblasts migrate toward the striatum, adjacent to the lateral ventricle (Ernst et al., 2014), suggesting divergent mechanisms underlying adult neurogenesis between rodents and humans. In contrast, hippocampal neurogenesis is more conserved among mammals. Newly-generated neurons migrate from the SGZ to the granular cell layer of the hippocampus. In adult humans, a large population of hippocampal neurons is able to renew with a rate comparable with mice (Spalding et al., 2013). Moreover, negative effects of aging on neuronal cell turnover are less marked in humans than mice (Spalding et al., 2013), suggesting that human adult neurogenesis contributes to brain function throughout life. However, cognitive pathologies characteristics of aging have been linked to reduced neurogenic capacities at least in the hippocampus of adult rats (Gould et al., 1999a; see section 4).

Besides these two main sites, a third neurogenic niche, lining the third ventricle, was recently identified within the adult rat hypothalamus (Rojczyk-Gońbiewska et al., 2014). Newly generated hypothalamic neurons have previously been observed in several mammalian species, including rodents (Kokoeva et al., 2005, 2007; Pencea et al., 2001; Xu et al., 2005), sheep (Batailler et al., 2014; Migaud et al., 2010, 2011), hamster (Mohr and Sisk, 2013). In humans, new neurons were found in the median eminence, the arcuate and the ventromedial nucleus (Batailler et al., 2014). Hypothalamic neurogenesis may be involved in regulating energy metabolism by modulation of food intake, body weight and behaviour.

3.1.2. TH regulation of adult SVZ and SGZ neurogenesis

Many intrinsic and extrinsic factors regulate adult neurogenesis

at multiple levels (proliferation, survival, cell fate commitment, migration, differentiation and maturation). Among them, the TH signalling pathway is a crucial endocrine signal that controls adult neurogenesis at the molecular, metabolic, cellular and behavioral levels.

3.1.2.1. Regulation of cellular processes. In the adult murine SVZ, hypothyroidism reduces NSC and progenitor proliferation by blocking cell cycle re-entry (Lemkine et al., 2005). A T₃-pulse rescues the phenotype, showing that T₃ is necessary and sufficient to restore cell proliferation within the adult SVZ (Lemkine et al., 2005). Moreover, migrating neuroblasts also decrease during hypothyroidism, showing that neurogenesis is globally impaired (Lemkine et al., 2005; López-Juárez et al., 2012). This reduced neurogenesis may affect olfactory function, thus modifying some forms of olfactory behaviour (Kageyama et al., 2012). Indeed, Paternostro and Meisami (1991) have shown that hypothyroidism is associated with a decrease in mature olfactory receptor neurons. Moreover, hypothyroidism produces a loss of sense of smell (anosmia) in adult mice (Beard and Mackay-Sim, 1987) and has been documented in adult humans. However, the link between SVZ neurogenesis and olfactory function underlying hypothyroidism is not known. Similarly, preparation for migration in salmon (smolting) requires integration of olfactory signals and smolting is a TH-dependent process.

Whether hypothyroidism affects progenitor proliferation within the adult rat SGZ is debated. Some studies show that hypothyroidism reduces progenitor survival and neuronal differentiation (Ambrogini et al., 2005; Desouza et al., 2005) whereas other studies show that hypothyroidism in adult rats decreases cell proliferation without affecting survival (Montero-Pedrazuela et al., 2006). Different approaches to induce adult hypothyroidism or to label tissues with BrdU may explain these discrepant results. However, adult onset-hypothyroidism is also associated with a reduction of the number of newborn neuroblasts (Montero-Pedrazuela et al., 2006). Moreover, cognitive functions are affected: depressive behaviour being associated with adult-onset hypothyroidism in rats (Montero-Pedrazuela et al., 2006) as it is in humans (Smith et al., 2002).

3.1.2.2. Molecular mechanisms of TH actions in neurogenesis. Several TR isoforms (TR α 1, TR β 1 and TR β 2) are expressed in the adult SGZ (Kapoor et al., 2012, 2015, 2011) whereas only TR α 1 is detected in the adult mouse SVZ (Kapoor et al., 2015; Lemkine et al., 2005; López-Juárez et al., 2012; Remaud et al., 2014). TR α 1 is not detected by immunocytochemistry in NSCs co-expressing GFAP and SOX2, but appears in DLX2+ progenitors and is strongly expressed in DCX + neuroblasts (López-Juárez et al., 2012). These observations led us to suggest that TR α 1 plays a role in NSC determination toward a neuronal fate. Accordingly, a TR α 1 overexpression in NSC/progenitor cells using *in vivo* gene transfer drove cell fate commitment towards a neuronal fate. Moreover, the number of neural stem/progenitor cells, that are blocked during cell cycle progression, increased in *Trα0/0* loss-of-function mutant mice (Lemkine et al., 2005). Similarly, shRNA directed against *Trα1* mRNA increased expression of NSC/progenitor markers such as *Sox2*, suggesting that the pool of neural stem/progenitor cells was enhanced. Thus, a lack of T₃ or TR α 1 gave the same phenotype: increased numbers of NSCs and progenitors blocked in interphase, thus decreasing the generation of migrating neuroblasts. Very few TH target genes have been identified as underlying TH control of adult SVZ neurogenesis. As mentioned, a key demonstration was that of López-Juárez et al. (2012), showing that T₃ – through TR α 1 – acts as a neurogenic switch in progenitors, repressing a gate-keeper of NSC identity (*Sox2*), thereby driving cell fate specification toward

a neuronal fate. Moreover, T_3 also downregulates at least two cell-cycle genes, *CyclinD1* and *c-Myc* (Hassani et al., 2007; Lemkin et al., 2005). Both *Sox2* and cell cycle gene repression could bolster NSC/progenitor commitment toward a neuroblast fate by limiting stem cell renewal and promoting cell cycle arrest.

In the adult hippocampal SGZ, $TR\alpha 1$ is mainly expressed in immature neurones and not in uncommitted proliferating progenitors (Kapoor et al., 2012, 2015, 2010), suggesting that $TR\alpha 1$ acts at later steps than in the SVZ during the neural lineage specification. Accordingly, both unliganded $TR\alpha 1$ aporeceptor overexpression ($TR\alpha 2$ -/- mutant) and a lack of $TR\alpha 1$ ($TR\alpha 1$ -/- mutant) do not affect progenitor proliferation (Kapoor et al., 2010) but alter post-mitotic survival and thus neurogenesis. Kapoor et al. (2010) (Kapoor et al., 2010) show that neurogenesis is decreased in $TR\alpha 2$ -/- mice and increased in $TR\alpha 1$ -/- mutant mice, due to an increase in post-mitotic progenitor survival in the latter case. Thus, the decrease of both cell survival and neuronal differentiation following ectopic $TR\alpha 1$ aporeceptor expression mimics adult-onset hypothyroidism (Ambrogini et al., 2005; Desouza et al., 2005; Montero-Pedrazuela et al., 2006). Notably, the decline in neurogenesis is rescued following exogenous T_3 administration (Kapoor et al., 2010, 2015). As in the SVZ, T_3 may act as a neurogenic switch by binding to $TR\alpha 1$ thus allowing proliferating progenitor commitment toward differentiated neuronal cells.

3.1.3. Metabolic regulations

TH effects on neurogenesis and cell fate choice could be enacted through their impact on mitochondrial respiration. It is indeed well established that THs are crucial regulators of mitochondrial metabolism (Weitzel and Iwen, 2011). Furthermore, stem cells display metabolic features of glycosylation, in contrast with differentiated cells, that mainly rely on oxidative phosphorylation (OXPHOS) (Vander Heiden et al., 2009; Zheng et al., 2016). Adult NSC differentiation thus require a metabolic switch from glycolysis to OXPHOS (Li et al., 2014; Pistollato et al., 2007), putting cell metabolic changes at the center of regulation of neurogenesis. Furthermore, O_2 availability can modulate NSC decisions in different directions, whether neuronal, astrocytic or towards an oligodendrocyte destiny (De Filippis and Delia, 2011; Rafalski and Brunet, 2011; Rone et al., 2016). This finding highlights the importance of normoxic versus hypoxic culture conditions when carrying out *in vitro* studies on neurogenesis. These elements are consistent with the idea that an impairment of mitochondrial metabolism can impact neurogenesis, and with the observation that mitochondrial dysfunctions are associated with numerous neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease (Hauptmann et al., 2009; Kapogiannis and Mattson, 2011) and Parkinson's disease (Hu and Wang, 2016).

3.2. Non-mammalian models

While many studies have examined TH signalling during adult mammalian neurogenesis, studies on the roles of TH in non-mammalian species are scarce. Contrary to mammals, multiple neurogenic niches have been identified in non-mammalian models such as teleosts (principally zebrafish and medaka), amphibians, and reptiles (lizards). Proliferation, survival and differentiation of newly generated neurons are regulated by a wide range of hormonal signals (sex steroids, prolactin, thyroid hormones ...) and environmental factors (seasons, sensorial stimulation).

In lampreys, the most basal group of vertebrates, neurogenesis is implicated in functional spinal cord regeneration (Zhang et al., 2015). Interestingly, the authors showed that cell proliferation depends on seasonal fluctuations following spinal cord injury. The well-known seasonal variations in TH levels (Yoshimura et al.,

2003) may affect this season-dependent proliferation. However, whether THs regulate cell proliferation during axonal regeneration is unknown. The links between CNS regeneration and TH are well documented in basal vertebrates, such as fish and amphibians. In these species, the adult central nervous system is also capable of successful regeneration, though for amphibians, regeneration is less vigorous after metamorphosis (Endo et al., 2007). Recently, THs were shown to accelerate optic tectum reinnervation in the adult zebrafish. However, this positive effect on regeneration occurs without affecting retinal ganglion cell survival and proliferation (Bhumika et al., 2015), but probably through an altered inflammatory response. These authors did not detect TR expression in the optic tectum of zebrafish but $TR\alpha 1$ and $TR\beta$ expression were reported in the adult *Xenopus* optic tectum (Denver et al., 2009).

In *Xenopus*, regeneration of the CNS (spinal cord and forebrain) occurs in tadpoles but not in post-metamorphic adult frogs (Endo et al., 2007). Ependymal cells proliferate but they are not able to migrate toward the brain lesion. However, TH treatment in the adult *Xenopus* modifies the neuronal connectivity pattern in the optic tectum (Hofmann et al., 1989), demonstrating that THs may affect adult brain function. Moreover, in the neurogenic niche of juvenile *Xenopus* brain, T_3 stimulates proliferation of progenitor cells that do not express DIO3, permitting a T_3 -response (Préau et al., 2016). Similarly, in birds, the capacity to regenerate following spinal cord injury is lost during development, suggesting that neurogenic response to a CNS injury is also limited in the adult bird brain. Accordingly, active avian neurogenesis is limited to the periventricular zone (Kaslin et al., 2008). A more direct action of TH was described in adult birds where neurogenesis is linked to vocal learning (Alvarez-Buylla, 1990). In the adult zebra finch brain, THs modulate survival of $TR\alpha$ -expressing neurons in the High Vocal Center (Tekumalla et al., 2002). As in mammals, hippocampal neurogenesis in birds is also involved in memory and learning functions, especially spatial learning during food-storing behaviour. Seasonal variations are involved in the recruitment of new neurons in the avian hippocampal complex (Barnea and Nottebohm, 1994). As described above, the seasonal variations in TH levels (Yoshimura et al., 2003) may be implicated in avian hippocampal neurogenesis. From a comparative point of view, this question is particularly pertinent in the context of TH-dependent regulation of adult neurogenesis in the mammalian hippocampus.

4. Roles of TH in the ageing brain

Neurogenesis decreases with age (Enwere et al., 2004; Gould et al., 1999b; Kuhn et al., 1996), and cognitive deficiency is frequent in the elderly humans and also observed in ageing rodents (Bach et al., 1999; Cao et al., 2013). Neurogenesis in the dentate gyrus of the hippocampus, where learning and memory processes occur, is particularly impacted by ageing and is implicated in many neurodegenerative pathologies (Gould et al., 1999a; van Praag et al., 2002; Zhao et al., 2008).

Besides a reduction in the number of NSC observed in the aged brain, the phenomenon of decreased neurogenesis could also involve a decrease in TH availability. Decreased levels of circulating TH occur with ageing in humans (Chakraborti et al., 1999) and rodents (Cao et al., 2012), and have also been observed in non-mammals, including birds (Carr and Chiasson, 1983). Many studies have shown declines in the hippocampal process of spatial memory assimilation in aged humans, rodents, or monkeys (Foster et al., 2012; Jiang et al., 2016). This process is well established as being particularly sensitive to decreases in TH availability (Correia et al., 2009; Ge et al., 2015). Mooradian et al. even extrapolated a global reduction of cerebral responsiveness to TH from decreased expression of THRP (TH responsive protein) in the brain of old rats

(Mooradian et al., 1998). In this context, it is important to recall the role of TH signalling in cellular metabolism, mitochondrial function (Weitzel and Iwen, 2011) and mitochondrial biogenesis (Wulf et al., 2008; Wu et al., 1999). This latter process decreases with age (Derbré et al., 2012), potentially impacting differentiation of NSC, that require a major increase in oxidative phosphorylation (Vander Heiden et al., 2009; Zheng et al., 2016).

Visser and colleagues provided a detailed analysis of the evolution of circulating and local TH in wild-type and mutant mice with an accelerated aging phenotype (Visser et al., 2016). No decrease in the T₃ and T₄ serum levels of 18 weeks-old wild-type and mutant mice was observed but significant changes in TH signalling was noted in different organs. They suggested that these were due to reduced TH availability due to alterations in TH binding to carrier proteins, potential TH sequestration in different cell compartments, downregulation of TRs and modulation of deiodinase expression. In the brain, T₄ concentrations decreased but not those of T₃. Levels of the inactivating *Dio3* also decreased, thus protecting the brain from low TH availability. One can speculate that this protection might not be sufficient for mice aged of more than 18 weeks, especially as TH secretion rates are altered, at least in their secretion rhythmicity, due to age-associated deterioration of hormonal secretion patterns (Hertoghe, 2005; Ross et al., 2011; Weinert, 2000). Cao et al. (2012) also reported no significant changes in circulating total T₄ in mice at 22 months compared to 6 months of age but did observe decreases in free T₃ (Cao et al., 2012). In addition, circadian rhythms are increasingly disrupted in humans during ageing (Campos Costa et al., 2013; Froy, 2011), notably affecting TSH secretion levels (Bitman et al., 1994; Gancedo et al., 1997; Morris et al., 2012). Furthermore, the binding capacity of TRs also decreases in the cortex and cerebellum of 24 month-old rats (De Nayer et al., 1991).

Overall, the global alteration of TH signalling in the ageing brain seems only partly due to a global decrease in serum T₄ and T₃ levels, possibly due to brain-specific protection mechanisms (such as decreased inactivating mechanisms) implemented in early stages of ageing.

Another process implicating neurogenesis that could be impaired in ageing is repair following a lesion (e.g. stroke). However, this new generation of neurons alone might not be sufficient to improve cognitive capacities in older individuals, at least not in the hippocampus (Yeung et al., 2014). Modifying the complex processes at play in maintaining memory and cognition during ageing requires adaptation of the brain neurogenic niches, but these adaptations are related to the physiological condition of the whole animal or patient. TH signalling affects multiple physiological systems during ageing (Bowers et al., 2013). Although some TH treatments can improve cognitive performances in hypothyroid humans (Kramer et al., 2009) and mice (Fu et al., 2010, 2014), the generalisation of TH treatment for subclinical hypothyroidism in the elderly is a topic of active debate (Bensenor et al., 2012).

Returning to the rodent models, Fu et al. showed that the administration of L-T₄ to aged mice can significantly improve their learning and memory capacities, through increases of both serum and brain concentrations of free T₃ and T₄ (Fu et al., 2014). In rats and humans, similar treatments also can counteract depression (Bauer et al., 2005; Ge et al., 2016; Uhl et al., 2014), known to be linked with an impaired neurogenesis (Jacobs, 2002; Schoenfeld and Cameron, 2015). Treatment with resveratrol has also been shown to improve memory and depressive-like behaviour in hypothyroid rats, and this through normalizing hypothalamus-pituitary-thyroid (HPT) axis activity (Ge et al., 2015, 2016). An interesting, testable, hypothesis is that this improvement in HPT axis function involves resveratrol activation of SIRT1 (Borra et al., 2005), with SIRT1 regulating TSH release (Akieda-Asai et al.,

2010) as well as acting as a TR β cofactor (Suh et al., 2013).

5. Evolutionary implications of endocrine-disrupting chemicals exposure for brain function

Endocrine disruption is becoming a major health concern, particularly regarding embryonic development. Pesticides, like Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), plasticizers such as bisphenol-A (BPA), bisphenol-S (BPS) or phthalates, industrial lubricants including the polychlorinated biphenyls (PCBs), various flame retardants, or pharmaceuticals such as ethinylestradiol (EE2) found in contraceptive pills, are examples of molecules known to act as Endocrine disruptors (EDCs) (Heudorf et al., 2007; Leonetti et al., 2016; Rasier et al., 2007; Rochester and Bolden, 2015; Rosenfeld and Trainor, 2014). Many EDCs can interfere with TH signalling, mainly indirectly through interfering with TH synthesis, TSH, deiodinases, TH transporters or iodine uptake (Leonetti et al., 2016; Patrick, 2009; Porterfield, 2000; Dong et al., 2017). Because of human activities and failure to regulate, EDCs exposure has become global, notably in aquatic habitats, as shown for BPA in 2015 (Bhandari et al., 2015). In humans, dozens of different artificial molecules - potential EDCs - are found today in the blood of most persons tested (Woodruff, 2011), in the amniotic fluid of pregnant women (Cariou et al., 2015) and in breast milk (Gascon et al., 2012). Among the deleterious effects of EDCs early exposure, growing concern exists about the long term impact it has on brain. Impaired memory, cognitive functions and spatial navigational learning, increased anxiety and hyperactivity are some of the direct consequences of developmental to just BPA or EE2 exposure, as shown in various studies on diverse rodent species (Jašarević et al., 2011; Johnson et al., 2015, 2016; Liu et al., 2016; Rosenfeld and Trainor, 2014; Williams et al., 2013), zebrafish (Kinch et al., 2015) or painted turtles (Manshacker et al., 2016). Flame retardant exposure during fetal development leads to important disturbances in TH and TSH concentration, leading to reduced proliferation in neurogenic niches in xenopus (Fini et al., 2012), and mental and psychomotor retardations in humans and rodents (Czerska et al., 2013). PCBs and BPA exposure can decrease levels of circulating THs, and inhibit TH-dependent development of neuronal dendrites, notably in Purkinje cells (Kimura-Kuroda et al., 2007). A dose-dependent decrease in IQ with prenatal PCB exposure and TH levels reduction has been shown (Wise et al., 2012). Therefore, EDC-induced TH disruption can have a major impact on brain development and maturation in animals as well as in humans. Generalized alterations of TH signalling during fetal development can lead to modifications of genetic expression patterns, and could in turn impact evolution as the developmental period is a key determinant of evolutionary processes (Gould, 1977).

Adult neurogenesis can also be impacted by EDCs. Several studies show that early exposure to EDCs can impair adult neurogenesis, whether through TH signalling or other endocrine pathways. One example comes from the work of Martini et al. who linked perinatal exposure to EE2 with organizational modifications in adult hippocampal neurogenesis (Martini et al., 2014). Perinatal exposure to BPA can cause mitochondrial malfunction that impacts health later in life, as exemplified by work done on rat or sheep (Jiang et al., 2014; Veiga-Lopez et al., 2016). Given that BPA is a known thyroid disruptor (Fini et al., 2007; Somogyi et al., 2016), it would be interesting to investigate if this impact of BPA on mitochondria is generated through disruption of TH signalling. This could be something to consider in the context of impaired neurogenesis caused by BPA exposure, during both perinatal periods and adulthood (Tiwari et al., 2015a, 2015b). Exposure to BPA during puberty can also impair spatial cognitive abilities in adult mice (Jiang et al., 2016). Besides, EE2 exposure during adulthood has

been shown to disrupt cell proliferation in neurogenic niches of mice (Brock et al., 2010; Ormerod et al., 2003) and zebrafish (Dietel et al., 2013). Since cross-talks exist between estrogens and TH pathways at multiple levels, especially through co-regulations of TR and estrogen receptor expression, the implication of TH signalling in EE2-mediated disruption is highly probable (Scalise et al., 2012; Zane et al., 2014). Thus, it appears that EDCs can impact neurogenesis at all stages of life, and even in the ageing brain (Weiss, 2007). More research is necessary to better characterize the impact that BPA and other EDCs have on developmental and adult neurogenesis.

6. Conclusions

As summarized in the figure, TH signalling has acquired critical roles in vertebrate brain morphology, growth, maturation and function from early fetal life to adult. Recent data highlight the vital role of maternal THs on early neurogenic events. Thus, any mild alteration in maternal TH levels, whether due to iodine deficiency, hypothyroidism or chemical exposure, may interfere with brain development. Any such modification can have long-term implications for brain function and social behaviour, potentially heritable to future generations. A better understanding of the interactions between TH and EDCs at the cellular, molecular and epigenetic levels are needed to limit the societal impact of EDCs. Furthermore, in most vertebrate species, TH is also essential to adult neurogenesis. However, experiments are required to determine how TH availability is controlled in both the SGZ and SVZ adult niches (expression of transporters, deiodinases). Molecular (new TH-target genes) and epigenetic mechanisms underlying TH signalling regulation of cell fate decision, proliferation and differentiation also need further investigation.

A current hypothesis is that the highly conserved TH function in the brain of many organisms influences the evolution of cognitive complexity. A better understanding of how TH modulates the different successive steps in brain organization across species will highlight mechanistic evolutionary processes underlying apparent differences. A second idea worthy of investigation is how these interspecies differences contribute to different aspects of animal behavioral (food seeking and storage behaviours, social behaviour and cognition).

Acknowledgements

This work was supported by the EU FP7 contract Thyrage (grant number 666869), the AFM; ANR grants Thrast and OLGA; CNRS.

References

Adachi, K., Mirzadeh, Z., Sakaguchi, M., Yamashita, T., Nikolcheva, T., Gotoh, Y., Peltz, G., Gong, L., Kawase, T., Alvarez-Buylla, A., et al., 2007. Beta-catenin signalling promotes proliferation of progenitor cells in the adult mouse subventricular zone. *Stem Cells* 25, 2827–2836.

Aguirre, A., Rubio, M.E., Gallo, V., 2010. Notch and EGFR pathway interaction regulates neural stem cell number and self-renewal. *Nature* 467, 323–327.

Akieda-Asai, S., Zaima, N., Ikegami, K., Kahyo, T., Yao, I., Hatanaka, T., Iemura, S., Sugiyama, R., Yokozeki, T., Eishi, Y., et al., 2010. SIRT1 regulates thyroid-stimulating hormone release by enhancing PIP5Kgamma activity through deacetylation of specific lysine residues in mammals. *PLoS One* 5, e11755.

Alshetri, B., D'Souza, D.G., Lee, J.Y., Petratos, S., Richardson, S.J., 2015. The diversity of mechanisms influenced by transthyretin in neurobiology: development, disease and endocrine disruption. *J. Neuroendocrinol.* 27, 303–323.

Alvarez-Buylla, A., 1990. Mechanism of neurogenesis in adult avian brain. *Experientia* 46, 948–955.

Alvarez-Medina, R., Le Dreau, G., Ros, M., Martí, E., 2009. Hedgehog activation is required upstream of Wnt signalling to control neural progenitor proliferation. *Development* 136, 3301–3309.

Ambrogini, P., Cuppini, R., Ferri, P., Mancini, C., Ciaroni, S., Voci, A., Gerdoni, E., Gallo, G., 2005. Thyroid hormones affect neurogenesis in the dentate gyrus of adult rat. *Neuroendocrinology* 81, 244–253.

Apple, D.M., Fonseca, R.S., Kokovay, E., 2017. The role of adult neurogenesis in psychiatric and cognitive disorders. *Brain Res.* 1655, 270–276.

Arenkiel, B.R., 2010. Adult neurogenesis supports short-term olfactory memory. *J. Neurophysiol.* 103, 2935–2937.

Ausó, E., Lavado-Autric, R., Cuevas, E., Del Rey, F.E., Morreale De Escobar, G., Berbel, P., 2004. A moderate and transient deficiency of maternal thyroid function at the beginning of fetal neurogenesis alters neuronal migration. *Endocrinology* 145, 4037–4047.

Bach, M.E., Barad, M., Son, H., Zhuo, M., Lu, Y.F., Shih, R., Mansuy, I., Hawkins, R.D., Kandel, E.R., 1999. Age-related defects in spatial memory are correlated with defects in the late phase of hippocampal long-term potentiation in vitro and are attenuated by drugs that enhance the cAMP signalling pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 5280–5285.

Baldini, I.M., Vita, A., Mauri, M.C., Amodei, V., Carrisi, M., Bravin, S., Cantalamessa, L., 1997. Psychopathological and cognitive features in subclinical hypothyroidism. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 21 (6), 925–935.

Bancalari, R.E., Gregory, L.C., McCabe, M.J., Dattani, M.T., 2012. Pituitary gland development: an update. *Endocr. Dev.* 23, 1–15.

Barnea, A., Nottebohm, F., 1994. Seasonal recruitment of hippocampal neurons in adult free-ranging black-capped chickadees. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91, 11217–11221.

Batailler, M., Drogue, M., Baroncini, M., Fontaine, C., Prevot, V., Migaud, M., 2014. DCX-expressing cells in the vicinity of the hypothalamic neurogenic niche: a comparative study between mouse, sheep, and human tissues. *J. Comp. Neurol.* 522, 1966–1985.

Bauer, M., London, E.D., Rasgon, N., Berman, S.M., Frye, M.A., Altschuler, L.L., Mandelkern, M.A., Bramen, J., Voytek, B., Woods, R., et al., 2005. Supra-physiological doses of levothyroxine alter regional cerebral metabolism and improve mood in bipolar depression. *Mol. Psychiatry* 10, 456–469.

Beard, M.D., Mackay-Sim, A., 1987. Loss of sense of smell in adult, hypothyroid mice. *Brain Res.* 433, 181–189.

Bensenor, I.M., Olmos, R.D., Lotufo, P.A., 2012. Hypothyroidism in the elderly: diagnosis and management. *Clin. Interv. Aging* 7, 97–111.

Berbel, P., Mestre, J.L., Santamaría, A., Palazón, I., Franco, A., Graells, M., González-Torga, A., de Escobar, G.M., 2009. Delayed neurobehavioral development in children born to pregnant women with mild hypothyroxinemia during the first month of gestation: the importance of early iodine supplementation. *Thyroid* 19, 511–519.

Berbel, P., Navarro, D., Román, G.C., 2014. An evo-devo approach to thyroid hormones in cerebral and cerebellar cortical development: etiological implications for autism. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 5, 146.

Bergmann, O., Liebl, J., Bernard, S., Alkass, K., Yeung, M.S., Steier, P., Kutschera, W., Johnson, L., Landén, M., Druid, H., et al., 2012. The age of olfactory bulb neurons in humans. *Neuron* 74, 634–639.

Bernal, J., 2007. Thyroid hormone receptors in brain development and function. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* 3, 249–259.

Bernal, J., Guadaño-Ferraz, A., Morte, B., 2003. Perspectives in the study of thyroid hormone action on brain development and function. *Thyroid* 13, 1005–1012.

Bernal, J., Pekonen, F., 1984. Ontogenesis of the nuclear 3,5,3'-triiodothyronine receptor in the human fetal brain. *Endocrinology* 114, 677–679.

Bhandari, R.K., Deem, S.L., Holliday, D.K., Jandegian, C.M., Kassotis, C.D., Nagel, S.C., Tillitt, D.E., Vom Saal, F.S., Rosenfeld, C.S., 2015. Effects of the environmental estrogenic contaminants bisphenol A and 17 α -ethinyl estradiol on sexual development and adult behaviors in aquatic wildlife species. *Gen. Comp. Endocrinol.* 214, 195–219.

Bhumika, S., Lemmens, K., Vancamp, P., Moons, L., Darras, V.M., 2015. Decreased thyroid hormone signalling accelerates the reinnervation of the optic tectum following optic nerve crush in adult zebrafish. *Mol. Cell Neurosci.* 68, 92–102.

Bitman, J., Kahl, S., Wood, D.L., Lefcourt, A.M., 1994. Circadian and ultradian rhythms of plasma thyroid hormone concentrations in lactating dairy cows. *Am. J. Physiol.* 266, R1797–R1803.

Boas, M., Feldt-Rasmussen, U., Main, K.M., 2012. Thyroid effects of endocrine disrupting chemicals. *Mol. Cell Endocrinol.* 355, 240–248.

Borra, M.T., Smith, B.C., Denu, J.M., 2005. Mechanism of human SIRT1 activation by resveratrol. *J. Biol. Chem.* 280, 17187–17195.

Bowers, J., Terrien, J., Clerget-Froidevaux, M.S., Gothié, J.D., Rozing, M.P., Westendorp, R.G., van Heemst, D., Demeneix, B.A., 2013. Thyroid hormone signalling and homeostasis during aging. *Endocr. Rev.* 34, 556–589.

Braun, D., Kinne, A., Bräuer, A.U., Sapin, R., Klein, M.O., Köhrle, J., Wirth, E.K., Schweizer, U., 2011. Developmental and cell type-specific expression of thyroid hormone transporters in the mouse brain and in primary brain cells. *Glia* 59, 463–471.

Brock, O., Keller, M., Veyrac, A., Douhard, Q., Bakker, J., 2010. Short term treatment with estradiol decreases the rate of newly generated cells in the subventricular zone and main olfactory bulb of adult female mice. *Neuroscience* 166, 368–376.

Bronchain, O.J., Chesneau, A., Monsoro-Burq, A.H., Jolivet, P., Paillard, E., Scanlan, T.S., Demeneix, B.A., Sachs, L.M., Pollet, N., 2017. Implication of thyroid hormone signalling in neural crest cells migration: evidence from thyroid hormone receptor beta knockdown and NH3 antagonist studies. *Mol. Cell Endocrinol.* 439, 233–246.

Bruel-Jungerman, E., Rampon, C., Laroche, S., 2007. Adult hippocampal neurogenesis, synaptic plasticity and memory: facts and hypotheses. *Rev. Neurosci.* 18, 93–114.

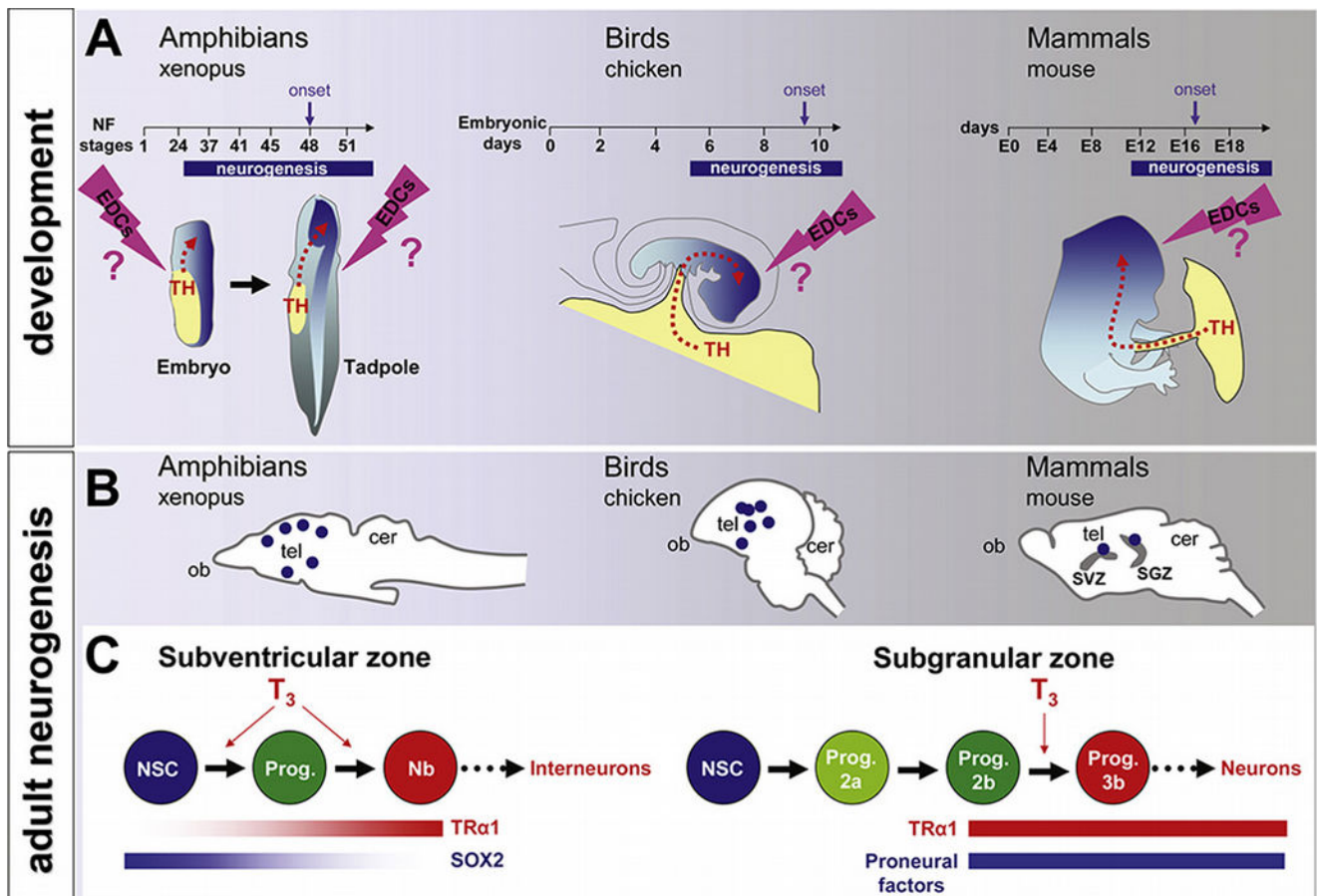
Buchholz, D.R., 2015. More similar than you think: frog metamorphosis as a model of human perinatal endocrinology. *Dev. Biol.* 408, 188–195.

- Burrow, G.N., Fisher, D.A., Larsen, P.R., 1994. Maternal and fetal thyroid function. *N. Engl. J. Med.* 331, 1072–1078.
- Calvo, R.M., Jauniaux, E., Gulbis, B., Asunción, M., Gervy, C., Contempré, B., Morreale de Escobar, G., 2002. Fetal tissues are exposed to biologically relevant free thyroxine concentrations during early phases of development. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 1768–1777.
- Calvo, R., Obregón, M.J., Ruiz de Oña, C., Escobar del Rey, F., Morreale de Escobar, G., 1990. Congenital hypothyroidism, as studied in rats. Crucial role of maternal thyroxine but not of 3,5,3'-triiodothyronine in the protection of the fetal brain. *J. Clin. Invest.* 86, 889–899.
- Campinho, M.A., Galay-Burgos, M., Sweeney, G.E., Power, D.M., 2010. Coordination of deiodinase and thyroid hormone receptor expression during the larval to juvenile transition in sea bream (*Sparus aurata*, Linnaeus). *Gen. Comp. Endocrinol.* 165, 181–194.
- Campinho, M.A., Saraiva, J., Florindo, C., Power, D.M., 2014. Maternal thyroid hormones are essential for neural development in zebrafish. *Mol. Endocrinol.* 28, 1136–1149.
- Campos Costa, I., Nogueira Carvalho, H., Fernandes, L., 2013. Aging, circadian rhythms and depressive disorders: a review. *Am. J. Neurodegener. Dis.* 2, 228–246.
- Cao, L., Jiang, W., Wang, F., Yang, Q.G., Wang, C., Chen, Y.P., Chen, G.H., 2013. The reduced serum free triiodothyronine and increased dorsal hippocampal SNAP-25 and Munc18-1 had existed in middle-aged CD-1 mice with mild spatial cognitive impairment. *Brain Res.* 1540, 9–20.
- Cao, L., Wang, F., Yang, Q.G., Jiang, W., Wang, C., Chen, Y.P., Chen, G.H., 2012. Reduced thyroid hormones with increased hippocampal SNAP-25 and Munc18-1 might involve cognitive impairment during aging. *Behav. Brain Res.* 229, 131–137.
- Cao, X.Y., Jiang, X.M., Dou, Z.H., Rakeman, M.A., Zhang, M.L., O'Donnell, K., Ma, T., Amette, K., DeLong, N., DeLong, G.R., 1994. Timing of vulnerability of the brain to iodine deficiency in endemic cretinism. *N. Engl. J. Med.* 331, 1739–1744.
- Cariou, R., Veyrand, B., Yamada, A., Berrebi, A., Zalko, D., Durand, S., Pollono, C., Marchand, P., Leblanc, J.C., Antignac, J.P., et al., 2015. Perfluoroalkyl acid (PFAA) levels and profiles in breast milk, maternal and cord serum of French women and their newborns. *Environ. Int.* 84, 71–81.
- Carr, B.L., Chiasson, R.B., 1983. Age-related changes in pituitary/thyroid function in chickens. *Gen. Comp. Endocrinol.* 50, 18–23.
- Chakraborti, S., Chakraborti, T., Mandal, M., Das, S., Batabyal, S.K., 1999. Hypothalamic-pituitary-thyroid axis status of humans during development of ageing process. *Clin. Chim. Acta* 288, 137–145.
- Chang, J., Wang, M., Gui, W., Zhao, Y., Yu, L., Zhu, G., 2012. Changes in thyroid hormone levels during zebrafish development. *Zool. Sci.* 29, 181–184.
- Chan, S., Kachilele, S., McCabe, C.J., Tannahill, L.A., Boelaert, K., Gittoes, N.J., Visser, T.J., Franklyn, J.A., Kilby, M.D., 2002. Early expression of thyroid hormone deiodinases and receptors in human fetal cerebral cortex. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 138, 109–116.
- Correia, N., Mullally, S., Cooke, G., Tun, T.K., Phelan, N., Feeney, J., Fitzgibbon, M., Boran, G., O'Mara, S., Gibney, J., 2009. Evidence for a specific defect in hippocampal memory in overt and subclinical hypothyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 94, 3789–3797.
- Czerska, M., Zieliński, M., Kamińska, J., Ligocka, D., 2013. Effects of polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormone, neurodevelopment and fertility in rodents and humans. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* 26, 498–510.
- Darras, V.M., Hume, R., Visser, T.J., 1999. Regulation of thyroid hormone metabolism during fetal development. *Mol. Cell Endocrinol.* 151, 37–47.
- Darras, V.M., Visser, T.J., Berghman, L.R., Kühn, E.R., 1992. Ontogeny of type I and type III deiodinase activities in embryonic and posthatch chicks: relationship with changes in plasma triiodothyronine and growth hormone levels. *Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol.* 103, 131–136.
- de Escobar, G.M., Obregón, M.J., del Rey, F.E., 2004. Maternal thyroid hormones early in pregnancy and fetal brain development. *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 18, 225–248.
- de Escobar, G.M., Obregón, M.J., del Rey, F.E., 2007. Iodine deficiency and brain development in the first half of pregnancy. *Public Health Nutr.* 10, 1554–1570.
- De Filippis, L., Delia, D., 2011. Hypoxia in the regulation of neural stem cells. *Cell Mol. Life Sci.* 68, 2831–2844.
- De Nayer, P., Rennotte, B., Caucheteux, D., 1991. Thyroid hormone receptors in brain and liver during ageing. *Horm. Metab. Res.* 23, 12–14.
- Denver, R.J., 1998. The molecular basis of thyroid hormone-dependent central nervous system remodeling during amphibian metamorphosis. *Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* 119, 219–228.
- Denver, R.J., Hu, F., Scanlan, T.S., Furlow, J.D., 2009. Thyroid hormone receptor subtype specificity for hormone-dependent neurogenesis in *Xenopus laevis*. *Dev. Biol.* 326, 155–168.
- Derbré, F., Gomez-Cabrera, M.C., Nascimento, A.L., Sanchis-Gomar, F., Martinez-Bello, V.E., Tresguerres, J.A., Fuentes, T., Gratas-Delamarche, A., Monsalve, M., Viña, J., 2012. Age associated low mitochondrial biogenesis may be explained by lack of response of PGC-1 α to exercise training. *Age (Dordr)* 34, 669–679.
- Desouza, L.A., Ladiwala, U., Daniel, S.M., Agashe, S., Vaidya, R.A., Vaidya, V.A., 2005. Thyroid hormone regulates hippocampal neurogenesis in the adult rat brain. *Mol. Cell Neurosci.* 29, 414–426.
- Desouza, L.A., Sathanoori, M., Kapoor, R., Rajadhyaksha, N., Gonzalez, L.E., Kottmann, A.H., Tole, S., Vaidya, V.A., 2011. Thyroid hormone regulates the expression of the sonic hedgehog signalling pathway in the embryonic and adult mammalian brain. *Endocrinology* 152, 1989–2000.
- Diotel, N., Vaillant, C., Gabbero, C., Mironov, S., Fostier, A., Gueguen, M.M., Anglade, I., Kah, O., Pellegrini, E., 2013. Effects of estradiol in adult neurogenesis and brain repair in zebrafish. *Horm. Behav.* 63, 193–207.
- Dong, X., Dong, J., Zhao, Y., Guo, J., Wang, Z., Liu, M., Zhang, Y., Na, X., 2017. Effects of Long-Term In Vivo Exposure to Di-2-Ethylhexylphthalate on Thyroid Hormones and the TSH/TSHR Signaling Pathways in Wistar Rats. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 14 (1), 4; pii: E44.
- Downing, A.L., Martz, G.U., Leonard, J.L., Zoeller, R.T., 2000. Acute changes in maternal thyroid hormone induce rapid and transient changes in gene expression in fetal rat brain. *J. Neurosci.* 20, 2255–2265.
- Downing, S., Halpern, L., Carswell, J., Brown, R.S., 2012. Severe maternal hypothyroidism corrected prior to the third trimester is associated with normal cognitive outcome in the offspring. *Thyroid* 22, 625–630.
- Dratman, M.B., Crutchfield, F.L., Schoenhoff, M.B., 1991. Transport of iodothyronines from bloodstream to brain: contributions by blood:brain and choroid plexus: cerebrospinal fluid barriers. *Brain Res.* 554, 229–236.
- Dugbartey, A.T., 1998. Neurocognitive aspects of hypothyroidism. *Arch. Intern. Med.* 158, 1413–1418.
- Endo, T., Yoshino, J., Kado, K., Tochinali, S., 2007. Brain regeneration in anuran amphibians. *Dev. Growth Differ.* 49, 121–129.
- Enwere, E., Shingo, T., Gregg, C., Fujikawa, H., Ohta, S., Weiss, S., 2004. Aging results in reduced epidermal growth factor receptor signalling, diminished olfactory neurogenesis, and deficits in fine olfactory discrimination. *J. Neurosci.* 24, 8354–8365.
- Ernst, A., Alkass, K., Bernard, S., Salehpour, M., Perl, S., Tisdale, J., Possnert, G., Druid, H., Frisén, J., 2014. Neurogenesis in the striatum of the adult human brain. *Cell* 156, 1072–1083.
- Essner, J.J., Breuer, J.J., Essner, R.D., Fahrenkrug, S.C., Hackett, P.B., 1997. The zebrafish thyroid hormone receptor alpha 1 is expressed during early embryogenesis and can function in transcriptional repression. *Differentiation* 62, 107–117.
- Ferreiro, B., Bernal, J., Goodyer, C.G., Branchard, C.L., 1988. Estimation of nuclear thyroid hormone receptor saturation in human fetal brain and lung during early gestation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 67, 853–856.
- Fini, J.B., Le Mével, S., Palmier, K., Darras, V.M., Punzon, I., Richardson, S.J., Clerget-Froidevaux, M.S., Demeneix, B.A., 2012. Thyroid hormone signalling in the *Xenopus laevis* embryo is functional and susceptible to endocrine disruption. *Endocrinology* 153, 5068–5081.
- Fini, J.B., Le Mevel, S., Turque, N., Palmier, K., Zalko, D., Cravedi, J.P., Demeneix, B.A., 2007. An in vivo multiwell-based fluorescent screen for monitoring vertebrate thyroid hormone disruption. *Environ. Sci. Technol.* 41, 5908–5914.
- Finken, M.J., van Eijsden, M., Loomans, E.M., Vrijlkotte, T.G., Rottevel, J., 2013. Maternal hypothyroxinemia in early pregnancy predicts reduced performance in reaction time tests in 5- to 6-year-old offspring. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98, 1417–1426.
- Flamant, F., Samarut, J., 1998. Involvement of thyroid hormone and its alpha receptor in avian neurulation. *Dev. Biol.* 197, 1–11.
- Forrest, D., Hallböök, F., Persson, H., Vennström, B., 1991. Distinct functions for thyroid hormone receptors alpha and beta in brain development indicated by differential expression of receptor genes. *EMBO J.* 10, 269–275.
- Foster, T.C., Defazio, R.A., Bizon, J.L., 2012. Characterizing cognitive aging of spatial and contextual memory in animal models. *Front. Aging Neurosci.* 4, 12.
- Friesema, E.C., Grueters, A., Biebermann, H., Krude, H., von Moers, A., Reuser, M., Barrett, T.G., Mancilla, E.E., Svensson, J., Kester, M.H., et al., 2004. Association between mutations in a thyroid hormone transporter and severe X-linked psychomotor retardation. *Lancet* 364, 1435–1437.
- Froy, O., 2011. Circadian rhythms, aging, and life span in mammals. *Physiol. (Bethesda)* 26, 225–235.
- Fu, A.L., Zhou, C.Y., Chen, X., 2010. Thyroid hormone prevents cognitive deficit in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* 58, 722–729.
- Fu, A., Zhou, R., Xu, X., 2014. The synthetic thyroid hormone, levothyroxine, protects cholinergic neurons in the hippocampus of naturally aged mice. *Neural Regen. Res.* 9, 864–871.
- Galliot, B., Quiguand, M., Ghila, L., de Rosa, R., Miljkovic-Licina, M., Chera, S., 2009. Origins of neurogenesis, a cnidarian view. *Dev. Biol.* 332, 2–24.
- Galton, V.A., Wood, E.T., St Germain, E.A., Withrow, C.A., Aldrich, G., St Germain, G.M., Clark, A.S., St Germain, D.L., 2007. Thyroid hormone homeostasis and action in the type 2 deiodinase-deficient rodent brain during development. *Endocrinology* 148, 3080–3088.
- Gancedo, B., Alonso-Gómez, A.L., de Pedro, N., Delgado, M.J., Alonso-Bedate, M., 1997. Changes in thyroid hormone concentrations and total contents through ontogeny in three anuran species: evidence for daily cycles. *Gen. Comp. Endocrinol.* 107, 240–250.
- Gascon, M., Fort, M., Martínez, D., Carsin, A.E., Fornis, J., Grimalt, J.O., Santa Marina, L., Lertxundi, N., Sunyer, J., Vrijheid, M., 2012. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk and neuropsychological development in infants. *Environ. Health Perspect.* 120, 1760–1765.
- Ge, J.F., Xu, Y.Y., Li, N., Zhang, Y., Qiu, G.L., Chu, C.H., Wang, C.Y., Qin, G., Chen, F.H., 2015. Resveratrol improved the spatial learning and memory in subclinical hypothyroidism rat induced by hemi-thyroid electrocauterization. *Endocr. J.* 62, 927–938.
- Ge, J.F., Xu, Y.Y., Qin, G., Cheng, J.Q., Chen, F.H., 2016. Resveratrol ameliorates the anxiety- and depression-like behavior of subclinical hypothyroidism rat: possible involvement of the HPT Axis, HPA Axis, and Wnt/ β -catenin pathway. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 7, 44.
- Gereben, B., Pachucki, J., Kollár, A., Liposits, Z., Fekete, C., 2004. Ontogenic redistribution of type 2 deiodinase messenger ribonucleic acid in the brain of

- chicken. *Endocrinology* 145, 3619–3625.
- Gereben, B., Zavacki, A.M., Ribich, S., Kim, B.W., Huang, S.A., Simonides, W.S., Zeöld, A., Bianco, A.C., 2008. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signalling. *Endocr. Rev.* 29, 898–938.
- Ghassabian, A., El Marroun, H., Peeters, R.P., Jaddoe, V.W., Hofman, A., Verhulst, F.C., Tiemeier, H., White, T., 2014. Downstream effects of maternal hypothyroxinemia in early pregnancy: nonverbal IQ and brain morphology in school-age children. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 99, 2383–2390.
- Glinoe, D., 2007. The importance of iodine nutrition during pregnancy. *Public Health Nutr.* 10, 1542–1546.
- Gonçalves, J.T., Schafer, S.T., Gage, F.H., 2016. Adult neurogenesis in the Hippocampus: from stem cells to behavior. *Cell* 167, 897–914.
- Gould, Stephan Jay, 1977. *Ontogeny and Phylogeny*. Harvard University Press, Cambridge.
- Gould, E., Beylin, A., Tanapat, P., Reeves, A., Shors, T.J., 1999a. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat. Neurosci.* 2, 260–265.
- Gould, E., Reeves, A.J., Fallah, M., Tanapat, P., Gross, C.G., Fuchs, E., 1999b. Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 5263–5267.
- Grijota-Martínez, C., Díez, D., Morreal de Escobar, G., Bernal, J., Morte, B., 2011. Lack of action of exogenously administered T3 on the fetal rat brain despite expression of the monocarboxylate transporter 8. *Endocrinology* 152, 1713–1721.
- Gyllenberg, D., Sourander, A., Surcel, H.M., Hinkka-Yli-Salomäki, S., McKeague, I.W., Brown, A.S., 2016. Hypothyroxinemia during gestation and offspring schizophrenia in a national birth cohort. *Biol. Psychiatry* 79, 962–970.
- Gyulai, L., Bauer, M., Bauer, M.S., García-España, F., Cnaan, A., Whybrow, P.C., 2003. Thyroid hypofunction in patients with rapid-cycling bipolar disorder after lithium challenge. *Biol. Psychiatry* 53 (10), 899–905.
- Haddow, J.E., Palomaki, G.E., Allan, W.C., Williams, J.R., Knight, G.J., Gagnon, J., O'Heir, C.E., Mitchell, M.L., Hermos, R.J., Waisbren, S.E., et al., 1999. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N. Engl. J. Med.* 341, 549–555.
- Hassani, Z., François, J.C., Alfama, G., Dubois, G.M., Paris, M., Giovannangeli, C., Demeneix, B.A., 2007. A hybrid CMV-H1 construct improves efficiency of PEI-delivered shRNA in the mouse brain. *Nucleic Acids Res.* 35, e65.
- Hauptmann, S., Scherping, I., Dröse, S., Brandt, U., Schulz, K.L., Jendrach, M., Leuner, K., Eckert, A., Müller, W.E., 2009. Mitochondrial dysfunction: an early event in Alzheimer pathology accumulates with age in AD transgenic mice. *Neurobiol. Aging* 30, 1574–1586.
- Havis, E., Le Mevel, S., Morvan Dubois, G., Shi, D.L., Scanlan, T.S., Demeneix, B.A., Sachs, L.M., 2006. Unliganded thyroid hormone receptor is essential for *Xenopus laevis* eye development. *EMBO J.* 25, 4943–4951.
- Hertoghe, T., 2005. The "multiple hormone deficiency" theory of aging: is human senescence caused mainly by multiple hormone deficiencies? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1057, 448–465.
- Hetzl, B.S., 2000. Iodine and neuropsychological development. *J. Nutr.* 130, 493S–495S.
- Heudorf, U., Mersch-Sundermann, V., Angerer, J., 2007. Phthalates: toxicology and exposure. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 210, 623–634.
- Heyland, A., Moroz, L.L., 2005. Cross-kingdom hormonal signalling: an insight from thyroid hormone functions in marine larvae. *J. Exp. Biol.* 208, 4355–4361.
- Heyland, A., Price, D.A., Bodnarova-Buganova, M., Moroz, L.L., 2006. Thyroid hormone metabolism and peroxidase function in two non-chordate animals. *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.* 306, 551–566.
- Hofmann, M.H., Michler, A., Meyer, D.L., 1989. Thyroxine influences neuronal connectivity in the adult frog brain. *Brain Res.* 492, 389–391.
- Huang, W., Xu, F., Qu, T., Zhang, R., Li, L., Que, H., Zhang, G., 2015. Identification of thyroid hormones and functional characterization of thyroid hormone receptor in the pacific oyster *Crassostrea gigas* provide insight into evolution of the thyroid hormone system. *PLoS One* 10, e0144991.
- Hu, Q., Wang, G., 2016. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Transl. Neurodegener.* 5, 14.
- Jacobs, B.L., 2002. Adult brain neurogenesis and depression. *Brain Behav. Immun.* 16, 602–609.
- Jašarević, E., Sieli, P.T., Twellman, E.E., Welsh, T.H., Schachtman, T.R., Roberts, R.M., Geary, D.C., Rosenfeld, C.S., 2011. Disruption of adult expression of sexually selected traits by developmental exposure to bisphenol A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 11715–11720.
- Jiang, W., Cao, L., Wang, F., Ge, H., Wu, P.C., Li, X.W., Chen, G.H., 2016. Accelerated reduction of serum thyroxine and hippocampal histone acetylation links to exacerbation of spatial memory impairment in aged CD-1 mice pubertally exposed to bisphenol-a. *Age (Dordr)* 38, 405–418.
- Jiang, Y., Xia, W., Zhu, Y., Li, X., Wang, D., Liu, J., Chang, H., Li, G., Xu, B., Chen, X., et al., 2014. Mitochondrial dysfunction in early life resulted from perinatal bisphenol A exposure contributes to hepatic steatosis in rat offspring. *Toxicol. Lett.* 228, 85–92.
- Johnson, S.A., Javurek, A.B., Painter, M.S., Ellersieck, M.R., Welsh, T.H., Camacho, L., Lewis, S.M., Vanlandingham, M.M., Ferguson, S.A., Rosenfeld, C.S., 2016. Effects of developmental exposure to bisphenol A on spatial navigational learning and memory in rats: a CLARITY-BPA study. *Horm. Behav.* 80, 139–148.
- Johnson, S.A., Painter, M.S., Javurek, A.B., Ellersieck, M.R., Wiedmeyer, C.E., Thyfault, J.P., Rosenfeld, C.S., 2015. Sex-dependent effects of developmental exposure to bisphenol A and ethinyl estradiol on metabolic parameters and voluntary physical activity. *J. Dev. Orig. Health Dis.* 6, 539–552.
- Kageyama, R., Imayoshi, I., Sakamoto, M., 2012. The role of neurogenesis in olfaction-dependent behaviors. *Behav. Brain Res.* 227, 459–463.
- Kaneko, N., Sawamoto, K., 2009. Adult neurogenesis and its alteration under pathological conditions. *Neurosci. Res.* 63, 155–164.
- Kaplan, M.M., Yaskoski, K.A., 1981. Maturation patterns of iodothyronine phenolic and tyrosyl ring deiodinase activities in rat cerebrum, cerebellum, and hypothalamus. *J. Clin. Invest.* 67, 1208–1214.
- Kapogiannis, D., Mattson, M.P., 2011. Disrupted energy metabolism and neuronal circuit dysfunction in cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 10, 187–198.
- Kapoor, R., Desouza, L.A., Nanavaty, I.N., Kernie, S.G., Vaidya, V.A., 2012. Thyroid hormone accelerates the differentiation of adult hippocampal progenitors. *J. Neuroendocrinol.* 24, 1259–1271.
- Kapoor, R., Fanibunda, S.E., Desouza, L.A., Guha, S.K., Vaidya, V.A., 2015. Perspectives on thyroid hormone action in adult neurogenesis. *J. Neurochem.* 133, 599–616.
- Kapoor, R., Ghosh, H., Nordstrom, K., Vennstrom, B., Vaidya, V.A., 2011. Loss of thyroid hormone receptor β is associated with increased progenitor proliferation and NeuroD positive cell number in the adult hippocampus. *Neurosci. Lett.* 487, 199–203.
- Kapoor, R., van Hogerlinden, M., Wallis, K., Ghosh, H., Nordstrom, K., Vennstrom, B., Vaidya, V.A., 2010. Unliganded thyroid hormone receptor alpha1 impairs adult hippocampal neurogenesis. *FASEB J.* 24, 4793–4805.
- Kaslin, J., Ganz, J., Brand, M., 2008. Proliferation, neurogenesis and regeneration in the non-mammalian vertebrate brain. *Philos. Trans. R. Soc. Lond B Biol. Sci.* 363, 101–122.
- Kilby, M.D., Gittoes, N., McCabe, C., Verhaeg, J., Franklyn, J.A., 2000. Expression of thyroid receptor isoforms in the human fetal central nervous system and the effects of intrauterine growth restriction. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 53, 469–477.
- Kimura-Kuroda, J., Nagata, I., Kuroda, Y., 2007. Disrupting effects of hydroxy-biphenyl chlorinated biphenyl (PCB) congeners on neuronal development of cerebellar Purkinje cells: a possible causal factor for developmental brain disorders? *Chemosphere* 67, S412–S420.
- Kinch, C.D., Ibhazehiebo, K., Jeong, J.H., Habibi, H.R., Kurrasch, D.M., 2015. Low-dose exposure to bisphenol A and replacement bisphenol S induces precocious hypothalamic neurogenesis in embryonic zebrafish. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 1475–1480.
- Klootwijk, W., Friesema, E.C., Visser, T.J., 2011. A nonselenoprotein from amphioxus deiodinates triac but not T3: is triac the primordial bioactive thyroid hormone? *Endocrinology* 152, 3259–3267.
- Kokoeva, M.V., Yin, H., Flier, J.S., 2005. Neurogenesis in the hypothalamus of adult mice: potential role in energy balance. *Science* 310, 679–683.
- Kokoeva, M.V., Yin, H., Flier, J.S., 2007. Evidence for constitutive neural cell proliferation in the adult murine hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 505, 209–220.
- Korevaar, T.I., Muetzel, R., Medici, M., Chaker, L., Jaddoe, V.W., de Rijke, Y.B., Steegers, E.A., Visser, T.J., White, T., Tiemeier, H., et al., 2016. Association of maternal thyroid function during early pregnancy with offspring IQ and brain morphology in childhood: a population-based prospective cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 4, 35–43.
- Kramer, C.K., von Mühlen, D., Kritz-Silverstein, D., Barrett-Connor, E., 2009. Treated hypothyroidism, cognitive function, and depressed mood in old age: the Rancho Bernardo Study. *Eur. J. Endocrinol.* 161, 917–921.
- Kuhn, H.G., Dickinson-Anson, H., Gage, F.H., 1996. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J. Neurosci.* 16, 2027–2033.
- Landers, K.A., Mortimer, R.H., Richard, K., 2013. Transthyretin and the human placenta. *Placenta* 34, 513–517.
- Lemkine, G.F., Raj, A., Alfama, G., Turque, N., Hassani, Z., Alegria-Prévot, O., Samarut, J., Levi, G., Demeneix, B.A., 2005. Adult neural stem cell cycling in vivo requires thyroid hormone and its alpha receptor. *FASEB J.* 19, 863–865.
- Leonetti, C., Butt, C.M., Hoffman, K., Hammel, S.C., Miranda, M.L., Stapleton, H.M., 2016. Brominated flame retardants in placental tissues: associations with infant sex and thyroid hormone endpoints. *Environ. Health* 15, 113.
- Li, L., Candelario, K.M., Thomas, K., Wang, R., Wright, K., Messier, A., Cunningham, L.A., 2014. Hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) is required for neural stem cell maintenance and vascular stability in the adult mouse SVZ. *J. Neurosci.* 34, 16713–16719.
- Lindsey, B.W., Tropepe, V., 2006. A comparative framework for understanding the biological principles of adult neurogenesis. *Prog. Neurobiol.* 80, 281–307.
- Lischinsky, J.E., Skocic, J., Clairman, H., Rovet, J., 2016. Preliminary findings show maternal hypothyroidism may contribute to abnormal cortical morphology in offspring. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 7, 16.
- Liu, Z.H., Ding, J.J., Yang, Q.Q., Song, H.Z., Chen, X.T., Xu, Y., Xiao, G.R., Wang, H.L., 2016. Early developmental bisphenol-A exposure sex-independently impairs spatial memory by remodeling hippocampal dendritic architecture and synaptic transmission in rats. *Sci. Rep.* 6, 32492.
- López-Juárez, A., Remaud, S., Hassani, Z., Jolivet, P., Pierre Simons, J., Sontag, T., Yoshikawa, K., Price, J., Morvan-Dubois, G., Demeneix, B.A., 2012. Thyroid hormone signaling acts as a neurogenic switch by repressing Sox2 in the adult neural stem cell niche. *Cell Stem Cell* 10, 531–543.
- Manshach, L.K., Conard, C.M., Johnson, S.A., Alex, J.M., Bryan, S.J., Deem, S.L., Holliday, D.K., Ellersieck, M.R., Rosenfeld, C.S., 2016. Effects of developmental exposure to bisphenol A and ethinyl estradiol on spatial navigational learning and memory in painted turtles (*Chrysemys picta*). *Horm. Behav.* 85, 48–55.
- Martini, M., Calandrea, L., Jouhannau, M., Mhaouty-Kodja, S., Keller, M., 2014. Perinatal exposure to methoxychlor enhances adult cognitive responses and

- hippocampal neurogenesis in mice. *Front. Behav. Neurosci.* 8, 202.
- McNabb, F.M., 2006. Avian thyroid development and adaptive plasticity. *Gen. Comp. Endocrinol.* 147, 93–101.
- Menn, B., Garcia-Verdugo, J.M., Yaschine, C., Gonzalez-Perez, O., Rowitch, D., Alvarez-Buylla, A., 2006. Origin of oligodendrocytes in the subventricular zone of the adult brain. *J. Neurosci.* 26, 7907–7918.
- Migaud, M., Batailler, M., Pillon, D., Franceschini, I., Malpoux, B., 2011. Seasonal changes in cell proliferation in the adult sheep brain and pars tuberalis. *J. Biol. Rhythms* 26, 486–496.
- Migaud, M., Batailler, M., Segura, S., Duittoz, A., Franceschini, I., Pillon, D., 2010. Emerging new sites for adult neurogenesis in the mammalian brain: a comparative study between the hypothalamus and the classical neurogenic zones. *Eur. J. Neurosci.* 32, 2042–2052.
- Migaud, M., Butruille, L., Duittoz, A., Pillon, D., Batailler, M., 2016. Adult neurogenesis and reproductive functions in mammals. *Theriogenology* 86, 313–323.
- Mohan, V., Sinha, R.A., Pathak, A., Rastogi, L., Kumar, P., Pal, A., Godbole, M.M., 2012. Maternal thyroid hormone deficiency affects the fetal neocortico-genesis by reducing the proliferating pool, rate of neurogenesis and indirect neurogenesis. *Exp. Neurol.* 237, 477–488.
- Mohr, M.A., Sisk, C.L., 2013. Pubertally born neurons and glia are functionally integrated into limbic and hypothalamic circuits of the male Syrian hamster. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 4792–4797.
- Montero-Pedrazuela, A., Venero, C., Lavado-Autric, R., Fernández-Lamo, I., García-Verdugo, J.M., Bernal, J., Guadaño-Ferraz, A., 2006. Modulation of adult hippocampal neurogenesis by thyroid hormones: implications in depressive-like behavior. *Mol. Psychiatry* 11, 361–371.
- Moog, N.K., Entringer, S., Heim, C., Wadhwa, P.D., Kathmann, N., Buss, C., 2017. Influence of maternal thyroid hormones during gestation on fetal brain development. *Neuroscience* 342, 68–100.
- Mooradian, A.D., Li, J., Shah, G.N., 1998. Age-related changes in thyroid hormone responsive protein (THRP) expression in cerebral tissue of rats. *Brain Res.* 793, 302–304.
- Morris, C.J., Aeschbach, D., Scheer, F.A., 2012. Circadian system, sleep and endocrinology. *Mol. Cell Endocrinol.* 349, 91–104.
- Morte, B., Bernal, J., 2014. Thyroid hormone action: astrocyte-neuron communication. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 5, 82.
- Morvan-Dubois, G., Demeneix, B.A., Sachs, L.M., 2008. *Xenopus laevis* as a model for studying thyroid hormone signalling: from development to metamorphosis. *Mol. Cell Endocrinol.* 293, 71–79.
- Morvan Dubois, G., Sebillot, A., Kuiper, G.G., Verhoelst, C.H., Darras, V.M., Visser, T.J., Demeneix, B.A., 2006. Deiodinase activity is present in *Xenopus laevis* during early embryogenesis. *Endocrinology* 147, 4941–4949.
- Nait-Oumesmar, B., Picard-Riéa, N., Kerninon, C., Baron-Van Evercooren, A., 2008. The role of SVZ-derived neural precursors in demyelinating diseases: from animal models to multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.* 265, 26–31.
- Noten, A.M., Loomans, E.M., Vrijkotte, T.G., van de Ven, P.M., van Trotsenburg, A.S., Rotteveel, J., van Eijsden, M., Finken, M.J., 2015. Maternal hypothyroxinaemia in early pregnancy and school performance in 5-year-old offspring. *Eur. J. Endocrinol.* 173, 563–571.
- Oofusa, K., Tooi, O., Kashiwagi, A., Kashiwagi, K., Kondo, Y., Watanabe, Y., Sawada, T., Fujikawa, K., Yoshizato, K., 2001. Expression of thyroid hormone receptor betaA gene assayed by transgenic *Xenopus laevis* carrying its promoter sequences. *Mol. Cell Endocrinol.* 181, 97–110.
- Ormerod, B.K., Lee, T.T., Galea, L.A., 2003. Estradiol initially enhances but subsequently suppresses (via adrenal steroids) granule cell proliferation in the dentate gyrus of adult female rats. *J. Neurobiol.* 55, 247–260.
- Päkkilä, F., Männistö, T., Hartikainen, A.L., Ruokonen, A., Surcel, H.M., Bloigu, A., Väärasmäki, M., Järvelin, M.R., Moilanen, I., Suvanto, E., 2015. Maternal and Child's thyroid function and Child's intellect and scholastic performance. *Thyroid* 25, 1363–1374.
- Paris, M., Hillenweck, A., Bertrand, S., Delous, G., Escriba, H., Zalko, D., Cravedi, J.P., Laudet, V., 2010. Active metabolism of thyroid hormone during metamorphosis of amphioxus. *Integr. Comp. Biol.* 50, 63–74.
- Paris, M., Laudet, V., 2008. The history of a developmental stage: metamorphosis in chordates. *Genesis* 46, 657–672.
- Paternostro, M.A., Meisami, E., 1991. Lack of thyroid hormones but not their excess affects the maturation of olfactory receptor neurons: a quantitative morphological study in the postnatal rat. *Int. J. Dev. Neurosci.* 9, 439–452.
- Patrick, L., 2009. Thyroid disruption: mechanism and clinical implications in human health. *Altern. Med. Rev.* 14, 326–346.
- Patricolo, E., Cammarata, M., D'Agati, P., 2001. Presence of thyroid hormones in ascidian larvae and their involvement in metamorphosis. *J. Exp. Zool.* 290, 426–430.
- Penceva, V., Bingaman, K.D., Freedman, L.J., Luskin, M.B., 2001. Neurogenesis in the subventricular zone and rostral migratory stream of the neonatal and adult primate forebrain. *Exp. Neurol.* 172, 1–16.
- Pistollato, F., Chen, H.L., Schwartz, P.H., Basso, G., Panchision, D.M., 2007. Oxygen tension controls the expansion of human CNS precursors and the generation of astrocytes and oligodendrocytes. *Mol. Cell Neurosci.* 35, 424–435.
- Pop, V.J., Brouwers, E.P., Vader, H.L., Vuylsma, T., van Baar, A.L., de Vijlder, J.J., 2003. Maternal hypothyroxinaemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3-year follow-up study. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 59, 282–288.
- Porterfield, S.P., 2000. Thyroidal dysfunction and environmental chemicals—potential impact on brain development. *Environ. Health Perspect.* 108 (Suppl. 3), 433–438.
- Power, D.M., Llewellyn, L., Faustino, M., Nowell, M.A., Björnsson, B.T., Einarsdottir, I.E., Canario, A.V., Sweeney, G.E., 2001. Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 130, 447–459.
- Préau, L., Le Blay, K., Saint Paul, E., Morvan-Dubois, G., Demeneix, B.A., 2016. Differential thyroid hormone sensitivity of fast cycling progenitors in the neurogenic niches of tadpoles and juvenile frogs. *Mol. Cell Endocrinol.* 420, 138–151.
- Rafalski, V.A., Brunet, A., 2011. Energy metabolism in adult neural stem cell fate. *Prog. Neurobiol.* 93, 182–203.
- Rasier, G., Parent, A.S., Gérard, A., Lebrethon, M.C., Bourguignon, J.P., 2007. Early maturation of gonadotropin-releasing hormone secretion and sexual precocity after exposure of infant female rats to estradiol or dichlorodiphenyltrichloroethane. *Biol. Reprod.* 77, 734–742.
- Remaud, S., Gothié, J.D., Morvan-Dubois, G., Demeneix, B.A., 2014. Thyroid hormone signaling and adult neurogenesis in mammals. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 5, 62.
- Riskind, P.N., Kolodny, J.M., Larsen, P.R., 1987. The regional hypothalamic distribution of type II 5'-monodeiodinase in euthyroid and hypothyroid rats. *Brain Res.* 420, 194–198.
- Rochester, J.R., Bolden, A.L., 2015. Bisphenol S and F: a systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol A substitutes. *Environ. Health Perspect.* 123, 643–650.
- Rojczyk-Gołębiewska, E., Pałasz, A., Wiaderekiewicz, R., 2014. Hypothalamic subependymal niche: a novel site of the adult neurogenesis. *Cell Mol. Neurobiol.* 34, 631–642.
- Román, G.C., 2007. Autism: transient in utero hypothyroxinemia related to maternal flavonoid ingestion during pregnancy and to other environmental antithyroid agents. *J. Neurol. Sci.* 262, 15–26.
- Román, G.C., Ghassabian, A., Bongers-Schokking, J.J., Jaddoe, V.W., Hofman, A., de Rijke, Y.B., Verhulst, F.C., Tiemeier, H., 2013. Association of gestational maternal hypothyroxinemia and increased autism risk. *Ann. Neurol.* 74, 733–742.
- Rone, M.B., Cui, Q.L., Fang, J., Wang, L.C., Zhang, J., Khan, D., Bedard, M., Almazan, G., Ludwin, S.K., Jones, R., et al., 2016. Oligodendroglialopathy in multiple sclerosis: low glycolytic metabolic rate promotes oligodendrocyte survival. *J. Neurosci.* 36, 4698–4707.
- Rosenfeld, C.S., Trainor, B.C., 2014. Environmental health factors and sexually dimorphic differences in behavioral disruptions. *Curr. Environ. Health Rep.* 1, 287–301.
- Ross, A.W., Helfer, G., Russell, L., Darras, V.M., Morgan, P.J., 2011. Thyroid hormone signalling genes are regulated by photoperiod in the hypothalamus of F344 rats. *PLoS One* 6, e21351.
- Rusznák, Z., Henskens, W., Schofield, E., Kim, W.S., Fu, Y., 2016. Adult neurogenesis and gliogenesis: possible mechanisms for neurorestoration. *Exp. Neurobiol.* 25, 103–112.
- Samadi, A., Skocic, J., Rovet, J.F., 2015. Children born to women treated for hypothyroidism during pregnancy show abnormal corpus callosum development. *Thyroid* 25, 494–502.
- Sanai, N., Nguyen, T., Ihrie, R.A., Mirzadeh, Z., Tsai, H.H., Wong, M., Gupta, N., Berger, M.S., Huang, E., Garcia-Verdugo, J.M., et al., 2011. Corridors of migrating neurons in the human brain and their decline during infancy. *Nature* 478, 382–386.
- Sanai, N., Tramontin, A.D., Quiñones-Hinojosa, A., Barbaro, N.M., Gupta, N., Kunwar, S., Lawton, M.T., McDermott, M.W., Parsa, A.T., Manuel-García Verdugo, J., et al., 2004. Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature* 427, 740–744.
- Scalise, T.J., Györfy, A., Tóth, I., Kiss, D.S., Somogyi, V., Goszleth, G., Bartha, T., Frenyó, L.V., Zsarnovszky, A., 2012. Ligand-induced changes in Oestrogen and thyroid hormone receptor expression in the developing rat cerebellum: a comparative quantitative PCR and Western blot study. *Acta Vet. Hung.* 60, 263–284.
- Schoenfeld, T.J., Cameron, H.A., 2015. Adult neurogenesis and mental illness. *Neuropsychopharmacology* 40, 113–128.
- Smith, J.W., Evans, A.T., Costall, B., Smythe, J.W., 2002. Thyroid hormones, brain function and cognition: a brief review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 26, 45–60.
- Somogyi, V., Horváth, T.L., Tóth, I., Bartha, T., Frenyó, L.V., Kiss, D.S., Jöcsák, G., Kerti, A., Naftolin, F., Zsarnovszky, A., 2016. Bisphenol A influences oestrogen- and thyroid hormone-regulated thyroid hormone receptor expression in rat cerebellar cell culture. *Acta Vet. Hung.* 64, 497–513.
- Spalding, K.L., Bergmann, O., Alkass, K., Bernard, S., Salehpour, M., Huttner, H.B., Boström, E., Westerlund, I., Vial, C., Buchholz, B.A., et al., 2013. Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell* 153, 1219–1227.
- Stagnaro-Green, A., 2011. Overt hyperthyroidism and hypothyroidism during pregnancy. *Clin. Obstet. Gynecol.* 54, 478–487.
- St Germain, D.L., Hernandez, A., Schneider, M.J., Galton, V.A., 2005. Insights into the role of deiodinases from studies of genetically modified animals. *Thyroid* 15, 905–916.
- Suh, J.H., Sieglaff, D.H., Zhang, A., Xia, X., Cvoró, A., Winnier, G.E., Webb, P., 2013. SIRT1 is a direct coactivator of thyroid hormone receptor β 1 with gene-specific actions. *PLoS One* 8, e70097.
- Su, Y., Damjanovski, S., Shi, Y., Shi, Y.B., 1999. Molecular and cellular basis of tissue remodeling during amphibian metamorphosis. *Histol. Histopathol.* 14, 175–183.
- Swan, A.A., Clutton, J.E., Chary, P.K., Cook, S.G., Liu, G.G., Drew, M.R., 2014. Characterization of the role of adult neurogenesis in touch-screen discrimination learning. *Hippocampus* 24, 1581–1591.
- Tekumalla, P.K., Tontonoz, M., Hesla, M.A., Kim, J.R., 2002. Effects of excess thyroid

- hormone on cell death, cell proliferation, and new neuron incorporation in the adult zebra finch telencephalon. *J. Neurobiol.* 51, 323–341.
- Thommes, R.C., Hylka, V.W., 1977. Plasma iodothyronines in the embryonic and immediate post-hatch chick. *Gen. Comp. Endocrinol.* 32, 417–422.
- Tiwari, S.K., Agarwal, S., Chauhan, L.K., Mishra, V.N., Chaturvedi, R.K., 2015a. Bisphenol-A impairs myelination potential during development in the hippocampus of the rat brain. *Mol. Neurobiol.* 51, 1395–1416.
- Tiwari, S.K., Agarwal, S., Seth, B., Yadav, A., Ray, R.S., Mishra, V.N., Chaturvedi, R.K., 2015b. Inhibitory effects of bisphenol-a on neural stem cells proliferation and differentiation in the rat brain are dependent on Wnt/ β -catenin pathway. *Mol. Neurobiol.* 52, 1735–1757.
- Trajkovic, M., Visser, T.J., Mittag, J., Horn, S., Lukas, J., Darras, V.M., Raivich, G., Bauer, K., Heuer, H., 2007. Abnormal thyroid hormone metabolism in mice lacking the monocarboxylate transporter 8. *J. Clin. Invest.* 117, 627–635.
- Uhl, I., Bez, J.A., Stamm, T., Pilhatsch, M., Assion, H.J., Norra, C., Lewitzka, U., Schlagenhauf, F., Bauer, M., Juckel, G., 2014. Influence of levothyroxine in augmentation therapy for bipolar depression on central serotonergic function. *Pharmacopsychiatry* 47, 180–183.
- van der Deure, W.M., Peeters, R.P., Visser, T.J., 2010. Molecular aspects of thyroid hormone transporters, including MCT8, MCT10, and OATPs, and the effects of genetic variation in these transporters. *J. Mol. Endocrinol.* 44, 1–11.
- Vander Heiden, M.G., Cantley, L.C., Thompson, C.B., 2009. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 324, 1029–1033.
- van Praag, H., Schinder, A.F., Christie, B.R., Toni, N., Palmer, T.D., Gage, F.H., 2002. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 415, 1030–1034.
- Veiga-Lopez, A., Moeller, J., Sreedharan, R., Singer, K., Lumeng, C., Ye, W., Pease, A., Padmanabhan, V., 2016. Developmental programming: interaction between prenatal BPA exposure and postnatal adiposity on metabolic variables in female sheep. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 310, E238–E247.
- Verhoelst, C.H., Darras, V.M., Doulabi, B.Z., Reyns, G., Kühn, E.R., Van der Geyten, S., 2004. Type I iodothyronine deiodinase in euthyroid and hypothyroid chicken cerebellum. *Mol. Cell Endocrinol.* 214, 97–105.
- Verhoelst, C.H., Roelens, S.A., Darras, V.M., 2005. Role of spatiotemporal expression of iodothyronine deiodinase proteins in cerebellar cell organization. *Brain Res. Bull.* 67, 196–202.
- Visser, W.E., Bombardieri, C.R., Zevenbergen, C., Barnhoorn, S., Ottaviani, A., van der Pluijm, I., Brandt, R., Kaptein, E., van Heerebeek, R., van Toor, H., et al., 2016. Tissue-specific suppression of thyroid hormone signaling in various mouse models of aging. *PLoS One* 11, e0149941.
- Weinert, D., 2000. Age-dependent changes of the circadian system. *Chronobiol. Int.* 17, 261–283.
- Weiss, B., 2007. Can endocrine disruptors influence neuroplasticity in the aging brain? *Neurotoxicology* 28, 938–950.
- Weitzel, J.M., Iwen, K.A., 2011. Coordination of mitochondrial biogenesis by thyroid hormone. *Mol. Cell Endocrinol.* 342, 1–7.
- Whybrow, P.C., Prange Jr., A.J., Treadway, C.R., 1969. Mental changes accompanying thyroid gland dysfunction. A reappraisal using objective psychological measurement. *Arch. Gen. Psychiatry* 20 (1), 48–63.
- Williams, S.A., Jasarevic, E., Vandas, G.M., Warzak, D.A., Geary, D.C., Ellersieck, M.R., Roberts, R.M., Rosenfeld, C.S., 2013. Effects of developmental bisphenol A exposure on reproductive-related behaviors in California mice (*Peromyscus californicus*): a monogamous animal model. *PLoS One* 8, e55698.
- Willoughby, K.A., McAndrews, M.P., Rovet, J.F., 2014a. Accuracy of episodic autobiographical memory in children with early thyroid hormone deficiency using a staged event. *Dev. Cogn. Neurosci.* 9, 1–11.
- Willoughby, K.A., McAndrews, M.P., Rovet, J.F., 2014b. Effects of maternal hypothyroidism on offspring hippocampus and memory. *Thyroid* 24, 576–584.
- Wirth, E.K., Schweizer, U., Köhrlé, J., 2014. Transport of thyroid hormone in brain. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 5, 98.
- Wise, A., Parham, F., Axelrad, D.A., Guyton, K.Z., Portier, C., Zeise, L., Zoeller, R.T., Woodruff, T.J., 2012. Upstream adverse effects in risk assessment: a model of polychlorinated biphenyls, thyroid hormone disruption and neurological outcomes in humans. *Environ. Res.* 117, 90–99.
- Woodruff, T.J., 2011. Bridging epidemiology and model organisms to increase understanding of endocrine disrupting chemicals and human health effects. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 127, 108–117.
- Wulf, A., Harnett, A., Kröger, M., Kebenko, M., Wetzel, M.G., Weitzel, J.M., 2008. T3-mediated expression of PGC-1 α via a far upstream located thyroid hormone response element. *Mol. Cell Endocrinol.* 287, 90–95.
- Wu, Z., Puigserver, P., Andersson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., Troy, A., Cinti, S., Lowell, B., Scarpulla, R.C., et al., 1999. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell* 98, 115–124.
- Xu, Y., Tamamaki, N., Noda, T., Kimura, K., Itokazu, Y., Matsumoto, N., Dezawa, M., Ide, C., 2005. Neurogenesis in the ependymal layer of the adult rat 3rd ventricle. *Exp. Neurol.* 192, 251–264.
- Yeung, S.T., Myczek, K., Kang, A.P., Chabrier, M.A., Baglietto-Vargas, D., Laferla, F.M., 2014. Impact of hippocampal neuronal ablation on neurogenesis and cognition in the aged brain. *Neuroscience* 259, 214–222.
- Yoshimura, T., Yasuo, S., Watanabe, M., Iigo, M., Yamamura, T., Hirunagi, K., Ebihara, S., 2003. Light-induced hormone conversion of T4 to T3 regulates photoperiodic response of gonads in birds. *Nature* 426, 178–181.
- Zane, M., Catalano, V., Scavo, E., Bonanno, M., Pelizzo, M.R., Todaro, M., Stassi, G., 2014. Estrogens and stem cells in thyroid cancer. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 5, 124.
- Zhang, G., Jin, L.Q., Hu, J., Rodemer, W., Selzer, M.E., 2015. Antisense morpholino oligonucleotides reduce neurofilament synthesis and inhibit axon regeneration in lamprey reticulospinal neurons. *PLoS One* 10, e0137670.
- Zhang, L., Blomgren, K., Kuhn, H.G., Cooper-Kuhn, C.M., 2009. Effects of postnatal thyroid hormone deficiency on neurogenesis in the juvenile and adult rat. *Neurobiol. Dis.* 34, 366–374.
- Zhao, N., Zhong, C., Wang, Y., Zhao, Y., Gong, N., Zhou, G., Xu, T., Hong, Z., 2008. Impaired hippocampal neurogenesis is involved in cognitive dysfunction induced by thiamine deficiency at early pre-pathological lesion stage. *Neurobiol. Dis.* 29, 176–185.
- Zheng, X., Boyer, L., Jin, M., Mertens, J., Kim, Y., Ma, L., Hamm, M., Gage, F.H., Hunter, T., 2016. Metabolic reprogramming during neuronal differentiation from aerobic glycolysis to neuronal oxidative phosphorylation. *Elife* 5.
- Zhuo, J.M., Tseng, H.A., Desai, M., Bucklin, M.E., Mohammed, A.I., Robinson, N.T., Boyden, E.S., Rangel, L.M., Jasanoff, A.P., Gritton, H.J., et al., 2016. Young adult born neurons enhance hippocampal dependent performance via influences on bilateral networks. *Elife* 5.
- Zimmermann, M.B., Jooste, P.L., Pandav, C.S., 2008. Iodine-deficiency disorders. *Lancet* 372, 1251–1262.



Graphical Abstract

Annexe III : Thyroid hormone signaling and adult neurogenesis in mammals

Article soumis le 31 janvier et accepté pour publication le 14 avril 2014 dans le journal *Frontiers in Endocrinology*.

Remaud, S., Gothié J. D., Morvan-Dubois, G. and Demeneix, B. A. (2014) 'Thyroid hormone signaling and adult neurogenesis in mammals', *Front Endocrinol (Lausanne)*, 5, pp. 62.; doi: 10.3389/fendo.2014.00062.



Thyroid hormone signaling and adult neurogenesis in mammals

Sylvie Remaud, Jean-David Gothié, Ghislaine Morvan-Dubois and Barbara A. Demeneix*

UMR CNRS 7221, Evolution des Régulations Endocriniennes, Département Régulations, Développement et Diversité Moléculaire, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France

Edited by:

Frédéric Flamant, Ecole Normale Supérieure de Lyon, France

Reviewed by:

Caterina Missero, CEINGE Biotecnologie Avanzate, Italy
Ana Cristina Guadaño-Ferraz, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Spain

*Correspondence:

Barbara A. Demeneix, UMR CNRS 7221, Evolution des Régulations Endocriniennes, Département Régulations, Développement et Diversité Moléculaire, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris 75231, France
e-mail: bdem@mnhn.fr

The vital roles of thyroid hormone in multiple aspects of perinatal brain development have been known for over a century. In the last decades, the molecular mechanisms underlying effects of thyroid hormone on proliferation, differentiation, migration, synaptogenesis, and myelination in the developing nervous system have been gradually dissected. However, recent data reveal that thyroid signaling influences neuronal development throughout life, from early embryogenesis to the neurogenesis in the adult brain. This review deals with the latter phase and analyses current knowledge on the role of T_3 , the active form of thyroid hormone, and its receptors in regulating neural stem cell function in the hippocampus and the subventricular zone, the two principal sites harboring neurogenesis in the adult mammalian brain. In particular, we discuss the critical roles of T_3 and $TR\alpha 1$ in commitment to a neuronal phenotype, a process that entails the repression of a number of genes notably that encoding the pluripotency factor, *Sox2*. Furthermore, the question of the relevance of thyroid hormone control of adult neurogenesis is considered in the context of brain aging, cognitive decline, and neurodegenerative disease.

Keywords: thyroid hormones, adult neurogenesis, brain functions, adult neural stem cells, plasticity, physiology

THYROID HORMONES AND ADULT BRAIN FUNCTION

Thyroid hormones (THs) are vital for brain organization and function throughout life. In the developing mammalian embryo prior to instigation of fetal thyroid function maternal THs are required for optimal neurogenesis (1, 2). At all life stages, but particularly during perinatal growth, T_3 is implicated in multiple processes including neurogenesis (cell cycle control and exit), synaptogenesis, migration, plasticity, and myelination (3). In adults, thyroid dysfunction correlates with neurological and behavioral disorders. Even if developmental hypothyroidism produces more deleterious, irreversible effects, adult hypothyroidism alters hippocampus function: memory impairment, anxiety, and depression-like symptoms in rodent models and humans (4, 5). In adults, the mechanisms underlying these cognitive problems are less well understood than during perinatal development. However, it is established that reduced neurogenesis, especially in the rodent hippocampus, due to either aging or stress, is associated with neurocognitive deficits such as anxiety, depression (6), and with neurodegenerative disease such as Alzheimer's (7, 8). In mammals, including humans, the subgranular zone (SGZ) of the hippocampal dentate gyrus and the subventricular zone (SVZ) represent the two main neurogenic niches. These niches produce newborn neurons from neural stem cells (NSC) throughout life and so, contribute to brain plasticity during learning, memory, and recovery from brain damage (9). Many extrinsic and intrinsic signaling factors regulate different stages of adult neurogenesis (10), with TH signaling being well known to control NSC homeostasis [see below and (11–16)]. Understanding the mechanisms underlying T_3 regulation of adult neurogenesis is crucial to develop treatments for neurocognitive disorders.

A rich literature links thyroid physiology and neurocognitive dysfunction in humans. Hypothyroidism is associated with mood instability and depression, dementia, memory impairment, and psychomotor problems (17). Most often, mood abnormalities reverse under T_4 -supplementation, but can persist after long-term hypothyroidism (18). The mechanisms implicated are unknown, although T_3 levels affect serotonergic and catecholaminergic signaling at multiple levels (19, 20), systems often targeted by antidepressants. Further, in children and adolescents (21), as well as adults (22), hypothyroidism, and reduced memory function are associated with decreased hippocampal size, suggesting that TH deficiency causes structural alterations. Thus, it is plausible that neurogenesis in rodents, and depression or other psychiatric diseases associated with hypothyroidism in humans, may be related to reduced hippocampal neurogenesis.

However, the links between cognitive deficits and neurogenesis – “the neurogenic hypothesis of depression” – are still poorly understood. Even if there is evidence for adult neurogenesis in both SVZ (23) and SGZ (24) in humans, the contribution of adult neurogenesis to human brain function, and in particular to behavioral outputs, is still questioned, a point discussed in the next section.

However, there is increasing cellular and molecular understanding of the links between TH signaling and adult neurogenesis in rodents. Adult-onset hypothyroidism reduced the number of newborn neuroblasts in the dentate gyrus (14). Furthermore, in adult hypothyroid animals displaying depressive-like behavior, neurogenesis in the dentate gyrus is reduced and dendritic arborization is impaired. TH supplementation rescues these modifications (14).

THYROID HORMONE REGULATES ADULT NEUROGENESIS

Neural stem cells in adult SGZ and SVZ slowly divide asymmetrically, giving rise to progenitors. In rodents, these highly proliferative progenitors generate neuroblasts that migrate and integrate into the pre-existing neuronal networks of the hippocampus and the olfactory bulb (OB). More recent findings highlight a third neurogenic niche within the adult rodent hypothalamus, a region regulating energy balance, food intake, and body weight (25, 26).

In humans, the functional role of adult neurogenesis is controversial (27–30). Both generation of new neuroblasts and their functional incorporation, especially in the OB, is still questioned. However, recent data showed that new neurons, probably produced from the adult SVZ, are observed in the human striatum, showing that adult human SVZ can contribute to neurogenesis at least in this region (31). A decrease of neuroblasts, expressing the neuronal precursor marker doublecortin (DCX), is observed continuously from the first year after birth, in the SVZ and SGZ (29, 30, 32, 33). However, a recent study shows that a subpopulation of hippocampal neurons is able to renew, supporting the concept that adult neurogenesis occurs in humans and could contribute to cognitive functions (24).

SVZ AND SGZ NICHES

Thyroid hormone signaling is one of the main pathways vital for adult neurogenesis. Recently, T₃ was demonstrated to exert critical roles in cell proliferation and NSC commitment toward neuroblasts in both the rodent SVZ and SGZ *in vivo* (15, 16). T₃ acts on transcription through nuclear receptors, Thyroid Hormone Receptors (TRs). In vertebrates, different isoforms derive from the *Thra* (TRα1 and TRα2) and *Thrb* (TRβ1 and TRβ2) genes. The adult hippocampus expresses TRα1, TRβ1, and β2 isoforms (16, 34), whereas only TRα1 is expressed in the adult mouse SVZ (13, 15).

T₃ regulates adult neurogenesis at different steps (proliferation, survival, differentiation, and maturation). Hypothyroidism significantly reduces progenitor proliferation in the SVZ of adult mice, whereas a short T₃ pulse restores mitotic activity to euthyroid levels (13). Similarly, using Ki67 as a proliferation marker and a BrdU incorporation protocol to measure cell proliferation limiting labeling of postmitotic cells, Montero-Pedrazuela et al. (14) demonstrated that hypothyroidism in adult rats, induces a decrease of proliferation (about 30%) in the adult SGZ that is reversed by T₄ treatment. Furthermore, hypothyroidism does not affect cell survival. In contrast, two others studies shown that hypothyroidism had no observable effect on numbers of proliferative progenitors in the adult SGZ progenitor proliferation but their survival was reduced, suggesting a role of T₃ on the postmitotic progenitors (11, 12). The reasons for these differences may reside in (i) methods for the induction of hypothyroidism (ii) and potential differences in BrdU protocols used in these studies that may or may not include postmitotic cells.

In the SGZ, TRα1 has different effects on proliferation and differentiation (16, 35). First, progenitor proliferation is unaffected by TRα1 loss (TRα1^{-/-} mutant) or overexpression (TRα2^{-/-} mutant) (35). This finding correlates with the fact that TRα1 is not expressed in progenitors within the SGZ, but is highly expressed

in post-mitotic progenitors corresponding to immature neurons (35). Second, neurogenesis is increased in TRα1^{-/-} mice, whereas in TRα2^{-/-} mice (overexpression of TRα1), decreased survival reduces numbers of post-mitotic neuroblasts (35). These studies suggest that in the SGZ, T₃ acts at later steps than in the SVZ, in the post-mitotic progenitors (16, 35) (Figure 1A). Interestingly, the damaging effects of adult hypothyroidism on hippocampal neurogenesis are recapitulated in TRα2^{-/-} mice (35). The TRα2^{-/-} mutant, in which TRα1 is overexpressed due to the ablation of TRα2, exhibit a mixed hypo- and hyperthyroid phenotype: reduced levels of T₄/T₃ in serum, decreased growth rate and body weight, elevated heart rate suggesting that the increased TRα1 levels is associated with increased receptor effects (35, 36). In a hypothyroid context, TRα1 – in this mutant – acts as an aporeceptor due to limited T₃ availability. How the role of TRα1 aporeceptor affects adult SVZ neurogenesis is unknown. Examining this possibility should identify new TRα1 targets (of both liganded and unliganded receptors) involved in regulating adult neurogenesis.

In the SVZ, although TRα1 is absent from NSCs, it appears in proliferative *Dlx2*+ progenitors and is high in *DCX*+ neuroblasts, suggesting that TRα1 favors NSC commitment toward a neuronal phenotype [(15), Figure 1B]. This hypothesis is bolstered by the observation that TRα1 gain of function *in vivo* generates migrating neuroblasts entering the rostral migratory stream. Inversely, shRNA-mediated TRα1 loss of function increases numbers of SVZ NSC/progenitors. Moreover, hypothyroidism also increases NSC/progenitor populations, a situation recapitulated in mutant *TRα^o* mice (lacking all isoforms encoded by the *TRα* locus). In hypothyroidism, NSC/progenitors are blocked during interphase (13). Thus, absence of either TRα1 or T₃ induces similar effects: increasing NSC and progenitors pools, while decreasing neuroblast numbers.

In the adult SVZ, T₃, through TRα1, acts as a neurogenic switch by repressing a key gene involved in NSC pluripotency, *Sox2* (15) (Figure 1B). *In vivo* loss and gain of TRα1 function approaches demonstrated that *Sox2* is directly repressed by T₃/TRα1 in progenitors. Moreover, the progenitor to neuroblast transition – governed by T₃/TRα1 – may be reinforced by T₃ repression of *CyclinD1* and *c-Myc*, involved in cell cycle progression (13, 15, 37). Thus, T₃ could regulate adult SVZ homeostasis at two levels: (i) repression of a master gene involved in NSC pluripotency and (ii) repression of cell cycle regulators.

TH SIGNALING AND HYPOTHALAMIC NEUROGENESIS?

Some authors consider that certain tanycytes (glial-like cells) in the ependymal layer are NSCs. An emerging idea is that these tanycytes are diet-responsive adult NSCs, linking food intake, body weight, and energy balance to neuronal plasticity [for reviews, see (25, 26)]. Interestingly, T₃ is a strong regulator of energy metabolism at both peripheral and central, hypothalamic, levels (15). An exciting hypothesis is that T₃ may regulate adult hypothalamic neurogenesis and thereby modulate plasticity of hypothalamic neuronal networks regulating energy balance. Many components of TH signaling are expressed in tanycytes in the rodent brain (*D2*, *OATP1C1*, *MCT8*, see Figure 1C) and in turn, tanycyte activity is critical to control of the hypothalamic/pituitary/thyroid (HPT)

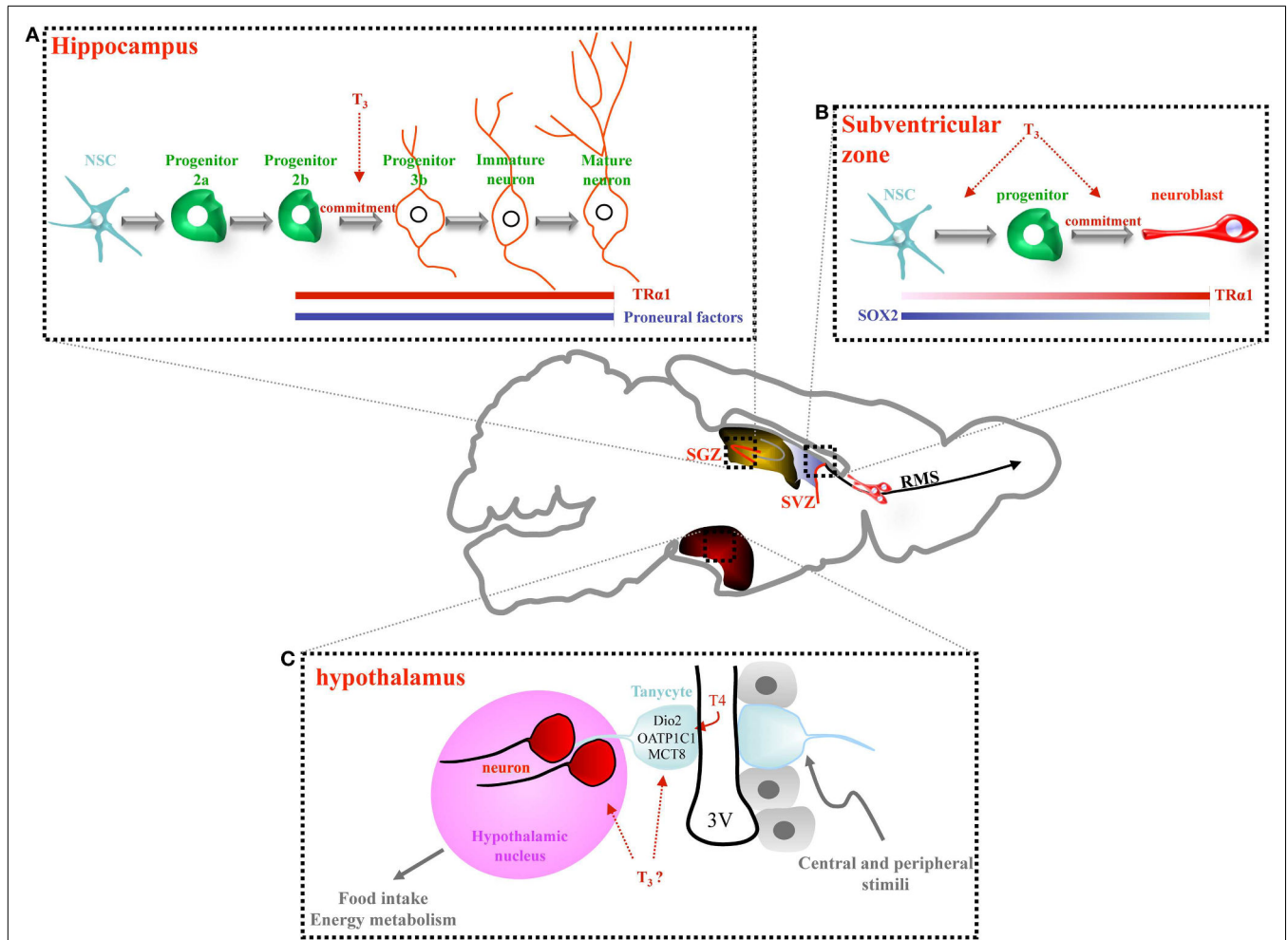


FIGURE 1 | Thyroid hormone signaling regulates adult neurogenesis in the hippocampus, the subventricular zone and, potentially, the hypothalamus. (A) In the hippocampal niche (SGZ), NSC gives rise proliferating progenitors (2a) and then, more committed progenitors (2b) and post-mitotic neuroblasts (type 3). Type 3 progenitors give rise to immature and mature granule neurons. A role of T_3 , in concert with $TR\alpha 1$, has been observed in non-proliferating progenitors, from type 2b cells to mature granule cell neurons. Adult-onset hypothyroidism or $TR\alpha 1$ overexpression ($TR\alpha 2^{-/-}$ mice) alters survival of post-mitotic neuroblasts, decreasing hippocampal neurogenesis. **(B)** In the adult SVZ, lining the lateral ventricle, three main cell types are located: NSCs that divide asymmetrically to give rise to proliferating progenitors. Progenitors divide rapidly producing neuroblasts that migrate along the rostral migratory stream (RMS) to the olfactory bulb (OB) where they differentiate into interneurons. $SOX2$ and $TR\alpha 1$ are inversely expressed within the SVZ: cells

expressing high levels of $TR\alpha 1$ express low levels of $SOX2$ (neuroblasts). T_3 is involved in both progenitor proliferation and determination. $TR\alpha 1$ overexpression in NSC and progenitors drives progenitor commitment toward a neuronal phenotype since cells overexpressing $TR\alpha 1$ are found in clusters entering the RMS. **(C)** In the adult hypothalamus, the third ventricle is lined by ependymal cells (in gray) interspersed with tanycytes (in blue). Some of these tanycytes are stem cells. They possess a long process that projects into hypothalamic nuclei (in pink). Some recent data support the idea that tanycytes are able to generate new neurons that migrate into adjacent hypothalamic nuclei. Tanycytes express many key actors of the TH pathway ($Dio2$, $OATP1C1$, and $MCT8$) thus, facilitating TH entry into the hypothalamus. These tanycytes could be considered as an “integrative platform” relaying central and peripheral signals to adapt adult neurogenesis to food intake and energy metabolism. A key role of TH in the regulation of adult hypothalamic neurogenesis is an exciting hypothesis.

axis (38). How TH status and signaling affect adult hypothalamic neurogenesis in relation to feeding and energy balance is an important future research question.

CONTROL OF T_3 AVAILABILITY DURING ADULT NEUROGENESIS

Some T_3 effects on stem cell biology can seem paradoxical, T_3 enhancing both proliferation and differentiation and exerting different actions at successive steps of neural commitment. The

biological outcome of TH signaling clearly relates to cellular context, notably, chromatin state and presence of ligand, TRs, and co-factors.

One hypothesis is that adult NSCs do not integrate T_3 signaling until neural determination is underway, as $TR\alpha 1$ appears in neural progenitors, with the signal increasing in neuroblasts (15). In the $TR\alpha 1$:GFP knock-in mouse (39), expression of $TR\alpha 1$:GFP was not investigated closely in the SVZ. Although more data is needed on the kinetics of TR expression, a critical factor will

be T_3 availability, largely determined by deiodinases. Two deiodinases are expressed in the brain, the activating deiodinase 2 (or D2, encoded by *Dio2*) and the inactivating deiodinase 3 (or D3, encoded by *Dio3*). However, there is little published data on control of TH availability during neural determination and the little available is from *in vitro* systems. For instance, during *in vitro* neuronal differentiation of a human embryonal carcinoma stem cell line (NT2 cells derived from a teratocarcinoma), TR α 1 and TR β 1 expression is down regulated, with TR α 2 expression unchanged (40). T_3 treatment induced stronger upregulation of *Dio3* in NT2 precursors than in differentiated cells.

Though hypothyroid brains show reduced NSC/precursor proliferation, no clear relationship between T_3 availability and control of NSC cell cycle has yet been established. Interestingly, *Dio3* expression correlates with proliferative status in solid tumors (41). This finding fits with *in vitro* data [from Ref. (42)] where *Dio3* expression is high in early progenitors compared to human embryonic stem cells and neural progenitors. The biological significance of this finding in terms of NSC biology is hard to decipher. According to current data, local hypothyroidism favors maintenance of NSC/progenitor populations (13, 15) with T_3 being a proliferation and neurogenic factor (15, 43). Similarly, expression of *Dio3* within the imprinted *dio3-dlk1* locus is associated with stemness (44). From an evolutionary point of view, the conservation of synteny in this locus among vertebrates seems to indicate that control of TH signaling is associated with stemness.

TH CONTROL OF ADULT NEUROGENESIS IN THE AGING BRAIN

Circulating TH levels decrease as a function of age in humans (45, 46) and rodents (47). In the aging human population, both increases and decreases in circulating TSH have been observed (48–51), suggesting reduced or impaired pituitary responses in elderly people. However, higher TSH is associated with greater longevity in numerous human cohorts [see for example: (52)]. Further, neurogenesis decreases with age (53–55). THs being vital for adult neurogenesis (13), it will be interesting to address the links between these phenomena during aging.

Among the numerous genes involved in adult neurogenesis, an increase in p16^{INKA4} (CDKN2a) has been causally related to neurogenic decline during aging (56). p16^{INKA4} can itself be inhibited by the synergistic action of Bmi1 and c-Myc (57, 58). Direct activation of c-Myc by T_3 through a TRE was shown in *Xenopus* intestinal stem cells (59), whereas in adult SVZ T_3 directly inhibits a c-myc reporter construct through an identified TRE (13). Thus, a potential indirect regulation of p16^{INKA4} by T_3 could differ according to species, cell populations and function of developmental context.

DECREASING CIRCULATING THs ARE ASSOCIATED WITH COGNITIVE DECLINE AND NEURODEGENERATION

Cognitive deficiency is frequently observed in the elderly humans and in aging rodents (60, 61). Marked effects are seen on learning and memory, processes that implicate neurogenesis in the dentate gyrus of the hippocampus (62, 63), a structure that diminishes with age and in many neurodegenerative pathologies (62, 64). TH treatment can improve cognitive performances in hypothyroid

mice (8) and in humans (65), leading to speculation that cognitive deficiency can be causally linked to reduced TH signaling in aging. Despite declining neurogenesis with age, Yeung et al. recently demonstrated that 13-month-old mice still have the capacity to generate new neurons after a selective neuronal loss in the hippocampus, but without cognitive recovery (66). These results suggest that although some neurogenesis can still occur in aged mice, it might not be sufficient to compensate for neurodegeneration. TH facilitate repair after neurodegenerative lesions (67, 68). It is plausible that their decline is linked to decreased repair in neurodegenerative diseases of aging.

Mitochondrial biogenesis also reduces with aging (69), along with an increase in mitochondrial dysfunction (70). Thyroid signaling influences cellular metabolism and mitochondrial functions (71). Impaired thyroid signaling impacts mitochondrial respiration and hence reactive oxygen species (ROS) production, with either beneficial or damaging cellular effects (72). Since activity changes in mitochondrial respiration are linked to changes in cell proliferation rates (73), such as those occurring in the early phases of NSC differentiation, it can be postulated that mitochondrial dysfunctions impact neurogenesis, again linking reduced neurodegenerative repair capacity to decreased circulating T_3/T_4 levels. However, little is known about control of T_4/T_3 availability (deiodinase and TH transporter expression) during aging in the NSC niches, nor on the consequences of these modification for NSC metabolism, questions that it will be interesting to address.

Circadian rhythm perturbations also increase with age (74, 75). TSH (and to a lesser extent T_3) levels display circadian rhythms (76–78), as does neurogenesis (79). Moreover, circadian clock-associated genes influence neuronal differentiation of adult NSC/progenitors (80). Two major circadian rhythm regulation genes, *Bmal1* and *Clock*, are cooperatively activated by *Sirt1* and *Pgc1a*, a function that changes with age (81). In turn, SIRT1 can act as a coactivator of TR β (82) and is implicated in neurogenesis (83). Further, *Pgc1a* is directly regulated by T_3 (84), and can itself modulate *Thra* expression (85). Some circadian clock-related genes are regulated by T_3 (86). Thus, multiple arguments converge to suggest that impairments of circadian rhythm with age can be linked to changes in thyroid signaling, thereby impacting neurogenesis.

Induction of a chronic inflammatory state has been associated with aging (87, 88), and inflammation can significantly reduce neurogenesis (89–91). Brain inflammation is characterized by macrophages and microglia producing proinflammatory cytokines (TNF α , IL-1 β , and IL-6) during prolonged inflammation. These same cytokines increase in the aging brain (92), and may enhance gliogenesis at the expense of neurogenesis (93–96). TNF α activates the p38 MAP kinase (MAPKp38) that triggers IL-1 β production (97). As T_3 can represses MAPKp38 activation by TNF α (98), reduced T_3 dependent repression of proinflammatory cytokines with aging could negatively impact neurogenesis.

CONCLUSION

Thyroid hormone is one of the few endocrine signals that exerts marked effects on both hippocampal and SVZ neurogenesis in adult mammalian brains. Although distinct differences are noted in expression of TRs and the consequences of their activation in these respective niches, it is well established that hypothyroidism

adversely affects both populations. Given the frequency of thyroid disorders in the general population, notably in women and during aging, it is important to consider the consequences of these disorders on the incidence and severity of psychiatric and neurodegenerative disease.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Association Française contre les Myopathies (AFM) [grant number MNM1 2012-14685], European Union contract Switchbox [grant number FP7-Health-2010 n° 259772] and the French ANR Thrast [grant number 11BSV2 019 02].

REFERENCES

- de Escobar GM, Obregón MJ, del Rey FE. Maternal thyroid hormones early in pregnancy and fetal brain development. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* (2004) **18**:225–48. doi:10.1016/j.beem.2004.03.012
- de Escobar GM, Obregón MJ, del Rey FE. Iodine deficiency and brain development in the first half of pregnancy. *Public Health Nutr* (2007) **10**:1554–70. doi:10.1017/S1368980007360928
- Bernal J. Thyroid hormone receptors in brain development and function. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* (2007) **3**:249–59. doi:10.1038/ncpendmet0424
- Dugbartey AT. Neurocognitive aspects of hypothyroidism. *Arch Intern Med* (1998) **158**:1413–8. doi:10.1001/archinte.158.13.1413
- Fernández-Lamo I, Montero-Pedrazuela A, Delgado-García JM, Guadaño-Ferraz A, Gruart A. Effects of thyroid hormone replacement on associative learning and hippocampal synaptic plasticity in adult hypothyroid rats. *Eur J Neurosci* (2009) **30**(4):679–92. doi:10.1111/j.1460-9568.2009.06862.x
- Mirescu C, Gould E. Stress and adult neurogenesis. *Hippocampus* (2006) **16**:233–8. doi:10.1002/hipo.20155
- Breteler MM, van Duijn CM, Chandra V, Fratiglioni L, Graves AB, Heyman A, et al. Medical history and the risk of Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. EURODEM Risk Factors Research Group. *Int J Epidemiol* (1991) **20**(Suppl 2):S36–42. doi:10.1093/ije/20.Supplement_2.S36
- Fu AL, Zhou CY, Chen X. Thyroid hormone prevents cognitive deficit in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* (2010) **58**:722–9. doi:10.1016/j.neuropharm.2009.12.020
- Ming G-L, Song H. Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron* (2011) **70**:687–702. doi:10.1016/j.neuron.2011.05.001
- Suh H, Deng W, Gage FH. Signaling in adult neurogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* (2009) **25**:253–75. doi:10.1146/annurev.cellbio.042308.113256
- Ambrogini P, Cuppini R, Ferri P, Mancini C, Ciaroni S, Voci A, et al. Thyroid hormones affect neurogenesis in the dentate gyrus of adult rat. *Neuroendocrinology* (2005) **81**:244–53. doi:10.1159/000087648
- Desouza LA, Ladiwala U, Daniel SM, Agashe S, Vaidya RA, Vaidya VA. Thyroid hormone regulates hippocampal neurogenesis in the adult rat brain. *Mol Cell Neurosci* (2005) **29**:414–26. doi:10.1016/j.mcn.2005.03.010
- Lemkine GF, Raj A, Alfama G, Turque N, Hassani Z, Alegria-Prévot O, et al. Adult neural stem cell cycling in vivo requires thyroid hormone and its alpha receptor. *FASEB J* (2005) **19**:863–5. doi:10.1096/fj.04-2916fje
- Montero-Pedrazuela A, Venero C, Lavado-Autric R, Fernández-Lamo I, García-Verdugo JM, Bernal J, et al. Modulation of adult hippocampal neurogenesis by thyroid hormones: implications in depressive-like behavior. *Mol Psychiatry* (2006) **11**:361–71. doi:10.1038/sj.mp.4001802
- López-Juárez A, Remaud S, Hassani Z, Jolivet P, Pierre Simons J, Sontag T, et al. Thyroid hormone signaling acts as a neurogenic switch by repressing Sox2 in the adult neural stem cell niche. *Cell Stem Cell* (2012) **10**:531–43. doi:10.1016/j.stem.2012.04.008
- Kapoor R, Desouza LA, Nanavaty IN, Kernie SG, Vaidya VA. Thyroid hormone accelerates the differentiation of adult hippocampal progenitors. *J Neuroendocrinol* (2012) **24**:1259–71. doi:10.1111/j.1365-2826.2012.02329.x
- Smith JW, Evans AT, Costall B, Smythe JW. Thyroid hormones, brain function and cognition: a brief review. *Neurosci Biobehav Rev* (2002) **26**:45–60. doi:10.1016/S0149-7634(01)00037-9
- Joffe RT. Should thyroid replacement therapy be considered for patients with treatment-refractory depression? *J Psychiatry Neurosci* (2002) **27**:80.
- Henley WN, Koehnle TJ. Thyroid hormones and the treatment of depression: an examination of basic hormonal actions in the mature mammalian brain. *Synapse* (1997) **27**:36–44. doi:10.1002/(SICI)1098-2396(199709)27:1<36::AID-SYN4>3.0.CO;2-E
- Bauer M, Heinz A, Whybrow PC. Thyroid hormones, serotonin and mood: of synergy and significance in the adult brain. *Mol Psychiatry* (2002) **7**:140–56. doi:10.1038/sj.mp.4000963
- Wheeler SM, McAndrews MP, Sheard ED, Rovet J. Visuospatial associative memory and hippocampal functioning in congenital hypothyroidism. *J Int Neuropsychol Soc* (2012) **18**:49–56. doi:10.1017/S1355617711001378
- Cooke G, Mullally S, Correia N, O'Mara S, Gibney J. Hippocampal volume is decreased in adult-onset hypothyroidism. *Thyroid* (2013) **24**:433–40. doi:10.1089/thy.2013.0058
- Quiñones-Hinojosa A, Sanai N, Soriano-Navarro M, Gonzalez-Perez O, Mirzadeh Z, Gil-Perotin S, et al. Cellular composition and cytoarchitecture of the adult human subventricular zone: a niche of neural stem cells. *J Comp Neurol* (2006) **494**:415–34. doi:10.1002/cne.20798
- Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Huttner HB, et al. Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell* (2013) **153**:1219–27. doi:10.1016/j.cell.2013.05.002
- Bolborea M, Dale N. Hypothalamic tanycytes: potential roles in the control of feeding and energy balance. *Trends Neurosci* (2013) **36**:91–100. doi:10.1016/j.tins.2012.12.008
- Cheng M-F. Hypothalamic neurogenesis in the adult brain. *Front Neuroendocrinol* (2013) **34**:167–78. doi:10.1016/j.yfrne.2013.05.001
- Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* (1998) **4**(11):1313–7. doi:10.1038/3305
- Arellano JI, Rakic P. Neuroscience: gone with the wean. *Nature* (2011) **478**:333–4. doi:10.1038/478333a
- Sanai N, Nguyen T, Ihrie RA, Mirzadeh Z, Tsai H-H, Wong M, et al. Corridors of migrating neurons in the human brain and their decline during infancy. *Nature* (2011) **478**:382–6. doi:10.1038/nature10487
- Wang X, Lui JH, Kriegstein AR. Orienting fate: spatial regulation of neurogenic divisions. *Neuron* (2011) **72**:191–3. doi:10.1016/j.neuron.2011.10.003
- Ernst A, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Perl S, Tisdale J, et al. Neurogenesis in the striatum of the adult human brain. *Cell* (2014) **156**(5):1072–83. doi:10.1016/j.cell.2014.01.044
- Görizt C, Frisén J. Neural stem cells and neurogenesis in the adult. *Cell Stem Cell* (2012) **10**:657–9. doi:10.1016/j.stem.2012.04.005
- Knott R, Singec I, Ditter M, Pantazis G, Capetian P, Meyer RP, et al. Murine features of neurogenesis in the human hippocampus across the lifespan from 0 to 100 years. *PLoS One* (2010) **5**:e8809. doi:10.1371/journal.pone.0008809
- Kapoor R, Ghosh H, Nordstrom K, Vennstrom B, Vaidya VA. Loss of thyroid hormone receptor β is associated with increased progenitor proliferation and NeuroD positive cell number in the adult hippocampus. *Neurosci Lett* (2011) **487**:199–203. doi:10.1016/j.neulet.2010.10.022
- Kapoor R, van Hogerlinden M, Wallis K, Ghosh H, Nordstrom K, Vennstrom B, et al. Unliganded thyroid hormone receptor alpha1 impairs adult hippocampal neurogenesis. *FASEB J* (2010) **24**:4793–805. doi:10.1096/fj.10-161802
- Saltó C, Kindblom JM, Johansson C, Wang Z, Gullberg H, Nordström K, et al. Ablation of TRalpha2 and a concomitant overexpression of Alpha1 yields a mixed hypo- and hyperthyroid phenotype in mice. *Mol Endocrinol* (2001) **15**(12):2115–28. doi:10.1210/mend.15.12.0750
- Hassani Z, François J-C, Alfama G, Dubois GM, Paris M, Giovannangeli C, et al. A hybrid CMV-H1 construct improves efficiency of PEI-delivered shRNA in the mouse brain. *Nucleic Acids Res* (2007) **35**:e65. doi:10.1093/nar/gkm152
- Fekete C, Lechan RM. Central regulation of hypothalamic-pituitary-thyroid axis under physiological and pathophysiological conditions. *Endocr Rev* (2013) **35**:159–94. doi:10.1210/er.2013-1087
- Wallis K, Susi D, van Hogerlinden M, Nordström K, Mittag J, Vennström B. The thyroid hormone receptor Alpha1 protein is expressed in embryonic postmitotic neurons and persists in most adult neurons. *Mol Endocrinol* (2010) **24**(10):1904–16. doi:10.1210/me.2010-0175
- Chan S, McCabe CJ, Visser TJ, Franklyn JA, Kilby MD. Thyroid hormone responsiveness in N-Tera-2 cells. *J Endocrinol* (2003) **178**:159–67. doi:10.1677/joe.0.1780159
- Dentice M, Marsili A, Ambrosio R, Guardiola O, Sibilio A, Paik J-H, et al. The FoxO3/type 2 deiodinase pathway is required for normal mouse myogenesis

- and muscle regeneration. *J Clin Invest* (2010) **120**:4021–30. doi:10.1172/JCI43670
42. Wu JQ, Habegger L, Noisa P, Szekely A, Qiu C, Hutchison S, et al. Dynamic transcriptomes during neural differentiation of human embryonic stem cells revealed by short, long, and paired-end sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2010) **107**:5254–9. doi:10.1073/pnas.0914114107
 43. Chen C, Zhou Z, Zhong M, Zhang Y, Li M, Zhang L, et al. Thyroid hormone promotes neuronal differentiation of embryonic neural stem cells by inhibiting STAT3 signaling through TR α 1. *Stem Cells Dev* (2012) **21**:2667–81. doi:10.1089/scd.2012.0023
 44. Liu L, Luo G-Z, Yang W, Zhao X, Zheng Q, Lv Z, et al. Activation of the imprinted Dlk1-Dio3 region correlates with pluripotency levels of mouse stem cells. *J Biol Chem* (2010) **285**:19483–90. doi:10.1074/jbc.M110.131995
 45. Chakraborti S, Chakraborti T, Mandal M, Das S, Batabyal SK. Hypothalamic-pituitary-thyroid axis status of humans during development of ageing process. *Clin Chim Acta* (1999) **288**:137–45. doi:10.1016/S0009-8981(99)00061-3
 46. Hertoghe T. The “multiple hormone deficiency” theory of aging: is human senescence caused mainly by multiple hormone deficiencies? *Ann NY Acad Sci* (2005) **1057**:448–65. doi:10.1196/annals.1322.035
 47. Cao L, Wang F, Yang Q-G, Jiang W, Wang C, Chen Y-P, et al. Reduced thyroid hormones with increased hippocampal SNAP-25 and Munc18-1 might involve cognitive impairment during aging. *Behav Brain Res* (2012) **229**:131–7. doi:10.1016/j.bbr.2012.01.014
 48. Boucai L, Surks MI. Reference limits of serum TSH and free T4 are significantly influenced by race and age in an urban outpatient medical practice. *Clin Endocrinol (Oxf)* (2009) **70**:788–93. doi:10.1111/j.1365-2265.2008.03390.x
 49. Hadlow NC, Rothacker KM, Wardrop R, Brown SJ, Lim EM, Walsh JP. The relationship between TSH and free T4 in a large population is complex and non-linear and differs by age and sex. *J Clin Endocrinol Metab* (2013) **98**:2936–43. doi:10.1210/jc.2012-4223
 50. Surks MI, Hollowell JG. Age-specific distribution of serum thyrotropin and antithyroid antibodies in the US population: implications for the prevalence of subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* (2007) **92**:4575–82. doi:10.1210/jc.2007-1499
 51. Peeters RP. Thyroid hormones and aging. *Horm Athens Greece* (2008) **7**:28–35. doi:10.14310/horm.2002.1111035
 52. Rozing MP, Houwing-Duistermaat JJ, Slagboom PE, Beekman M, Frölich M, de Craen AJM, et al. Familial longevity is associated with decreased thyroid function. *J Clin Endocrinol Metab* (2010) **95**:4979–84. doi:10.1210/jc.2010-0875
 53. Enwere E, Shingo T, Gregg C, Fujikawa H, Ohta S, Weiss S. Aging results in reduced epidermal growth factor receptor signaling, diminished olfactory neurogenesis, and deficits in fine olfactory discrimination. *J Neurosci* (2004) **24**:8354–65. doi:10.1523/JNEUROSCI.2751-04.2004
 54. Gould E, Reeves AJ, Fallah M, Tanapat P, Gross CG, Fuchs E. Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1999) **96**:5263–7. doi:10.1073/pnas.96.9.5263
 55. Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci* (1996) **16**:2027–33.
 56. Molofsky AV, Slutsky SG, Joseph NM, He S, Pardal R, Krishnamurthy J, et al. Increasing p16INK4a expression decreases forebrain progenitors and neurogenesis during ageing. *Nature* (2006) **443**:448–52. doi:10.1038/nature05091
 57. Guney I, Wu S, Sedivy JM. Reduced c-Myc signaling triggers telomere-independent senescence by regulating Bmi-1 and p16(INK4a). *Proc Natl Acad Sci U S A* (2006) **103**:3645–50. doi:10.1073/pnas.0600069103
 58. Jacobs JJ, Kieboom K, Marino S, DePinho RA, van Lohuizen M. The oncogene and Polycomb-group gene bmi-1 regulates cell proliferation and senescence through the ink4a locus. *Nature* (1999) **397**:164–8. doi:10.1038/16476
 59. Fujimoto K, Matsuura K, Hu-Wang E, Lu R, Shi Y-B. Thyroid hormone activates protein arginine methyltransferase 1 expression by directly inducing c-Myc transcription during Xenopus intestinal stem cell development. *J Biol Chem* (2012) **287**:10039–50. doi:10.1074/jbc.M111.335661
 60. Bach ME, Barad M, Son H, Zhuo M, Lu YF, Shih R, et al. Age-related defects in spatial memory are correlated with defects in the late phase of hippocampal long-term potentiation in vitro and are attenuated by drugs that enhance the cAMP signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1999) **96**:5280–5. doi:10.1073/pnas.96.9.5280
 61. Cao L, Jiang W, Wang F, Yang Q-G, Wang C, Chen Y-P, et al. The reduced serum free triiodothyronine and increased dorsal hippocampal SNAP-25 and Munc18-1 had existed in middle-aged CD-1 mice with mild spatial cognitive impairment. *Brain Res* (2013) **1540**:9–20. doi:10.1016/j.brainres.2013.09.034
 62. Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, Shors TJ. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci* (1999) **2**:260–5. doi:10.1038/6365
 63. van Praag H, Schinder AF, Christie BR, Toni N, Palmer TD, Gage FH. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* (2002) **415**:1030–4. doi:10.1038/4151030a
 64. Zhao C, Deng W, Gage FH. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell* (2008) **132**:645–60. doi:10.1016/j.cell.2008.01.033
 65. Kramer CK, von Mühlen D, Kritiz-Silverstein D, Barrett-Connor E. Treated hypothyroidism, cognitive function, and depressed mood in old age: the Rancho Bernardo Study. *Eur J Endocrinol* (2009) **161**:917–21. doi:10.1530/EJE-09-0606
 66. Yeung ST, Myczek K, Kang AP, Chabrier MA, Baglietto-Vargas D, Laferla FM. Impact of hippocampal neuronal ablation on neurogenesis and cognition in the aged brain. *Neuroscience* (2014) **259**:214–22. doi:10.1016/j.neuroscience.2013.11.054
 67. Calzà L, Fernandez M, Giardino L. Cellular approaches to central nervous system remyelination stimulation: thyroid hormone to promote myelin repair via endogenous stem and precursor cells. *J Mol Endocrinol* (2010) **44**:13–23. doi:10.1677/JME-09-0067
 68. Lin H-Y, Davis FB, Luidens MK, Mousa SA, Cao JH, Zhou M, et al. Molecular basis for certain neuroprotective effects of thyroid hormone. *Front Mol Neurosci* (2011) **4**:29. doi:10.3389/fnfmol.2011.00029
 69. Derbré F, Gomez-Cabrera MC, Nascimento AL, Sanchis-Gomar F, Martinez-Bello VE, Tresguerres JAF, et al. Age associated low mitochondrial biogenesis may be explained by lack of response of PGC-1 α to exercise training. *Age Dordr* (2012) **34**:669–79. doi:10.1007/s11357-011-9264-y
 70. Park CB, Larsson N-G. Mitochondrial DNA mutations in disease and aging. *J Cell Biol* (2011) **193**:809–18. doi:10.1083/jcb.201010024
 71. Weitzel JM, Iwen KA. Coordination of mitochondrial biogenesis by thyroid hormone. *Mol Cell Endocrinol* (2011) **342**:1–7. doi:10.1016/j.mce.2011.05.009
 72. Long YC, Tan TMC, Inoue T, Tang BL. The biochemistry and cell biology of aging: metabolic regulation through mitochondrial signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab* (2014) **306**:E581–91. doi:10.1152/ajpendo.00665.2013
 73. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* (2009) **324**:1029–33. doi:10.1126/science.1160809
 74. Campos Costa I, Nogueira Carvalho H, Fernandes L. Aging, circadian rhythms and depressive disorders: a review. *Am J Neurodegener Dis* (2013) **2**:228–46.
 75. Froy O. Circadian rhythms, aging, and life span in mammals. *Physiology (Bethesda)* (2011) **26**:225–35. doi:10.1152/physiol.00012.2011
 76. Bitman J, Kahl S, Wood DL, Lefcourt AM. Circadian and ultradian rhythms of plasma thyroid hormone concentrations in lactating dairy cows. *Am J Physiol* (1994) **266**:R1797–803.
 77. Gancedo B, Alonso-Gómez AL, de Pedro N, Delgado MJ, Alonso-Bedate M. Changes in thyroid hormone concentrations and total contents through ontogeny in three anuran species: evidence for daily cycles. *Gen Comp Endocrinol* (1997) **107**:240–50. doi:10.1006/gcen.1997.6922
 78. Morris CJ, Aeschbach D, Scheer FAJL. Circadian system, sleep and endocrinology. *Mol Cell Endocrinol* (2012) **349**:91–104. doi:10.1016/j.mce.2011.09.003
 79. Bouchard-Cannon P, Mendoza-Viveros L, Yuen A, Kærn M, Cheng H-YM. The circadian molecular clock regulates adult hippocampal neurogenesis by controlling the timing of cell-cycle entry and exit. *Cell Rep* (2013) **5**:961–73. doi:10.1016/j.celrep.2013.10.037
 80. Kimiwa T, Sakurai M, Ohashi H, Aoki S, Tominaga T, Wada K. Clock genes regulate neurogenic transcription factors, including NeuroD1, and the neuronal differentiation of adult neural stem/progenitor cells. *Neurochem Int* (2009) **54**:277–85. doi:10.1016/j.neuint.2008.12.005
 81. Chang H-C, Guarente L. SIRT1 mediates central circadian control in the SCN by a mechanism that decays with aging. *Cell* (2013) **153**:1448–60. doi:10.1016/j.cell.2013.05.027
 82. Suh JH, Sieglaff DH, Zhang A, Xia X, Cvoro A, Winnier GE, et al. SIRT1 is a direct coactivator of thyroid hormone receptor β 1 with gene-specific actions. *PLoS One* (2013) **8**:e70097. doi:10.1371/journal.pone.0070097

83. Rafalski VA, Ho PP, Brett JO, Ucar D, Dugas JC, Pollina EA, et al. Expansion of oligodendrocyte progenitor cells following SIRT1 inactivation in the adult brain. *Nat Cell Biol* (2013) **15**:614–24. doi:10.1038/ncb2735
84. Wulf A, Harnett A, Kröger M, Kebenko M, Wetzel MG, Weitzel JM. T3-mediated expression of PGC-1alpha via a far upstream located thyroid hormone response element. *Mol Cell Endocrinol* (2008) **287**:90–5. doi:10.1016/j.mce.2008.01.017
85. Thijssen-Timmer DC, Schiphorst MP-T, Kwakkel J, Emter R, Kralli A, Wiersinga WM, et al. PGC-1alpha regulates the isoform mRNA ratio of the alternatively spliced thyroid hormone receptor alpha transcript. *J Mol Endocrinol* (2006) **37**:251–7. doi:10.1677/jme.1.01914
86. Diez D, Grijota-Martinez C, Agretti P, De Marco G, Tonacchera M, Pinchera A, et al. Thyroid hormone action in the adult brain: gene expression profiling of the effects of single and multiple doses of triiodo-L-thyronine in the rat striatum. *Endocrinology* (2008) **149**(8):3989–4000. doi:10.1210/en.2008-0350
87. Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev* (2007) **128**:92–105. doi:10.1016/j.mad.2006.11.016
88. Strohacker K, Breslin WL, Carpenter KC, McFarlin BK. Aged mice have increased inflammatory monocyte concentration and altered expression of cell-surface functional receptors. *J Biosci* (2012) **37**:55–62. doi:10.1007/s12038-011-9169-z
89. Butovsky O, Ziv Y, Schwartz A, Landa G, Talpalar AE, Pluchino S, et al. Microglia activated by IL-4 or IFN-gamma differentially induce neurogenesis and oligodendrogenesis from adult stem/progenitor cells. *Mol Cell Neurosci* (2006) **31**:149–60. doi:10.1016/j.mcn.2005.10.006
90. Ekdahl CT, Claassen J-H, Bonde S, Kokaia Z, Lindvall O. Inflammation is detrimental for neurogenesis in adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2003) **100**:13632–7. doi:10.1073/pnas.2234031100
91. Monje ML, Toda H, Palmer TD. Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. *Science* (2003) **302**:1760–5. doi:10.1126/science.1088417
92. Terao A, Apte-Deshpande A, Dousman L, Morairty S, Eynon BP, Kilduff TS, et al. Immune response gene expression increases in the aging murine hippocampus. *J Neuroimmunol* (2002) **132**:99–112. doi:10.1016/S0165-5728(02)00317-X
93. Koo JW, Duman RS. IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2008) **105**:751–6. doi:10.1073/pnas.0708092105
94. Lan X, Chen Q, Wang Y, Jia B, Sun L, Zheng J, et al. TNF- α affects human cortical neural progenitor cell differentiation through the autocrine secretion of leukemia inhibitory factor. *PLoS One* (2012) **7**:e50783. doi:10.1371/journal.pone.0050783
95. Vallières L, Campbell IL, Gage FH, Sawchenko PE. Reduced hippocampal neurogenesis in adult transgenic mice with chronic astrocytic production of interleukin-6. *J Neurosci* (2002) **22**:486–92.
96. Zunszain PA, Anacker C, Cattaneo A, Choudhury S, Musaelyan K, Myint AM, et al. Interleukin-1 β : a new regulator of the kynurenine pathway affecting human hippocampal neurogenesis. *Neuropsychopharmacology* (2012) **37**:939–49. doi:10.1038/npp.2011.277
97. Kim SH, Smith CJ, Van Eldik LJ. Importance of MAPK pathways for microglial pro-inflammatory cytokine IL-1 beta production. *Neurobiol Aging* (2004) **25**:431–9. doi:10.1016/S0197-4580(03)00126-X
98. Lasa M, Gil-Araujo B, Palafox M, Aranda A. Thyroid hormone antagonizes tumor necrosis factor-alpha signaling in pituitary cells through the induction of dual specificity phosphatase 1. *Mol Endocrinol* (2010) **24**:412–22. doi:10.1210/me.2009-0298

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

Received: 31 January 2014; accepted: 14 April 2014; published online: 28 April 2014.
Citation: Remaud S, Gothié J-D, Morvan-Dubois G and Demeneix BA (2014) Thyroid hormone signaling and adult neurogenesis in mammals. *Front. Endocrinol.* **5**:62. doi: 10.3389/fendo.2014.00062

This article was submitted to *Thyroid Endocrinology*, a section of the journal *Frontiers in Endocrinology*.

Copyright © 2014 Remaud, Gothié, Morvan-Dubois and Demeneix. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Annexe IV : Poster : Impact of thyroid status on radial glial to neural stem cell transition in the developing brain and on p57^{kip2} in adult neurogenesis

Poster présenté à la session d'introduction du *JSPS Summer Program 2014*, le 13 juin 2014 au *Shonan Village Center Auditorium*, Hayama, Kanagawa, Japon.

Impact of thyroid status on radial glial to neural stem cell transition in the developing brain and on p57^{kip2} in adult neurogenesis

Jean-David GOTHÉ¹, Hiroki KAWAI², Shohei FURUTACHI², Sylvie REMAUD¹, Barbara A. DEMENEIX¹ and Yukiko GOTOH²

¹Department of Regulation, Development and Molecular Diversity, Muséum National d'Histoire Naturelle USM501, 7 rue Cuvier, CP32, 75231 Paris, FRANCE. Email address : jdgothie@mnhn.fr
²Laboratory of Molecular Biology, Main Bldg. 3F No. 333-338, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, JAPAN

INTRODUCTION

Thyroid hormones (THs) play vital roles in brain organization and function at all life stages, particularly during perinatal brain development¹. THs also modulate proliferation and commitment of progenitor cells in neurogenic niches of the adult mammalian brain. Progenitor cells arise from asymmetric division of neural stem cells (NSCs)². Adult NSCs are derived from embryonic radial glial cells (RGCs)³. Hypothyroidism at mid-gestation severely impairs maturation of RGCs in the developing brain of the fetus⁴, but the impact of THs on adult NSCs generation from RGCs is not known. The importance of the p57^{kip2} gene in adult neurogenesis has recently been proven⁵. It also has been shown that THs can modulate p57^{kip2} expression in pituitary gland tumor cells⁶, raising the question of whether THs and p57^{kip2} signalling pathways interact during adult neurogenesis. Our collaboration will address, first, the impact of THs on the RGC to NSC transition in the perinatal brain, and second, THs signalling impact on p57^{kip2} expression in the different cell types of the neurogenic lineage in the adult brain. To address the first question, we will induce hypothyroidism at the end of gestation in mice, producing hypothyroidism in the pups. For the second question, we will apply a protocol of physiological neurogenesis induction in adult mice under different thyroid states.

What is the impact of perinatal hypothyroidism on neural stem cell formation ?

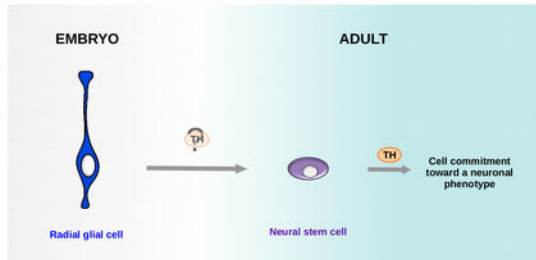


Figure 1: Embryonic radial glial cells (RGCs) give rise to adult neural stem cells (NSCs)
 Thyroid hormones (THs) are needed for NSCs commitment in the adult brain, but their influence on the cell transition from RGCs to adult NSCs is not known.

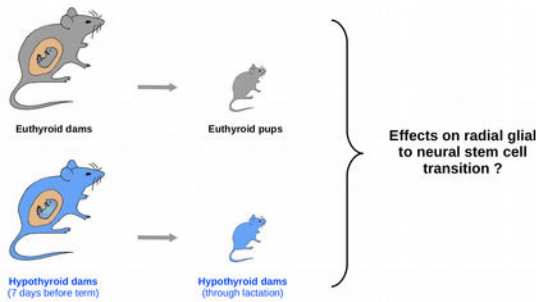


Figure 2: Experimental design for embryonic RGCs -> adult NSCs transition in different thyroid statuses
 Dams will be fed with Propylthiouracil (PTU) diet for 7 days before birth and during lactation to render the pups hypothyroid. Quantification of RGCs and NSCs in the neurogenic niches will be studied in the pups brains using specific cell markers.

What is the influence of thyroid hormones on p57^{kip2} during adult neurogenesis?

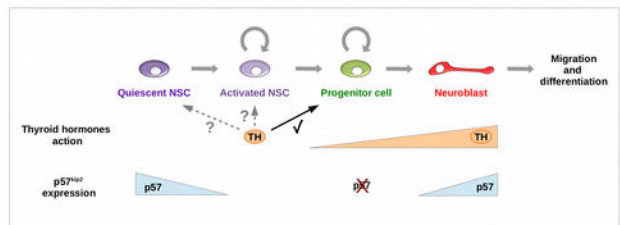


Figure 3: Expression pattern of the p57^{kip2} gene and role of the thyroid hormones (TH) during adult neural stem cell (NSC) activation and commitment toward a neuroblast phenotype^{2,5}

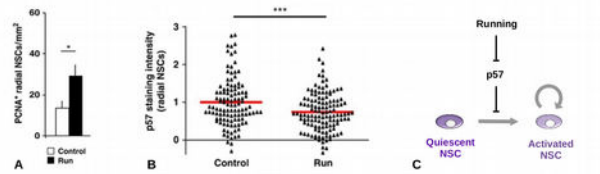


Figure 4: Reduction of p57^{kip2} in NSCs contributes to neurogenesis induction by running⁹
 A. Access to a running wheel for 12 days induces an increase in activated NSCs (PCNA: proliferating cell nuclear antigen). B. Running reduces the intensity of p57 staining in NSCs. C. Proposed model for induction of neurogenesis through inhibition of p57.

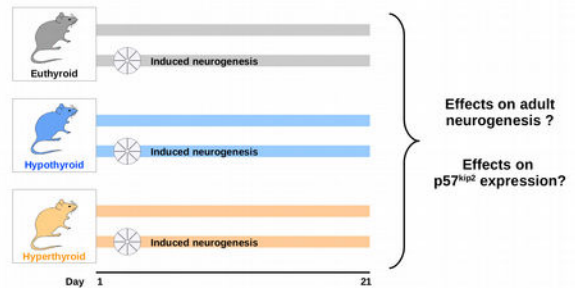


Figure 5: Experimental design for physiological neurogenesis induction in adult mice brain with different thyroid status

PERSPECTIVES

Thyroid hormones deficiency during specific time windows of the brain development can lead to irreversible brain damage. Our research will shed light on the impact of hypothyroidism during perinatal development on the generation of the adult NSC pool. Given that both THs and p57^{kip2} have key roles in neurogenesis, this collaborative investigation on cross-talk between these two factors will allow a better understanding of brain development and adult neurogenesis regulation in a physiological context, critical to develop new strategies for brain repair (neurodegenerative pathologies).

REFERENCES

- Bernal J. Thyroid hormone receptors in brain development and function. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* 3, 249–259 (2007).
- López-Juárez A, et al. Thyroid hormone signaling acts as a neurogenic switch by repressing Sox2 in the adult neural stem cell niche. *Cell Stem Cell* 10, 531–543 (2012).
- Merkle F. T., Tramontin A. D., Garcia-Verdugo J. M. & Alvarez-Buylla A. Radial glia give rise to adult neural stem cells in the subventricular zone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101 (2004).
- Martinez-Gallán J. R. et al. Early effects of iodine deficiency on radial glial cells of the hippocampus of the rat fetus. A model of neurological cretinism. *J. Clin. Invest.* 99, 2701–2709 (1997).
- Furutachi S., Matsumoto A., Nakayama K. I. & Gotoh Y. p57 controls adult neural stem cell quiescence and modulates the pace of lifelong neurogenesis. *EMBO J.* 32, 970–981 (2013).



I.5. Annexe V : Poster : *Thyroid hormones and cell metabolism cooperate in determining adult neural stem cell fate*

Poster présenté à l'école d'été *FEBS Advanced Lecture Course - Nuclear Receptor Signaling in Physiology and Disease*, du 24 au 26 août 2015 au *Spetses Hotel*, Spetses, Grèce.

Prix du meilleur poster.



**Karolinska
Institutet**

FEBS Advanced Lecture Course ALC15-104

Spetses Summer School on Nuclear Receptor Signaling in Physiology and Disease

Island of Spetses, Greece
August 23 – August 28, 2015

Presents the

Best Poster Award to

Jean-David Gollig

Spetses, August 27, 2015

E. Treuter

Eckardt Treuter, responsible organizer

Thyroid hormones and cell metabolism cooperate in determining adult neural stem cell fate

Jean-David GOTHIE, Sylvie REMAUD, Marine PERRET-JEANNERET and Barbara DEMENEIX



Muséum National d'Histoire Naturelle, CNRS UMR 7221, 7 rue Cuvier, 75231 Paris cedex 05, FRANCE
jdgohie@mnhn.fr

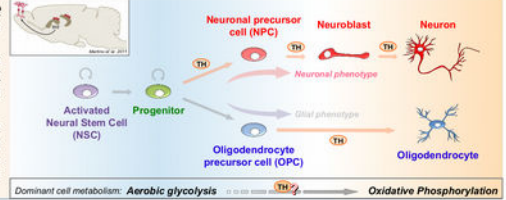


Introduction

Thyroid hormones (THs), through their nuclear receptors TR α and TR β , are implicated in maturation of both neurons (López-Juárez et al., 2012) and oligodendrocytes (Barres et al., 1994). However, little is known about the early role of THs on the cell fate decision between neuronal and glial progenitors.

The adult subventricular zone (SVZ) is one of the major neurogenic niches in the adult mammalian brain. Our team has previously shown that THs and TR α are mandatory for progenitor cells (derived from NSCs) determination towards a neuronal phenotype in the SVZ (López-Juárez et al., 2012). Furthermore, we recently showed that a transitory TH-free time window favours glial determination and myelination in physiological and pathological conditions (Renaud et al., submitted).

THs also influence cellular energy metabolism (Yehuda-Schneidman et al., 2014), especially mitochondrial activity and biogenesis. In turn mitochondrial activity is an important regulator of adult NSC biology. It is now well established that, unlike mature cells, stem cells display specific metabolic characteristics based on aerobic glycolysis rather than oxidative phosphorylation (OXPHOS) (Vander Heiden et al., 2009). Given the major implications of THs in both NSC fate choice and mitochondrial metabolism, we are testing the hypothesis that THs can modulate the transition from glycolytic to OXPHOS metabolism and thus could be critical for the neuron/glia cell fate determination.



Cell type marker specificity

- DLX2 is a neuronal precursor specific marker

- SOX2 signal decreases with progenitor cell commitment. DLX2 signal decreases with cell commitment.
- DLX2 and OLIG2 signals are negatively correlated (data not shown). Precursor cells expressing low levels of SOX2 never express both the glial factor OLIG2 and DLX2. DLX2 is also expressed in DCX+ neuroblasts: DLX2 is associated with neuronal lineage.

- Markers specific of each cell type were used for immuno-stainings

Thyroid status influences neural stem cell fate and modulates expression of a metabolic sensor, SIRT1

- Adult mice were treated to change their thyroid status

C57Bl/6 of 2 months old

Treatment: Euthyroid, Hypothyroid (PTU 2/3 weeks), Hyperthyroid (T4 2 weeks)

- Thyroid hormones favor neuronal fate over glial fate

Lateral SVZ OLIG2+ cells

Dorsal SVZ DCX+ cell integrated density

- SIRT1 is preferentially expressed in neuronal lineage cells

Hypothyroidism decreases the number of SIRT1+ cells in the dorsal adult SVZ

Mitochondrial metabolism changes during neural stem cell commitment in a fate-specific manner

- Mitochondrial fission and biogenesis principally occur in cells with a neuronal fate

pDRP1 Mitochondrial fission

PGC1 α Mitochondrial biogenesis

- Mitochondrial activity is higher in cells with a neuronal fate

Mitochondrial activity was visualized after intra-cranio-ventricular (ICV) injections of JC-1 dye (2 μ L, 1 μ g/ μ L). Red on green fluorescence is proportional to the mitochondrial activity of a cell.

Red on green JC-1 signal

Example of DCX+ cells with JC-1 signal

Conclusions and perspectives

These results show that THs favor NSCs commitment towards a neuronal fate in the adult SVZ. They also have a significant impact on the number of cells expressing SIRT1, a deacetylase that affects the activity of diverse cell metabolic regulators. Moreover, SIRT1 is preferentially expressed in cells entering the neuronal lineage. pDRP1 and PGC1 α , respectively inducers of mitochondrial fission and biogenesis, show preferential expression in the neuronal lineage. The differential expression of these factors in precursor cells engaged towards either a neuronal or a glial fate provides evidence for a strong metabolic difference between lineages. This concept is bolstered by our preliminary data showing more mitochondrial activity in DCX+ neuroblasts than in NG2+ OPC and immature oligodendrocytes. Given the importance of THs for the regulation of genes involved in cell metabolism (PGC1 α , UCP1, mTOR...), our results suggest that THs act as central regulators of this metabolic difference between glial and neuronal lineages.

To confirm the influence of THs on cell metabolism both *in vivo* in the SVZ and *in vitro*, we are studying effects of hypoxia and modulation of the NSC fate decision in a neurosphere assay. Also, we are working on a FACS protocol optimisation for measurements of mitochondrial activity in the different lineages.

References: Barres, B.A., et al. (1994). *Dev. Camb. Engl.* 120, 1097-1101; Lemkine, G.F., et al. (2005). *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 19, 863-865; López-Juárez, A., et al. (2012). *Cell Stem Cell* 10, 531-543; Vander Heiden, M.G., et al. (2009). *Science* 324, 1029-1033; Yehuda-Schneidman, E., et al. (2014). *Endocrine Reviews* 35, 35-58.

Annexe VI : *Curriculum Vitae*



Jean-David GOTHÉ

19 rue Alphand, 75013 Paris, FRANCE
+33 (0)1 40 79 35 58 / +33 (0)6 17 11 07 66
jdgothie@gmail.com

Born October, 21st 1985 in Lyon, France

ACADEMIC HISTORY

Oct. 2013 - Oct. 2017: PhD student MNHN USM501 / CNRS UMR7221, Paris, FRANCE

Thyroid hormones and mitochondrial metabolism influence on adult neural stem cell fate determination.

Thesis advisor : Pr. B. DEMENEIX

June - August 2014: JSPS Summer Program fellow, Tokyo University, Tokyo, JAPAN (Team of Pr Y. GOTOH)

Influence of thyroid hormones and physical exercise on neural stem cells activation and differentiation

Feb. 2012 - Sep. 2013: Research assistant MNHN USM501 / CNRS UMR7221 (Team of Pr. B. DEMENEIX), Paris, FRANCE

Regulations by Thyroid Hormones: RNA-sequencing on brain subventricular zone and hypothalamus of hypo- and euthyroid newborn mice (bench work and bioinformatics analysis).

July 2010 - Feb. 2011: Research assistant in INRA, Jouy-en-Josas, FRANCE (Team of Pr. C. JUNIEN)

Sex and diet-specific dimorphism in epigenetic programming of the metabolic syndrome in placenta

July - Dec. 2009: Trainee, Osaka Pref. Univ., Lab. of Protein Science, Osaka, JAPAN (Team of Pr. T. INUI)

In vitro and in silico study of Lipocalin-type prostaglandin D synthase molecular interactions

Aug. 08 - June 2009: Trainee, INSERM U781, Hôpital Necker, Paris, FRANCE (Team of Pr. C. JUNIEN)

Influence of maternal diet on epigenetic regulation changes in mouse placenta

DEGREES

2017: PhD in Neuroendocrinology, Museum National d'Histoire Naturelle, Sorbonne Universités, Paris, France

2010: Mastère spécialisé in bioinformatics, EISTI, Cergy, France

2008: Master of Science Degree level 2 in Biochemistry, University of Burgundy, Dijon, France

2006: Bachelor in Biology, University of Lyon 1, Lyon, France

SKILLS

Technical :

Adult mouse brain and sub-ventricular zone dissection, neural stem cell primary culture, intra-cerebro ventricular injection, immuno-stainings, confocal microscopy, FACS analysis, western-blot, laser microdissection, ELISA test, BCA protein dosage, RT-qPCR

I.T. :

ImageJ, PRISM, Genomatix Genome Analyzer, R, FlowJo, SQL, PyMol, Chems sketch, SwissPDBViewer

Languages :

French: mother tongue

English: read, written and spoken

Japanese: intermediate

Japanese Language Proficiency Test (JLPT) : level N4 (2012)

PUBLICATIONS

Gothié, J.D. et al., Adult neural stem cell fate is determined by thyroid hormone activation of mitochondrial metabolism, *Mol Metab.* 2017 Aug. 14 ; doi : 10.1016/j.molmet.2017.08.003.

Remaud, S., et al., Transient hypothyroidism favors oligodendrocyte generation providing functional remyelination in the adult mouse brain', *Elife*, 2017 Sept. 5. ; doi : 10.7554/eLife.29996.

Gothié, J.D., et al. Comparative approaches to understanding thyroid hormone regulation of the neural stem cell niche, *Mol Cell Endocrinol.* 2017 May 22. pii: S0303-7207(17)30289-7. doi: 10.1016/j.mce.2017.05.020. Review.

Remaud, S. et al., Thyroid hormone signaling and adult neurogenesis in mammals, *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014 Apr 28;5:62. doi: 10.3389/fendo.2014.00062. Review.

Bowers, J. et al., Thyroid Hormone Signaling and Homeostasis During Aging, *Endocr Rev.* 2013 Aug;34(4):556-89. doi: 10.1210/er.2012-1056. Review.

Gabory, A. et al., Maternal diets trigger sex-specific divergent trajectories of gene expression and epigenetic systems in mouse placenta, *PLoS One.* 2012;7(11):e47986. doi: 10.1371/journal.pone.0047986.

ORAL PRESENTATIONS

7th World Congress on Targeting Mitochondria 2016, Berlin, Germany, October 24-26, 2016: *Mitochondrial metabolism and thyroid hormones: a game of influence over adult neural stem cell fate decision?*

ENDO 2016, Boston, Massachusetts, USA, April 1-4, 2016: *Thyroid Hormones and Cell Mitochondrial Metabolism Cooperate in Determining Adult Neural Stem Cell Fate*

POSTERS

FEBS Advanced Lecture Course Nuclear Receptor Signaling in Physiology and Disease, Spetses, Greece, 23-28 August 2015: *Thyroid hormones and cell metabolism cooperate in determining adult neural stem cell fate - Best Poster Award*

JSPS Summer program 2014, Soken University, Shonan Village, Hayama, Kanagawa, Japan, 13 June 2014: *Impact of thyroid status on radial glial to neural stem cell transition in the developing brain and on p57^{kip2} in adult neurogenesis*

Microgenomics International Symposium, Paris, France, 15-16 May 2014: *Impact of low read count genes filtering and gene-based analysis of single-end RNAseq data in a physiological context*

Forum Biotherapies/DIM, Paris, France, 25 November 2013: *Neural stem cell fate determination during adult neurogenesis : influence of thyroid hormones*

MISCELLANEOUS

Awards and honours :

Novembre 2015: High school student's award of the 9th edition of « Les chercheurs font leur cinéma » movie festival for the short-movie « Neurones de l'Avenir ». <https://www.youtube.com/watch?v=Rzj7WcsFW00>

August 2015 : Best poster award at the FEBS Advanced Lecture Course on Nuclear Receptor Signaling in Physiology and Disease, Spetses, GREECE.

October 2014: Best scientific image award of a contest organized in the UMR7221/USM501 research unit.

Volunteer work :

January 2016 – January 2017 : Project leader of the 10th edition of the scientific movie festival « Les Chercheurs font leur Cinéma », organized by Doc'Up, Sorbonne Universités's Graduate students association. Member of the executive board of Doc'Up. <http://leschercheursfontleurcinema.doc-up.info/>

Hobbies:

Tennis, Running, Cello

Références

Références

- Aberg, M. A., Aberg, N. D., Palmer, T. D., Alborn, A. M., Carlsson-Skwirut, C., Bang, P., Rosengren, L. E., Olsson, T., Gage, F. H. and Eriksson, P. S. (2003) 'IGF-I has a direct proliferative effect in adult hippocampal progenitor cells', *Mol Cell Neurosci*, 24(1), pp. 23-40.
- Abraham, K. and Laura, T. (2015) *Histology and cell biology. An introduction to pathology*. 4 edn.
- Acheson, A., Conover, J. C., Fandl, J. P., DeChiara, T. M., Russell, M., Thadani, A., Squinto, S. P., Yancopoulos, G. D. and Lindsay, R. M. (1995) 'A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death', *Nature*, 374(6521), pp. 450-3.
- Adachi, K., Mirzadeh, Z., Sakaguchi, M., Yamashita, T., Nikolcheva, T., Gotoh, Y., Peltz, G., Gong, L., Kawase, T., Alvarez-Buylla, A., Okano, H. and Sawamoto, K. (2007) 'Beta-catenin signaling promotes proliferation of progenitor cells in the adult mouse subventricular zone', *Stem Cells*, 25(11), pp. 2827-36.
- Agarwal, S., Yadav, A., Tiwari, S. K., Seth, B., Chauhan, L. K., Khare, P., Ray, R. S. and Chaturvedi, R. K. (2016) 'Dynamin-related Protein 1 Inhibition Mitigates Bisphenol A-mediated Alterations in Mitochondrial Dynamics and Neural Stem Cell Proliferation and Differentiation', *J Biol Chem*, 291(31), pp. 15923-39.
- Aguirre, A., Dupree, J. L., Mangin, J. M. and Gallo, V. (2007) 'A functional role for EGFR signaling in myelination and remyelination', *Nat Neurosci*, 10(8), pp. 990-1002.
- Aguirre, A. and Gallo, V. (2007) 'Reduced EGFR signaling in progenitor cells of the adult subventricular zone attenuates oligodendrogenesis after demyelination', *Neuron Glia Biol*, 3(3), pp. 209-20.
- Aguirre, A., Rubio, M. E. and Gallo, V. (2010) 'Notch and EGFR pathway interaction regulates neural stem cell number and self-renewal', *Nature*, 467(7313), pp. 323-7.
- Ahn, B. H., Kim, H. S., Song, S., Lee, I. H., Liu, J., Vassilopoulos, A., Deng, C. X. and Finkel, T. (2008) 'A role for the mitochondrial deacetylase Sirt3 in regulating energy homeostasis', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(38), pp. 14447-52.
- Akieda-Asai, S., Zaima, N., Ikegami, K., Kahyo, T., Yao, I., Hatanaka, T., Iemura, S., Sugiyama, R., Yokozeki, T., Eishi, Y., Koike, M., Ikeda, K., Chiba, T., Yamaza, H., Shimokawa, I., Song, S. Y., Matsuno, A., Mizutani, A., Sawabe, M., Chao, M. V., Tanaka, M., Kanaho, Y., Natsume, T., Sugimura, H., Date, Y., McBurney, M. W., Guarente, L. and Setou, M. (2010) 'SIRT1 Regulates Thyroid-Stimulating Hormone Release by Enhancing PIP5Kgamma Activity through Deacetylation of Specific Lysine Residues in Mammals', *PLoS One*, 5(7), pp. e11755.
- Akimoto, T., Pohnert, S. C., Li, P., Zhang, M., Gumbs, C., Rosenberg, P. B., Williams, R. S. and Yan, Z. (2005) 'Exercise stimulates Pgc-1alpha transcription in skeletal muscle through activation of the p38 MAPK pathway', *J Biol Chem*, 280(20), pp. 19587-93.

- Alagappan, D., Ziegler, A. N., Chidambaram, S., Min, J., Wood, T. L. and Levison, S. W. (2014) 'Insulin-Like Growth Factor Receptor Signaling is Necessary for Epidermal Growth Factor Mediated Proliferation of SVZ Neural Precursors in vitro Following Neonatal Hypoxia-Ischemia', *Front Neurol*, 5, pp. 79.
- Aldred, A. R., Dickson, P. W., Marley, P. D. and Schreiber, G. (1987) 'Distribution of transferrin synthesis in brain and other tissues in the rat', *J Biol Chem*, 262(11), pp. 5293-7.
- Alemi, M., Gaiteiro, C., Ribeiro, C. A., Santos, L. M., Gomes, J. R., Oliveira, S. M., Couraud, P. O., Weksler, B., Romero, I., Saraiva, M. J. and Cardoso, I. (2016) 'Transferrin participates in beta-amyloid transport from the brain to the liver--involvement of the low-density lipoprotein receptor-related protein 1?' *Sci Rep*, 6, pp. 20164.
- Alexander, C., Votruba, M., Pesch, U. E., Thiselton, D. L., Mayer, S., Moore, A., Rodriguez, M., Kellner, U., Leo-Kottler, B., Auburger, G., Bhattacharya, S. S. and Wissinger, B. (2000) 'OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28', *Nat Genet*, 26(2), pp. 211-5.
- ALTMAN, J. (1962) 'Are new neurons formed in the brains of adult mammals?' *Science*, 135(3509), pp. 1127-8.
- Altman, J. and Das, G. D. (1965a) 'Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats', *J Comp Neurol*, 124(3), pp. 319-35.
- Altman, J. and Das, G. D. (1965b) 'Post-natal origin of microneurons in the rat brain', *Nature*, 207(5000), pp. 953-6.
- Alunni, A. and Bally-Cuif, L. (2016) 'A comparative view of regenerative neurogenesis in vertebrates', *Development*, 143(5), pp. 741-53.
- Alvarez-Buylla, A., Kohwi, M., Nguyen, T. M. and Merkle, F. T. (2008) 'The heterogeneity of adult neural stem cells and the emerging complexity of their niche', *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 73, pp. 357-65.
- Ambrogini, P., Cuppini, R., Ferri, P., Mancini, C., Ciaroni, S., Voci, A., Gerdoni, E. and Gallo, G. (2005) 'Thyroid hormones affect neurogenesis in the dentate gyrus of adult rat', *Neuroendocrinology*, 81(4), pp. 244-53.
- Anand, R., Wai, T., Baker, M. J., Kladt, N., Schauss, A. C., Rugarli, E. and Langer, T. (2014) 'The i-AAA protease YME1L and OMA1 cleave OPA1 to balance mitochondrial fusion and fission', *J Cell Biol*, 204(6), pp. 919-29.
- Anderson, C. M. and Swanson, R. A. (2000) 'Astrocyte glutamate transport: review of properties, regulation, and physiological functions', *Glia*, 32(1), pp. 1-14.
- Anderson, G. W., Schoonover, C. M. and Jones, S. A. (2003) 'Control of thyroid hormone action in the developing rat brain', *Thyroid*, 13(11), pp. 1039-56.

- Angot, E., Loulier, K., Nguyen-Ba-Charvet, K. T., Gadeau, A. P., Ruat, M. and Traiffort, E. (2008) 'Chemoattractive activity of sonic hedgehog in the adult subventricular zone modulates the number of neural precursors reaching the olfactory bulb', *Stem Cells*, 26(9), pp. 2311-20.
- An, H. J., Cho, G., Lee, J. O., Paik, S. G., Kim, Y. S. and Lee, H. (2013) 'Higd-1a interacts with Opa1 and is required for the morphological and functional integrity of mitochondria', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110(32), pp. 13014-9.
- Anton, F., Fres, J. M., Schauss, A., Pinson, B., Praefcke, G. J., Langer, T. and Escobar-Henriques, M. (2011) 'Ugo1 and Mdm30 act sequentially during Fzo1-mediated mitochondrial outer membrane fusion', *J Cell Sci*, 124(Pt 7), pp. 1126-35.
- Aquilano, K., Vigilanza, P., Baldelli, S., Pagliei, B., Rotilio, G. and Ciriolo, M. R. (2010) 'Peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1alpha (PGC-1alpha) and sirtuin 1 (SIRT1) reside in mitochondria: possible direct function in mitochondrial biogenesis', *J Biol Chem*, 285(28), pp. 21590-9.
- Araki, O., Ying, H., Furuya, F., Zhu, X. and Cheng, S. Y. (2005) 'Thyroid hormone receptor beta mutants: Dominant negative regulators of peroxisome proliferator-activated receptor gamma action', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(45), pp. 16251-6.
- Arnold, S., Goglia, F. and Kadenbach, B. (1998) '3,5-Diiodothyronine binds to subunit Va of cytochrome-c oxidase and abolishes the allosteric inhibition of respiration by ATP', *Eur J Biochem*, 252(2), pp. 325-30.
- Artavanis-Tsakonas, S., Rand, M. D. and Lake, R. J. (1999) 'Notch signaling: cell fate control and signal integration in development', *Science*, 284(5415), pp. 770-6.
- Auderset, L., Landowski, L. M., Foa, L. and Young, K. M. (2016) 'Low Density Lipoprotein Receptor Related Proteins as Regulators of Neural Stem and Progenitor Cell Function', *Stem Cells Int*, 2016, pp. 2108495.
- Ausó E., Lavado-Autric, R., Cuevas, E., Del Rey, F. E., Morreale De Escobar, G. and Berbel, P. (2004) 'A moderate and transient deficiency of maternal thyroid function at the beginning of fetal neocortico-genesis alters neuronal migration', *Endocrinology*, 145(9), pp. 4037-47.
- Azim, K., Berninger, B. and Raineteau, O. (2016) 'Mosaic Subventricular Origins of Forebrain Oligodendrogenesis', *Front Neurosci*, 10, pp. 107.
- Azim, K., Fischer, B., Hurtado-Chong, A., Draganova, K., Cantù C., Zemke, M., Sommer, L., Butt, A. and Raineteau, O. (2014a) 'Persistent Wnt/ β catenin signaling determines dorsalization of the postnatal subventricular zone and neural stem cell specification into oligodendrocytes and glutamatergic neurons', *Stem Cells*, 32(5), pp. 1301-12.
- Azim, K., Rivera, A., Raineteau, O. and Butt, A. M. (2014b) 'GSK3 β regulates oligodendrogenesis in the dorsal microdomain of the subventricular zone via Wnt- β catenin signaling', *Glia*, 62(5), pp. 778-9.

- Azzu, V. and Brand, M. D. (2010) 'The on-off switches of the mitochondrial uncoupling proteins', *Trends Biochem Sci*, 35(5), pp. 298-307.
- Bach, M. E., Barad, M., Son, H., Zhuo, M., Lu, Y. F., Shih, R., Mansuy, I., Hawkins, R. D. and Kandel, E. R. (1999) 'Age-related defects in spatial memory are correlated with defects in the late phase of hippocampal long-term potentiation in vitro and are attenuated by drugs that enhance the cAMP signaling pathway', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(9), pp. 5280-5.
- Balordi, F. and Fishell, G. (2007) 'Hedgehog signaling in the subventricular zone is required for both the maintenance of stem cells and the migration of newborn neurons', *J Neurosci*, 27(22), pp. 5936-47.
- Bando, Y., Nomura, T., Bochimoto, H., Murakami, K., Tanaka, T., Watanabe, T. and Yoshida, S. (2015) 'Abnormal morphology of myelin and axon pathology in murine models of multiple sclerosis', *Neurochem Int*, 81, pp. 16-27.
- Bansal, R., You, S. H., Herzig, C. T. and Zoeller, R. T. (2005) 'Maternal thyroid hormone increases HES expression in the fetal rat brain: an effect mimicked by exposure to a mixture of polychlorinated biphenyls (PCBs)', *Brain Res Dev Brain Res*, 156(1), pp. 13-22.
- Bárez-López, S., Obregon, M. J., Bernal, J. and Guadaño-Ferraz, A. (2017) 'Thyroid Hormone Economy in the Perinatal Mouse Brain: Implications for Cerebral Cortex Development', *Cereb Cortex*, pp. 1-11.
- Barja, G. (1999) 'Mitochondrial oxygen radical generation and leak: sites of production in states 4 and 3, organ specificity, and relation to aging and longevity', *J Bioenerg Biomembr*, 31(4), pp. 347-66.
- Barres, B. A., Lazar, M. A. and Raff, M. C. (1994) 'A novel role for thyroid hormone, glucocorticoids and retinoic acid in timing oligodendrocyte development', *Development*, 120(5), pp. 1097-108.
- Baslow, M. H. (2000) 'Functions of N-acetyl-L-aspartate and N-acetyl-L-aspartylglutamate in the vertebrate brain: role in glial cell-specific signaling', *J Neurochem*, 75(2), pp. 453-9.
- Baslow, M. H. and Guilfoyle, D. N. (2006) 'Functions of N-acetylaspartate and N-acetylaspartylglutamate in brain: evidence of a role in maintenance of higher brain integrative activities of information processing and cognition', *Adv Exp Med Biol*, 576, pp. 95-112; discussion 361-3.
- Bates, J. M., St Germain, D. L. and Galton, V. A. (1999) 'Expression profiles of the three iodothyronine deiodinases, D1, D2, and D3, in the developing rat', *Endocrinology*, 140(2), pp. 844-51.
- Bauer, M., London, E. D., Rasgon, N., Berman, S. M., Frye, M. A., Altshuler, L. L., Mandelkern, M. A., Bramen, J., Voytek, B., Woods, R., Mazziotta, J. C. and Whybrow, P. C. (2005) 'Supraphysiological doses of levothyroxine alter regional cerebral metabolism and improve mood in bipolar depression', *Mol Psychiatry*, 10(5), pp. 456-69.
- Bayer, S. A. (1980) 'Development of the hippocampal region in the rat. I. Neurogenesis examined with 3H-thymidine autoradiography', *J Comp Neurol*, 190(1), pp. 87-114.

- Bayer, S. A. (1983) '3H-thymidine-radiographic studies of neurogenesis in the rat olfactory bulb', *Exp Brain Res*, 50(2-3), pp. 329-40.
- Bayless, T. M., Brown, E. and Paige, D. M. (2017) 'Lactase Non-persistence and Lactose Intolerance', *Curr Gastroenterol Rep*, 19(5), pp. 23.
- Beard, M. D. and Mackay-Sim, A. (1987) 'Loss of sense of smell in adult, hypothyroid mice', *Brain Res*, 433(2), pp. 181-9.
- Beckervordersandforth, R., Ebert, B., Schäfner, I., Moss, J., Fiebig, C., Shin, J., Moore, D. L., Ghosh, L., Trincherro, M. F., Stockburger, C., Friedland, K., Steib, K., von Wittgenstein, J., Keiner, S., Redecker, C., Höter, S. M., Xiang, W., Wurst, W., Jagasia, R., Schinder, A. F., Ming, G. L., Toni, N., Jessberger, S., Song, H. and Lie, D. C. (2017) 'Role of Mitochondrial Metabolism in the Control of Early Lineage Progression and Aging Phenotypes in Adult Hippocampal Neurogenesis', *Neuron*, 93(3), pp. 560-573.e6.
- Bélanger, M., Allaman, I. and Magistretti, P. J. (2011) 'Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation', *Cell Metab*, 14(6), pp. 724-38.
- Bely, A. E. and Nyberg, K. G. (2010) 'Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field', *Trends Ecol Evol*, 25(3), pp. 161-70.
- Benard, G., Bellance, N., James, D., Parrone, P., Fernandez, H., Letellier, T. and Rossignol, R. (2007) 'Mitochondrial bioenergetics and structural network organization', *J Cell Sci*, 120(Pt 5), pp. 838-48.
- Bennett, L., Yang, M., Enikolopov, G. and Iacovitti, L. (2009) 'Circumventricular organs: a novel site of neural stem cells in the adult brain', *Mol Cell Neurosci*, 41(3), pp. 337-47.
- Bensor, I. M., Olmos, R. D. and Lotufo, P. A. (2012) 'Hypothyroidism in the elderly: diagnosis and management', *Clin Interv Aging*, 7, pp. 97-111.
- Benvenga, S., Gregg, R. E. and Robbins, J. (1988) 'Binding of thyroid hormones to human plasma lipoproteins', *J Clin Endocrinol Metab*, 67(1), pp. 6-16.
- Benvenga, S. and Robbins, J. (1990) 'Enhancement of thyroxine entry into low density lipoprotein (LDL) receptor-competent fibroblasts by LDL: an additional mode of entry of thyroxine into cells', *Endocrinology*, 126(2), pp. 933-41.
- Benvenga, S. and Robbins, J. (1993) 'Lipoprotein-thyroid hormone interactions', *Trends Endocrinol Metab*, 4(6), pp. 194-8.
- Benvenga, S. and Robbins, J. (1998) 'Thyroid hormone efflux from monolayer cultures of human fibroblasts and hepatocytes. Effect of lipoproteins and other thyroxine transport proteins', *Endocrinology*, 139(10), pp. 4311-8.
- Berbel, P., Navarro, D. and Román, G. C. (2014) 'An evo-devo approach to thyroid hormones in cerebral and cerebellar cortical development: etiological implications for autism', *Front Endocrinol (Lausanne)*, 5, pp. 146.

- Berghagen, H., Ragnhildstveit, E., Krogsrud, K., Thuestad, G., Apriletti, J. and Saatcioglu, F. (2002) 'Corepressor SMRT functions as a coactivator for thyroid hormone receptor T3Ralpha from a negative hormone response element', *J Biol Chem*, 277(51), pp. 49517-22.
- Bergh, J. J., Lin, H. Y., Lansing, L., Mohamed, S. N., Davis, F. B., Mousa, S. and Davis, P. J. (2005) 'Integrin alphaVbeta3 contains a cell surface receptor site for thyroid hormone that is linked to activation of mitogen-activated protein kinase and induction of angiogenesis', *Endocrinology*, 146(7), pp. 2864-71.
- Bergmann, O., Liebl, J., Bernard, S., Alkass, K., Yeung, M. S., Steier, P., Kutschera, W., Johnson, L., Landé, M., Druid, H., Spalding, K. L. and Frisé, J. (2012) 'The age of olfactory bulb neurons in humans', *Neuron*, 74(4), pp. 634-9.
- Berman, S. B., Chen, Y. B., Qi, B., McCaffery, J. M., Rucker, E. B., Goebbels, S., Nave, K. A., Arnold, B. A., Jonas, E. A., Pineda, F. J. and Hardwick, J. M. (2009) 'Bcl-x L increases mitochondrial fission, fusion, and biomass in neurons', *J Cell Biol*, 184(5), pp. 707-19.
- Bernal, J. (2000) 'Thyroid Hormones in Brain Development and Function', in De Groot, L.J., Chrousos, G., Dungan, K., Feingold, K.R., Grossman, A., Hershman, J.M., Koch, C., Korbonits, M., McLachlan, R., New, M., Purnell, J., Rebar, R., Singer, F. & Vinik, A. (eds.) *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.
- Bernal, J. (2007) 'Thyroid hormone receptors in brain development and function', *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 3(3), pp. 249-59.
- Bernal, J., Guadaño-Ferraz, A. and Morte, B. (2003) 'Perspectives in the study of thyroid hormone action on brain development and function', *Thyroid*, 13(11), pp. 1005-12.
- Betizeau, M., Cortay, V., Patti, D., Pfister, S., Gautier, E., Bellemin-Méard, A., Afanassieff, M., Huissoud, C., Douglas, R. J., Kennedy, H. and Dehay, C. (2013) 'Precursor diversity and complexity of lineage relationships in the outer subventricular zone of the primate', *Neuron*, 80(2), pp. 442-57.
- Bianco, A. C. (2011) 'Minireview: cracking the metabolic code for thyroid hormone signaling', *Endocrinology*, 152(9), pp. 3306-11.
- Bianco, A. C. and Silva, J. E. (1987) 'Optimal response of key enzymes and uncoupling protein to cold in BAT depends on local T3 generation', *Am J Physiol*, 253(3 Pt 1), pp. E255-63.
- Bigarella, C. L., Liang, R. and Ghaffari, S. (2014) 'Stem cells and the impact of ROS signaling', *Development*, 141(22), pp. 4206-18.
- Blackmore, D. G., Vukovic, J., Waters, M. J. and Bartlett, P. F. (2012) 'GH mediates exercise-dependent activation of SVZ neural precursor cells in aged mice', *PLoS One*, 7(11), pp. e49912.
- Blondeau, J. P., Beslin, A., Chantoux, F. and Francon, J. (1993) 'Triiodothyronine is a high-affinity inhibitor of amino acid transport system L1 in cultured astrocytes', *J Neurochem*, 60(4), pp. 1407-13.

- Bodenner, D. L., Mroczynski, M. A., Weintraub, B. D., Radovick, S. and Wondisford, F. E. (1991) 'A detailed functional and structural analysis of a major thyroid hormone inhibitory element in the human thyrotropin beta-subunit gene', *J Biol Chem*, 266(32), pp. 21666-73.
- Bogenhagen, D. F. (2012) 'Mitochondrial DNA nucleoid structure', *Biochim Biophys Acta*, 1819(9-10), pp. 914-20.
- Bondurand, N., Girard, M., Pingault, V., Lemort, N., Dubourg, O. and Goossens, M. (2001) 'Human Connexin 32, a gap junction protein altered in the X-linked form of Charcot-Marie-Tooth disease, is directly regulated by the transcription factor SOX10', *Hum Mol Genet*, 10(24), pp. 2783-95.
- Borra, M. T., Smith, B. C. and Denu, J. M. (2005) 'Mechanism of human SIRT1 activation by resveratrol', *J Biol Chem*, 280(17), pp. 17187-95.
- Bose, A. and Beal, M. F. (2016) 'Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease', *J Neurochem*, 139 Suppl 1, pp. 216-231.
- Bossy-Wetzell, E., Petrilli, A. and Knott, A. B. (2008) 'Mutant huntingtin and mitochondrial dysfunction', *Trends Neurosci*, 31(12), pp. 609-16.
- Boucai, L. and Surks, M. I. (2009) 'Reference limits of serum TSH and free T4 are significantly influenced by race and age in an urban outpatient medical practice', *Clin Endocrinol (Oxf)*, 70(5), pp. 788-93.
- Bouillaud, F., Couplan, E., Pecqueur, C. and Ricquier, D. (2001) 'Homologues of the uncoupling protein from brown adipose tissue (UCP1): UCP2, UCP3, BMCP1 and UCP4', *Biochim Biophys Acta*, 1504(1), pp. 107-19.
- Bowman, A. N., van Amerongen, R., Palmer, T. D. and Nusse, R. (2013) 'Lineage tracing with Axin2 reveals distinct developmental and adult populations of Wnt/ β catenin-responsive neural stem cells', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110(18), pp. 7324-9.
- Boyer, P. D. (1997) 'The ATP synthase--a splendid molecular machine', *Annu Rev Biochem*, 66, pp. 717-49.
- Bracko, O., Singer, T., Aigner, S., Knobloch, M., Winner, B., Ray, J., Clemenson, G. D., Suh, H., Couillard-Despres, S., Aigner, L., Gage, F. H. and Jessberger, S. (2012) 'Gene expression profiling of neural stem cells and their neuronal progeny reveals IGF2 as a regulator of adult hippocampal neurogenesis', *J Neurosci*, 32(10), pp. 3376-87.
- Brand, M. D., Pakay, J. L., Ocloo, A., Kokoszka, J., Wallace, D. C., Brookes, P. S. and Cornwall, E. J. (2005) 'The basal proton conductance of mitochondria depends on adenine nucleotide translocase content', *Biochem J*, 392(Pt 2), pp. 353-62.
- Braschi, E., Zunino, R. and McBride, H. M. (2009) 'MAPL is a new mitochondrial SUMO E3 ligase that regulates mitochondrial fission', *EMBO Rep*, 10(7), pp. 748-54.

- Braun, D., Kinne, A., Bräer, A. U., Sapin, R., Klein, M. O., Körle, J., Wirth, E. K. and Schweizer, U. (2011) 'Developmental and cell type-specific expression of thyroid hormone transporters in the mouse brain and in primary brain cells', *Glia*, 59(3), pp. 463-71.
- Braun, D., Wirth, E. K. and Schweizer, U. (2010) 'Thyroid hormone transporters in the brain', *Rev Neurosci*, 21(3), pp. 173-86.
- Brent, G. A., Williams, G. R., Harney, J. W., Forman, B. M., Samuels, H. H., Moore, D. D. and Larsen, P. R. (1992) 'Capacity for cooperative binding of thyroid hormone (T3) receptor dimers defines wild type T3 response elements', *Mol Endocrinol*, 6(4), pp. 502-14.
- Britsch, S., Goerich, D. E., Riethmacher, D., Peirano, R. I., Rossner, M., Nave, K. A., Birchmeier, C. and Wegner, M. (2001) 'The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development', *Genes Dev*, 15(1), pp. 66-78.
- Brix, K., Furer, D. and Biebermann, H. (2011) 'Molecules important for thyroid hormone synthesis and action - known facts and future perspectives', *Thyroid Res*, 4 Suppl 1, pp. S9.
- Broadwater, L., Pandit, A., Clements, R., Azzam, S., Vadnal, J., Sulak, M., Yong, V. W., Freeman, E. J., Gregory, R. B. and McDonough, J. (2011) 'Analysis of the mitochondrial proteome in multiple sclerosis cortex', *Biochim Biophys Acta*, 1812(5), pp. 630-41.
- Brookes, P. S., Yoon, Y., Robotham, J. L., Anders, M. W. and Sheu, S. S. (2004) 'Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle', *Am J Physiol Cell Physiol*, 287(4), pp. C817-33.
- Brosnan, J. T. (2003) 'Interorgan amino acid transport and its regulation', *J Nutr*, 133(6 Suppl 1), pp. 2068S-2072S.
- Brousse, B., Magalon, K., Durbec, P. and Cayre, M. (2015) 'Region and dynamic specificities of adult neural stem cells and oligodendrocyte precursors in myelin regeneration in the mouse brain', *Biol Open*, 4(8), pp. 980-92.
- Brown, A. M. and Ransom, B. R. (2007) 'Astrocyte glycogen and brain energy metabolism', *Glia*, 55(12), pp. 1263-71.
- Brown, J., Cooper-Kuhn, C. M., Kempermann, G., Van Praag, H., Winkler, J., Gage, F. H. and Kuhn, H. G. (2003a) 'Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis', *Eur J Neurosci*, 17(10), pp. 2042-6.
- Brown, J. P., Couillard-Després, S., Cooper-Kuhn, C. M., Winkler, J., Aigner, L. and Kuhn, H. G. (2003b) 'Transient expression of doublecortin during adult neurogenesis', *J Comp Neurol*, 467(1), pp. 1-10.
- Brown, K., Yang, P., Salvador, D., Kulikauskas, R., Ruohola-Baker, H., Robitaille, A. M., Chien, A. J., Moon, R. T. and Sherwood, V. (2017) 'WNT/ β catenin signaling regulates mitochondrial activity to alter the oncogenic potential of melanoma in a PTEN-dependent manner', *Oncogene*, 36(22), pp. 3119-3136.

- Bruick, R. K. and McKnight, S. L. (2001) 'A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF', *Science*, 294(5545), pp. 1337-40.
- Brunet, A., Sweeney, L. B., Sturgill, J. F., Chua, K. F., Greer, P. L., Lin, Y., Tran, H., Ross, S. E., Mostoslavsky, R., Cohen, H. Y., Hu, L. S., Cheng, H. L., Jedrychowski, M. P., Gygi, S. P., Sinclair, D. A., Alt, F. W. and Greenberg, M. E. (2004) 'Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase', *Science*, 303(5666), pp. 2011-5.
- Butruille, L., Batailler, M., Mazur, D., Préot, V. and Migaud, M. (2017) 'Seasonal reorganization of hypothalamic neurogenic niche in adult sheep', *Brain Struct Funct*.
- Cai, L. and Brown, D. D. (2004) 'Expression of type II iodothyronine deiodinase marks the time that a tissue responds to thyroid hormone-induced metamorphosis in *Xenopus laevis*', *Dev Biol*, 266(1), pp. 87-95.
- Calaora, V., Chazal, G., Nielsen, P. J., Rougon, G. and Moreau, H. (1996) 'mCD24 expression in the developing mouse brain and in zones of secondary neurogenesis in the adult', *Neuroscience*, 73(2), pp. 581-94.
- Calingasan, N. Y., Ho, D. J., Wille, E. J., Campagna, M. V., Ruan, J., Dumont, M., Yang, L., Shi, Q., Gibson, G. E. and Beal, M. F. (2008) 'Influence of mitochondrial enzyme deficiency on adult neurogenesis in mouse models of neurodegenerative diseases', *Neuroscience*, 153(4), pp. 986-96.
- Calkins, M. J., Manczak, M., Mao, P., Shirendeb, U. and Reddy, P. H. (2011) 'Impaired mitochondrial biogenesis, defective axonal transport of mitochondria, abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease', *Hum Mol Genet*, 20(23), pp. 4515-29.
- Calvo, R., Obregó, M. J., Ruiz de Oñ, C., Escobar del Rey, F. and Morreale de Escobar, G. (1990) 'Congenital hypothyroidism, as studied in rats. Crucial role of maternal thyroxine but not of 3,5,3'-triiodothyronine in the protection of the fetal brain', *J Clin Invest*, 86(3), pp. 889-99.
- Calzà L., Fernández, M. and Giardino, L. (2015) 'Role of the Thyroid System in Myelination and Neural Connectivity', *Compr Physiol*, 5(3), pp. 1405-21.
- Cameron, H. A. and McKay, R. D. (1999) 'Restoring production of hippocampal neurons in old age', *Nat Neurosci*, 2(10), pp. 894-7.
- Campbell, C. T., Kolesar, J. E. and Kaufman, B. A. (2012) 'Mitochondrial transcription factor A regulates mitochondrial transcription initiation, DNA packaging, and genome copy number', *Biochim Biophys Acta*, 1819(9-10), pp. 921-9.
- Campbell, G. R., Worrall, J. T. and Mahad, D. J. (2014) 'The central role of mitochondria in axonal degeneration in multiple sclerosis', *Mult Scler*, 20(14), pp. 1806-13.

- Campbell, G. R., Ziabreva, I., Reeve, A. K., Krishnan, K. J., Reynolds, R., Howell, O., Lassmann, H., Turnbull, D. M. and Mahad, D. J. (2011) 'Mitochondrial DNA deletions and neurodegeneration in multiple sclerosis', *Ann Neurol*, 69(3), pp. 481-92.
- Campello, S., Lacalle, R. A., Bettella, M., Mañs, S., Scorrano, L. and Viola, A. (2006) 'Orchestration of lymphocyte chemotaxis by mitochondrial dynamics', *J Exp Med*, 203(13), pp. 2879-86.
- Cantó C., Gerhart-Hines, Z., Feige, J. N., Lagouge, M., Noriega, L., Milne, J. C., Elliott, P. J., Puigserver, P. and Auwerx, J. (2009) 'AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity', *Nature*, 458(7241), pp. 1056-60.
- Cao, L., Jiang, W., Wang, F., Yang, Q. G., Wang, C., Chen, Y. P. and Chen, G. H. (2013) 'The reduced serum free triiodothyronine and increased dorsal hippocampal SNAP-25 and Munc18-1 had existed in middle-aged CD-1 mice with mild spatial cognitive impairment', *Brain Res*, 1540, pp. 9-20.
- Cao, L., Wang, F., Yang, Q. G., Jiang, W., Wang, C., Chen, Y. P. and Chen, G. H. (2012) 'Reduced thyroid hormones with increased hippocampal SNAP-25 and Munc18-1 might involve cognitive impairment during aging', *Behav Brain Res*, 229(1), pp. 131-7.
- Cao, X., Kambe, F., Moeller, L. C., Refetoff, S. and Seo, H. (2005) 'Thyroid hormone induces rapid activation of Akt/protein kinase B-mammalian target of rapamycin-p70S6K cascade through phosphatidylinositol 3-kinase in human fibroblasts', *Mol Endocrinol*, 19(1), pp. 102-12.
- Cao, X. Y., Jiang, X. M., Dou, Z. H., Rakeman, M. A., Zhang, M. L., O'Donnell, K., Ma, T., Amette, K., DeLong, N. and DeLong, G. R. (1994) 'Timing of vulnerability of the brain to iodine deficiency in endemic cretinism', *N Engl J Med*, 331(26), pp. 1739-44.
- Capaldi, R. A. and Aggeler, R. (2002) 'Mechanism of the F(1)F(0)-type ATP synthase, a biological rotary motor', *Trends Biochem Sci*, 27(3), pp. 154-60.
- Capurro, M. I., Shi, W. and Filmus, J. (2012) 'LRP1 mediates Hedgehog-induced endocytosis of the GPC3-Hedgehog complex', *J Cell Sci*, 125(Pt 14), pp. 3380-9.
- Carazo, A., Levin, J., Casas, F., Seyer, P., Grandemange, S., Busson, M., Pessemesse, L., Wrutniak-Cabello, C. and Cabello, G. (2012) 'Protein sequences involved in the mitochondrial import of the 3,5,3'-L-triiodothyronine receptor p43', *J Cell Physiol*, 227(12), pp. 3768-77.
- Carelli, V. and Chan, D. C. (2014) 'Mitochondrial DNA: impacting central and peripheral nervous systems', *Neuron*, 84(6), pp. 1126-42.
- Cariou, R., Veyrand, B., Yamada, A., Berrebi, A., Zalko, D., Durand, S., Pollono, C., Marchand, P., Leblanc, J. C., Antignac, J. P. and Le Bizec, B. (2015) 'Perfluoroalkyl acid (PFAA) levels and profiles in breast milk, maternal and cord serum of French women and their newborns', *Environ Int*, 84, pp. 71-81.
- Carlucci, A., Lignitto, L. and Feliciello, A. (2008) 'Control of mitochondria dynamics and oxidative metabolism by cAMP, AKAPs and the proteasome', *Trends Cell Biol*, 18(12), pp. 604-13.

- Carter, A. P., Cho, C., Jin, L. and Vale, R. D. (2011) 'Crystal structure of the dynein motor domain', *Science*, 331(6021), pp. 1159-65.
- Carter, D. A. and Lightman, S. L. (1987) 'Oxytocin responses to stress in lactating and hyperprolactinaemic rats', *Neuroendocrinology*, 46(6), pp. 532-7.
- Casas, F., Daury, L., Grandemange, S., Busson, M., Seyer, P., Hatier, R., Carazo, A., Cabello, G. and Wrutniak-Cabello, C. (2003) 'Endocrine regulation of mitochondrial activity: involvement of truncated RXRalpha and c-Erb Aalpha1 proteins', *FASEB J*, 17(3), pp. 426-36.
- Casas, F., Domenjoud, L., Rochard, P., Hatier, R., Rodier, A., Daury, L., Bianchi, A., Kremarik-Bouillaud, P., Becuwe, P., Keller, J., Schohn, H., Wrutniak-Cabello, C., Cabello, G. and Dauç, M. (2000) 'A 45 kDa protein related to PPARgamma2, induced by peroxisome proliferators, is located in the mitochondrial matrix', *FEBS Lett*, 478(1-2), pp. 4-8.
- Casas, F., Rochard, P., Rodier, A., Cassar-Malek, I., Marchal-Victorion, S., Wiesner, R. J., Cabello, G. and Wrutniak, C. (1999) 'A variant form of the nuclear triiodothyronine receptor c-ErbAalpha1 plays a direct role in regulation of mitochondrial RNA synthesis', *Mol Cell Biol*, 19(12), pp. 7913-24.
- Castillo, A. I., Sánchez-Martínez, R., Moreno, J. L., Martínez-Iglesias, O. A., Palacios, D. and Aranda, A. (2004) 'A permissive retinoid X receptor/thyroid hormone receptor heterodimer allows stimulation of prolactin gene transcription by thyroid hormone and 9-cis-retinoic acid', *Mol Cell Biol*, 24(2), pp. 502-13.
- Castillo-Quan, J. I. (2011) 'Parkin' control: regulation of PGC-1 α through PARIS in Parkinson's disease', *Dis Model Mech*, 4(4), pp. 427-9.
- Castro, D. S., Skowronska-Krawczyk, D., Armant, O., Donaldson, I. J., Parras, C., Hunt, C., Critchley, J. A., Nguyen, L., Gossler, A., Götgens, B., Matter, J. M. and Guillemot, F. (2006) 'Proneural bHLH and Brn proteins coregulate a neurogenic program through cooperative binding to a conserved DNA motif', *Dev Cell*, 11(6), pp. 831-44.
- Catalano, V., Dentice, M., Ambrosio, R., Luongo, C., Carollo, R., Benfante, A., Todaro, M., Stassi, G. and Salvatore, D. (2016) 'Activated Thyroid Hormone Promotes Differentiation and Chemotherapeutic Sensitization of Colorectal Cancer Stem Cells by Regulating Wnt and BMP4 Signaling', *Cancer Res*, 76(5), pp. 1237-44.
- Caviston, J. P., Ross, J. L., Antony, S. M., Tokito, M. and Holzbaur, E. L. (2007) 'Huntingtin facilitates dynein/dynactin-mediated vesicle transport', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(24), pp. 10045-50.
- Ceballos, A., Belinchon, M. M., Sanchez-Mendoza, E., Grijota-Martinez, C., Dumitrescu, A. M., Refetoff, S., Morte, B. and Bernal, J. (2009) 'Importance of monocarboxylate transporter 8 for the blood-brain barrier-dependent availability of 3,5,3'-triiodo-L-thyronine', *Endocrinology*, 150(5), pp. 2491-6.

- Cereghetti, G. M., Stangherlin, A., Martins de Brito, O., Chang, C. R., Blackstone, C., Bernardi, P. and Scorrano, L. (2008) 'Dephosphorylation by calcineurin regulates translocation of Drp1 to mitochondria', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(41), pp. 15803-8.
- Chada, S. R. and Hollenbeck, P. J. (2004) 'Nerve growth factor signaling regulates motility and docking of axonal mitochondria', *Curr Biol*, 14(14), pp. 1272-6.
- Chakraborti, S., Chakraborti, T., Mandal, M., Das, S. and Batabyal, S. K. (1999) 'Hypothalamic-pituitary-thyroid axis status of humans during development of ageing process', *Clin Chim Acta*, 288(1-2), pp. 137-45.
- Chakravarty, S. and Herkenham, M. (2005) 'Toll-like receptor 4 on nonhematopoietic cells sustains CNS inflammation during endotoxemia, independent of systemic cytokines', *J Neurosci*, 25(7), pp. 1788-96.
- Chang, C. R. and Blackstone, C. (2007) 'Cyclic AMP-dependent protein kinase phosphorylation of Drp1 regulates its GTPase activity and mitochondrial morphology', *J Biol Chem*, 282(30), pp. 21583-7.
- Chang, C. R., Manlandro, C. M., Arnoult, D., Stadler, J., Posey, A. E., Hill, R. B. and Blackstone, C. (2010) 'A lethal de novo mutation in the middle domain of the dynamin-related GTPase Drp1 impairs higher order assembly and mitochondrial division', *J Biol Chem*, 285(42), pp. 32494-503.
- Chang, D. T., Honick, A. S. and Reynolds, I. J. (2006) 'Mitochondrial trafficking to synapses in cultured primary cortical neurons', *J Neurosci*, 26(26), pp. 7035-45.
- Chan, S., Kachilele, S., McCabe, C. J., Tannahill, L. A., Boelaert, K., Gittoes, N. J., Visser, T. J., Franklyn, J. A. and Kilby, M. D. (2002) 'Early expression of thyroid hormone deiodinases and receptors in human fetal cerebral cortex', *Brain Res Dev Brain Res*, 138(2), pp. 109-16.
- Chantoux, F., Blondeau, J. P. and Francon, J. (1995) 'Characterization of the thyroid hormone transport system of cerebrocortical rat neurons in primary culture', *J Neurochem*, 65(6), pp. 2549-54.
- Chapman, A. L., Bennett, E. J., Ramesh, T. M., De Vos, K. J. and Grierson, A. J. (2013) 'Axonal Transport Defects in a Mitofusin 2 Loss of Function Model of Charcot-Marie-Tooth Disease in Zebrafish', *PLoS One*, 8(6), pp. e67276.
- Charron, F., Stein, E., Jeong, J., McMahan, A. P. and Tessier-Lavigne, M. (2003) 'The morphogen sonic hedgehog is an axonal chemoattractant that collaborates with netrin-1 in midline axon guidance', *Cell*, 113(1), pp. 11-23.
- Chassande, O., Fraichard, A., Gauthier, K., Flamant, F., Legrand, C., Savatier, P., Laudet, V. and Samarut, J. (1997) 'Identification of transcripts initiated from an internal promoter in the c-erbA alpha locus that encode inhibitors of retinoic acid receptor-alpha and triiodothyronine receptor activities', *Mol Endocrinol*, 11(9), pp. 1278-90.

- Chatonnet, F., Guyot, R., Picou, F., Bondesson, M. and Flamant, F. (2012) 'Genome-wide search reveals the existence of a limited number of thyroid hormone receptor alpha target genes in cerebellar neurons', *PLoS One*, 7(5), pp. e30703.
- Chaturvedi, R. K., Calingasan, N. Y., Yang, L., Hennessey, T., Johri, A. and Beal, M. F. (2010) 'Impairment of PGC-1alpha expression, neuropathology and hepatic steatosis in a transgenic mouse model of Huntington's disease following chronic energy deprivation', *Hum Mol Genet*, 19(16), pp. 3190-205.
- Chen, C., Liu, Y., Liu, R., Ikenoue, T., Guan, K. L. and Zheng, P. (2008) 'TSC-mTOR maintains quiescence and function of hematopoietic stem cells by repressing mitochondrial biogenesis and reactive oxygen species', *J Exp Med*, 205(10), pp. 2397-408.
- Cheng, S. Y., Leonard, J. L. and Davis, P. J. (2010) 'Molecular aspects of thyroid hormone actions', *Endocr Rev*, 31(2), pp. 139-70.
- Cheng, Y., Su, Q., Shao, B., Cheng, J., Wang, H., Wang, L., Lin, Z., Ruan, L., ZhuGe, Q. and Jin, K. (2013) '17 β Estradiol attenuates poststroke depression and increases neurogenesis in female ovariectomized rats', *Biomed Res Int*, 2013, pp. 392434.
- Chen, H., Detmer, S. A., Ewald, A. J., Griffin, E. E., Fraser, S. E. and Chan, D. C. (2003) 'Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development', *J Cell Biol*, 160(2), pp. 189-200.
- Chen, H., McCaffery, J. M. and Chan, D. C. (2007) 'Mitochondrial fusion protects against neurodegeneration in the cerebellum', *Cell*, 130(3), pp. 548-62.
- Cho, S. Y., Jeong, H. W., Sohn, J. H., Seo, D. B., Kim, W. G. and Lee, S. J. (2012) 'An ethanol extract of *Artemisia iwayomogi* activates PPAR δ leading to activation of fatty acid oxidation in skeletal muscle', *PLoS One*, 7(3), pp. e33815.
- Cho, Y. M., Kwon, S., Pak, Y. K., Seol, H. W., Choi, Y. M., Park, D. J., Park, K. S. and Lee, H. K. (2006) 'Dynamic changes in mitochondrial biogenesis and antioxidant enzymes during the spontaneous differentiation of human embryonic stem cells', *Biochem Biophys Res Commun*, 348(4), pp. 1472-8.
- Ciavardelli, D., Bellomo, M., Crescimanno, C. and Vella, V. (2014) 'Type 3 deiodinase: role in cancer growth, stemness, and metabolism', *Front Endocrinol (Lausanne)*, 5, pp. 215.
- Cipolat, S., Martins de Brito, O., Dal Zilio, B. and Scorrano, L. (2004) 'OPA1 requires mitofusin 1 to promote mitochondrial fusion', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(45), pp. 15927-32.
- Codega, P., Silva-Vargas, V., Paul, A., Maldonado-Soto, A. R., Deleo, A. M., Pastrana, E. and Doetsch, F. (2014) 'Prospective identification and purification of quiescent adult neural stem cells from their in vivo niche', *Neuron*, 82(3), pp. 545-59.
- Cogliati, S., Frezza, C., Soriano, M. E., Varanita, T., Quintana-Cabrera, R., Corrado, M., Cipolat, S., Costa, V., Casarin, A., Gomes, L. C., Perales-Clemente, E., Salviati, L., Fernandez-Silva, P.,

- Enriquez, J. A. and Scorrano, L. (2013) 'Mitochondrial cristae shape determines respiratory chain supercomplexes assembly and respiratory efficiency', *Cell*, 155(1), pp. 160-71.
- Cohen, M. M., Amiott, E. A., Day, A. R., Leboucher, G. P., Pryce, E. N., Glickman, M. H., McCaffery, J. M., Shaw, J. M. and Weissman, A. M. (2011) 'Sequential requirements for the GTPase domain of the mitofusin Fzo1 and the ubiquitin ligase SCFMdm30 in mitochondrial outer membrane fusion', *J Cell Sci*, 124(Pt 9), pp. 1403-10.
- Connor, J. R. and Benkovic, S. A. (1992) 'Iron regulation in the brain: histochemical, biochemical, and molecular considerations', *Ann Neurol*, 32 Suppl, pp. S51-61.
- Connor, J. R. and Menzies, S. L. (1995) 'Cellular management of iron in the brain', *J Neurol Sci*, 134 Suppl, pp. 33-44.
- Correia, N., Mullally, S., Cooke, G., Tun, T. K., Phelan, N., Feeney, J., Fitzgibbon, M., Boran, G., O'Mara, S. and Gibney, J. (2009) 'Evidence for a specific defect in hippocampal memory in overt and subclinical hypothyroidism', *J Clin Endocrinol Metab*, 94(10), pp. 3789-97.
- Cossarizza, A., Baccarani-Contri, M., Kalashnikova, G. and Franceschi, C. (1993) 'A new method for the cytofluorimetric analysis of mitochondrial membrane potential using the J-aggregate forming lipophilic cation 5,5',6,6'-tetrachloro-1,1',3,3'-tetraethylbenzimidazolcarbocyanine iodide (JC-1)', *Biochem Biophys Res Commun*, 197(1), pp. 40-5.
- Cribbs, J. T. and Strack, S. (2007) 'Reversible phosphorylation of Drp1 by cyclic AMP-dependent protein kinase and calcineurin regulates mitochondrial fission and cell death', *EMBO Rep*, 8(10), pp. 939-44.
- Crowe, A. and Morgan, E. H. (1992) 'Iron and transferrin uptake by brain and cerebrospinal fluid in the rat', *Brain Res*, 592(1-2), pp. 8-16.
- Cuevas, E., Ausó E., Telefont, M., Morreale de Escobar, G., Sotelo, C. and Berbel, P. (2005) 'Transient maternal hypothyroxinemia at onset of corticogenesis alters tangential migration of medial ganglionic eminence-derived neurons', *Eur J Neurosci*, 22(3), pp. 541-51.
- Cui, L., Jeong, H., Borovecki, F., Parkhurst, C. N., Tanese, N. and Krainc, D. (2006) 'Transcriptional repression of PGC-1alpha by mutant huntingtin leads to mitochondrial dysfunction and neurodegeneration', *Cell*, 127(1), pp. 59-69.
- Cunningham, B. A., Moncur, J. T., Huntington, J. T. and Kinlaw, W. B. (1998) "'Spot 14" protein: a metabolic integrator in normal and neoplastic cells', *Thyroid*, 8(9), pp. 815-25.
- Czerska, M., Zieliński, M., Kamińska, J. and Ligocka, D. (2013) 'Effects of polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormone, neurodevelopment and fertility in rodents and humans', *Int J Occup Med Environ Health*, 26(4), pp. 498-510.
- Dabrowska, A., Venero, J. L., Iwasawa, R., Hankir, M. K., Rahman, S., Boobis, A. and Hajji, N. (2015) 'PGC-1α controls mitochondrial biogenesis and dynamics in lead-induced neurotoxicity', *Aging (Albany NY)*, 7(9), pp. 629-47.

- da Fonseca, A. C., Matias, D., Garcia, C., Amaral, R., Geraldo, L. H., Freitas, C. and Lima, F. R. (2014) 'The impact of microglial activation on blood-brain barrier in brain diseases', *Front Cell Neurosci*, 8, pp. 362.
- Danbolt, N. C. (2001) 'Glutamate uptake', *Prog Neurobiol*, 65(1), pp. 1-105.
- Daoud, H., Gruchy, N., Constans, J. M., Moussaoui, E., Saumureau, S., Bayou, N., Amy, M., Vérine, S., Vu, P. Y., Röig, A., Laumonnier, F., Vourc'h, P., Andres, C. R., Leporrier, N. and Briault, S. (2009) 'Haploinsufficiency of the GPD2 gene in a patient with nonsyndromic mental retardation', *Hum Genet*, 124(6), pp. 649-58.
- Darras, V. M., Houbrechts, A. M. and Van Herck, S. L. (2015) 'Intracellular thyroid hormone metabolism as a local regulator of nuclear thyroid hormone receptor-mediated impact on vertebrate development', *Biochim Biophys Acta*, 1849(2), pp. 130-41.
- Das, A. M. and Harris, D. A. (1990) 'Intracellular calcium as a regulator of the mitochondrial ATP synthase in cultured cardiomyocytes', *Biochem Soc Trans*, 18(4), pp. 554-5.
- da Silva, A. F., Mariotti, F. R., Máimo, V. and Campello, S. (2014) 'Mitochondria dynamism: of shape, transport and cell migration', *Cell Mol Life Sci*, 71(12), pp. 2313-24.
- Davis, F. B., Cody, V., Davis, P. J., Borzynski, L. J. and Blas, S. D. (1983) 'Stimulation by thyroid hormone analogues of red blood cell Ca²⁺-ATPase activity in vitro. Correlations between hormone structure and biological activity in a human cell system', *J Biol Chem*, 258(20), pp. 12373-7.
- Davis, P. J., Davis, F. B. and Lawrence, W. D. (1989) 'Thyroid hormone regulation of membrane Ca²⁺-ATPase activity', *Endocr Res*, 15(4), pp. 651-82.
- Davis, P. J., Sudha, T., Lin, H. Y. and Mousa, S. A. (2015) 'Thyroid Hormone, Hormone Analogs, and Angiogenesis', *Compr Physiol*, 6(1), pp. 353-62.
- Daynac, M., Chicheportiche, A., Pineda, J. R., Gauthier, L. R., Boussin, F. D. and Mouthon, M. A. (2013) 'Quiescent neural stem cells exit dormancy upon alteration of GABAAR signaling following radiation damage', *Stem Cell Res*, 11(1), pp. 516-28.
- de Arriba Zerpa, G. A., Saleh, M. C., Fernández, P. M., Guillou, F., Espinosa de los Monteros, A., de Vellis, J., Zakin, M. M. and Baron, B. (2000) 'Alternative splicing prevents transferrin secretion during differentiation of a human oligodendrocyte cell line', *J Neurosci Res*, 61(4), pp. 388-95.
- DeBerardinis, R. J., Mancuso, A., Daikhin, E., Nissim, I., Yudkoff, M., Wehrli, S. and Thompson, C. B. (2007) 'Beyond aerobic glycolysis: transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(49), pp. 19345-50.
- de Escobar, G. M., Obregó, M. J. and del Rey, F. E. (2007) 'Iodine deficiency and brain development in the first half of pregnancy', *Public Health Nutr*, 10(12A), pp. 1554-70.

- De Filippis, L. and Delia, D. (2011) 'Hypoxia in the regulation of neural stem cells', *Cell Mol Life Sci*, 68(17), pp. 2831-44.
- de Lange, P., Cioffi, F., Senese, R., Moreno, M., Lombardi, A., Silvestri, E., De Matteis, R., Lionetti, L., Mollica, M. P., Goglia, F. and Lanni, A. (2011) 'Nonthyrotoxic prevention of diet-induced insulin resistance by 3,5-diiodo-L-thyronine in rats', *Diabetes*, 60(11), pp. 2730-9.
- de Lange, P., Lanni, A., Beneduce, L., Moreno, M., Lombardi, A., Silvestri, E. and Goglia, F. (2001) 'Uncoupling protein-3 is a molecular determinant for the regulation of resting metabolic rate by thyroid hormone', *Endocrinology*, 142(8), pp. 3414-20.
- Delettre, C., Lenaers, G., Griffoin, J. M., Gigarel, N., Lorenzo, C., Belenguer, P., Pelloquin, L., Grosgeorge, J., Turc-Carel, C., Perret, E., Astarie-Dequeker, C., Lasquelles, L., Arnaud, B., Ducommun, B., Kaplan, J. and Hamel, C. P. (2000) 'Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy', *Nat Genet*, 26(2), pp. 207-10.
- Del Viscovo, A., Secondo, A., Esposito, A., Goglia, F., Moreno, M. and Canzoniero, L. M. (2012) 'Intracellular and plasma membrane-initiated pathways involved in the [Ca²⁺]_i elevations induced by iodothyronines (T3 and T2) in pituitary GH3 cells', *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 302(11), pp. E1419-30.
- Demars, M., Hu, Y. S., Gadadhar, A. and Lazarov, O. (2010) 'Impaired neurogenesis is an early event in the etiology of familial Alzheimer's disease in transgenic mice', *J Neurosci Res*, 88(10), pp. 2103-17.
- De Nayer, P., Rennotte, B. and Caucheteux, D. (1991) 'Thyroid hormone receptors in brain and liver during ageing', *Horm Metab Res*, 23(1), pp. 12-4.
- Dentice, M., Ambrosio, R., Damiano, V., Sibilio, A., Luongo, C., Guardiola, O., Yennek, S., Zordan, P., Minchiotti, G., Colao, A., Marsili, A., Brunelli, S., Del Vecchio, L., Larsen, P. R., Tajbakhsh, S. and Salvatore, D. (2014) 'Intracellular inactivation of thyroid hormone is a survival mechanism for muscle stem cell proliferation and lineage progression', *Cell Metab*, 20(6), pp. 1038-48.
- Desouza, L. A., Ladiwala, U., Daniel, S. M., Agashe, S., Vaidya, R. A. and Vaidya, V. A. (2005) 'Thyroid hormone regulates hippocampal neurogenesis in the adult rat brain', *Mol Cell Neurosci*, 29(3), pp. 414-26.
- des Portes, V., Pinard, J. M., Billuart, P., Vinet, M. C., Koulakoff, A., Carrié A., Gelot, A., Dupuis, E., Motte, J., Berwald-Netter, Y., Catala, M., Kahn, A., Beldjord, C. and Chelly, J. (1998) 'A novel CNS gene required for neuronal migration and involved in X-linked subcortical laminar heterotopia and lissencephaly syndrome', *Cell*, 92(1), pp. 51-61.
- Diano, S., Naftolin, F., Goglia, F., Csernus, V. and Horvath, T. L. (1998) 'Monosynaptic pathway between the arcuate nucleus expressing glial type II iodothyronine 5'-deiodinase mRNA and the

- median eminence-projective TRH cells of the rat paraventricular nucleus', *J Neuroendocrinol*, 10(10), pp. 731-42.
- Dimroth, P., von Ballmoos, C. and Meier, T. (2006) 'Catalytic and mechanical cycles in F-ATP synthases. Fourth in the Cycles Review Series', *EMBO Rep*, 7(3), pp. 276-82.
- Divino, C. M. and Schussler, G. C. (1990a) 'Receptor-mediated uptake and internalization of transthyretin', *J Biol Chem*, 265(3), pp. 1425-9.
- Divino, C. M. and Schussler, G. C. (1990b) 'Transthyretin receptors on human astrocytoma cells', *J Clin Endocrinol Metab*, 71(5), pp. 1265-8.
- Döbrössy, M. D., Drapeau, E., Arousseau, C., Le Moal, M., Piazza, P. V. and Abrous, D. N. (2003) 'Differential effects of learning on neurogenesis: learning increases or decreases the number of newly born cells depending on their birth date', *Mol Psychiatry*, 8(12), pp. 974-82.
- Doetsch, F. (2003) 'The glial identity of neural stem cells', *Nat Neurosci*, 6(11), pp. 1127-34.
- Doetsch, F., Caillé I., Lim, D. A., Garcí-Verdugo, J. M. and Alvarez-Buylla, A. (1999a) 'Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain', *Cell*, 97(6), pp. 703-16.
- Doetsch, F., Garcí-Verdugo, J. M. and Alvarez-Buylla, A. (1999b) 'Regeneration of a germinal layer in the adult mammalian brain', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(20), pp. 11619-24.
- Doetsch, F., Verdugo, J. M., Caille, I., Alvarez-Buylla, A., Chao, M. V. and Casaccia-Bonnel, P. (2002) 'Lack of the cell-cycle inhibitor p27Kip1 results in selective increase of transit-amplifying cells for adult neurogenesis', *J Neurosci*, 22(6), pp. 2255-64.
- Dong, Y., Zhang, X., Tian, H., Li, X., Wang, W. and Ru, S. (2017) 'Effects of polychlorinated biphenyls on metamorphosis of a marine fish Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) in relation to thyroid disruption', *Mar Pollut Bull*, 119(1), pp. 325-331.
- Donner, N., Bredewold, R., Maloumy, R. and Neumann, I. D. (2007) 'Chronic intracerebral prolactin attenuates neuronal stress circuitries in virgin rats', *Eur J Neurosci*, 25(6), pp. 1804-14.
- Drapeau, E., Montaron, M. F., Aguerre, S. and Abrous, D. N. (2007) 'Learning-induced survival of new neurons depends on the cognitive status of aged rats', *J Neurosci*, 27(22), pp. 6037-44.
- Dratman, M. B., Crutchfield, F. L. and Schoenhoff, M. B. (1991) 'Transport of iodothyronines from bloodstream to brain: contributions by blood:brain and choroid plexus:cerebrospinal fluid barriers', *Brain Res*, 554(1-2), pp. 229-36.
- Dubuis, J. M., Glorieux, J., Richer, F., Deal, C. L., Dussault, J. H. and Van Vliet, G. (1996) 'Outcome of severe congenital hypothyroidism: closing the developmental gap with early high dose levothyroxine treatment', *J Clin Endocrinol Metab*, 81(1), pp. 222-7.
- Dumitrescu, A. M., Liao, X. H., Best, T. B., Brockmann, K. and Refetoff, S. (2004) 'A novel syndrome combining thyroid and neurological abnormalities is associated with mutations in a monocarboxylate transporter gene', *Am J Hum Genet*, 74(1), pp. 168-75.

- Dümler, K., Müller, S. and Seitz, H. J. (1996) 'Regulation of adenine nucleotide translocase and glycerol 3-phosphate dehydrogenase expression by thyroid hormones in different rat tissues', *Biochem J*, 317 (Pt 3), pp. 913-8.
- Duntas, L. H. and Maillis, A. (2013) 'Hypothyroidism and depression: salient aspects of pathogenesis and management', *Minerva Endocrinol*, 38(4), pp. 365-77.
- Dutta, R., McDonough, J., Yin, X., Peterson, J., Chang, A., Torres, T., Gudz, T., Macklin, W. B., Lewis, D. A., Fox, R. J., Rudick, R., Mirnics, K. and Trapp, B. D. (2006) 'Mitochondrial dysfunction as a cause of axonal degeneration in multiple sclerosis patients', *Ann Neurol*, 59(3), pp. 478-89.
- Ehm, O., Göitz, C., Covic, M., Schäfner, I., Schwarz, T. J., Karaca, E., Kempkes, B., Kremmer, E., Pfrieder, F. W., Espinosa, L., Bigas, A., Giachino, C., Taylor, V., Frisé, J. and Lie, D. C. (2010) 'RBPJkappa-dependent signaling is essential for long-term maintenance of neural stem cells in the adult hippocampus', *J Neurosci*, 30(41), pp. 13794-807.
- Ehse, S., Raschke, I., Mancuso, G., Bernacchia, A., Geimer, S., Tondera, D., Martinou, J. C., Westermann, B., Rugarli, E. I. and Langer, T. (2009) 'Regulation of OPA1 processing and mitochondrial fusion by m-AAA protease isoenzymes and OMA1', *J Cell Biol*, 187(7), pp. 1023-36.
- Encinas, J. M., Michurina, T. V., Peunova, N., Park, J. H., Tordo, J., Peterson, D. A., Fishell, G., Koulakov, A. and Enikolopov, G. (2011) 'Division-coupled astrocytic differentiation and age-related depletion of neural stem cells in the adult hippocampus', *Cell Stem Cell*, 8(5), pp. 566-79.
- Enwere, E., Shingo, T., Gregg, C., Fujikawa, H., Ohta, S. and Weiss, S. (2004) 'Aging results in reduced epidermal growth factor receptor signaling, diminished olfactory neurogenesis, and deficits in fine olfactory discrimination', *J Neurosci*, 24(38), pp. 8354-65.
- Episkopou, V., Maeda, S., Nishiguchi, S., Shimada, K., Gaitanaris, G. A., Gottesman, M. E. and Robertson, E. J. (1993) 'Disruption of the transthyretin gene results in mice with depressed levels of plasma retinol and thyroid hormone', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90(6), pp. 2375-9.
- Epstein, A. C., Gleadle, J. M., McNeill, L. A., Hewitson, K. S., O'Rourke, J., Mole, D. R., Mukherji, M., Metzen, E., Wilson, M. I., Dhanda, A., Tian, Y. M., Masson, N., Hamilton, D. L., Jaakkola, P., Barstead, R., Hodgkin, J., Maxwell, P. H., Pugh, C. W., Schofield, C. J. and Ratcliffe, P. J. (2001) 'C. elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation', *Cell*, 107(1), pp. 43-54.
- Eriksson, P. S., Perfilieva, E., Bjök-Eriksson, T., Alborn, A. M., Nordborg, C., Peterson, D. A. and Gage, F. H. (1998) 'Neurogenesis in the adult human hippocampus', *Nat Med*, 4(11), pp. 1313-7.
- Ernst, A., Alkass, K., Bernard, S., Salehpour, M., Perl, S., Tisdale, J., Possnert, G., Druid, H. and Frisé, J. (2014) 'Neurogenesis in the striatum of the adult human brain', *Cell*, 156(5), pp. 1072-83.

- Escámez, M. J., Guadaño-Ferraz, A., Cuadrado, A. and Bernal, J. (1999) 'Type 3 iodothyronine deiodinase is selectively expressed in areas related to sexual differentiation in the newborn rat brain', *Endocrinology*, 140(11), pp. 5443-6.
- Escobar-Henriques, M. (2014) 'Mitofusins: ubiquitylation promotes fusion', *Cell Res*, 24(4), pp. 387-8.
- Eskandani, M., Abdolalizadeh, J., Hamishehkar, H., Nazemiyeh, H. and Barar, J. (2015) 'Galbanic acid inhibits HIF-1 α expression via EGFR/HIF-1 α pathway in cancer cells', *Fitoterapia*, 101, pp. 1-11.
- Eskandari, S., Loo, D. D., Dai, G., Levy, O., Wright, E. M. and Carrasco, N. (1997) 'Thyroid Na⁺/I⁻ symporter. Mechanism, stoichiometry, and specificity', *J Biol Chem*, 272(43), pp. 27230-8.
- Espinosa de los Monteros, A., Sawaya, B. E., Guillou, F., Zakin, M. M., de Vellis, J. and Schaeffer, E. (1994) 'Brain-specific expression of the human transferrin gene. Similar elements govern transcription in oligodendrocytes and in a neuronal cell line', *J Biol Chem*, 269(39), pp. 24504-10.
- Estrada, J. C., Torres, Y., Bengurí, A., Dopazo, A., Roche, E., Carrera-Quintanar, L., Pérez, R. A., Enríquez, J. A., Torres, R., Ramírez, J. C., Samper, E. and Bernad, A. (2013) 'Human mesenchymal stem cell-replicative senescence and oxidative stress are closely linked to aneuploidy', *Cell Death Dis*, 4, pp. e691.
- Evans, J., Sumners, C., Moore, J., Huentelman, M. J., Deng, J., Gelband, C. H. and Shaw, G. (2002) 'Characterization of mitotic neurons derived from adult rat hypothalamus and brain stem', *J Neurophysiol*, 87(2), pp. 1076-85.
- Fahrner, J. A., Liu, R., Perry, M. S., Klein, J. and Chan, D. C. (2016) 'A novel de novo dominant negative mutation in DNMT1L impairs mitochondrial fission and presents as childhood epileptic encephalopathy', *Am J Med Genet A*, 170(8), pp. 2002-11.
- Fang, D., Yan, S., Yu, Q., Chen, D. and Yan, S. S. (2016) 'Mfn2 is Required for Mitochondrial Development and Synapse Formation in Human Induced Pluripotent Stem Cells/hiPSC Derived Cortical Neurons', *Sci Rep*, 6, pp. 31462.
- Farinetti, A., Tomasi, S., Foglio, B., Ferraris, A., Ponti, G., Gotti, S., Peretto, P. and Panzica, G. C. (2015) 'Testosterone and estradiol differentially affect cell proliferation in the subventricular zone of young adult gonadectomized male and female rats', *Neuroscience*, 286, pp. 162-70.
- Farkas, L. M. and Huttner, W. B. (2008) 'The cell biology of neural stem and progenitor cells and its significance for their proliferation versus differentiation during mammalian brain development', *Curr Opin Cell Biol*, 20(6), pp. 707-15.
- Farsetti, A., Mitsuhashi, T., Desvergne, B., Robbins, J. and Nikodem, V. M. (1991) 'Molecular basis of thyroid hormone regulation of myelin basic protein gene expression in rodent brain', *J Biol Chem*, 266(34), pp. 23226-32.

- Farwell, A. P., Dubord-Tomasetti, S. A., Pietrzykowski, A. Z. and Leonard, J. L. (2006) 'Dynamic nongenomic actions of thyroid hormone in the developing rat brain', *Endocrinology*, 147(5), pp. 2567-74.
- Farwell, A. P., Dubord-Tomasetti, S. A., Pietrzykowski, A. Z., Stachelek, S. J. and Leonard, J. L. (2005) 'Regulation of cerebellar neuronal migration and neurite outgrowth by thyroxine and 3,3',5'-triiodothyronine', *Brain Res Dev Brain Res*, 154(1), pp. 121-35.
- Favaro, R., Valotta, M., Ferri, A. L., Latorre, E., Mariani, J., Giachino, C., Lancini, C., Tosetti, V., Ottolenghi, S., Taylor, V. and Nicolis, S. K. (2009) 'Hippocampal development and neural stem cell maintenance require Sox2-dependent regulation of Shh', *Nat Neurosci*, 12(10), pp. 1248-56.
- Fernández-Pernas, P., Fafiá-Labora, J., Lesende-Rodríguez, I., Mateos, J., De la Fuente, A., Fuentes, I., De Toro Santos, J., Blanco Garcí, F. and Arufe, M. C. (2016) '3, 3', 5-triiodo-L-thyronine Increases In Vitro Chondrogenesis of Mesenchymal Stem Cells From Human Umbilical Cord Stroma Through SRC2', *J Cell Biochem*, 117(9), pp. 2097-108.
- Fernyhough, P., Roy Chowdhury, S. K. and Schmidt, R. E. (2010) 'Mitochondrial stress and the pathogenesis of diabetic neuropathy', *Expert Rev Endocrinol Metab*, 5(1), pp. 39-49.
- Ferri, A. L., Cavallaro, M., Braida, D., Di Cristofano, A., Canta, A., Vezzani, A., Ottolenghi, S., Pandolfi, P. P., Sala, M., DeBiasi, S. and Nicolis, S. K. (2004) 'Sox2 deficiency causes neurodegeneration and impaired neurogenesis in the adult mouse brain', *Development*, 131(15), pp. 3805-19.
- Fini, J. B., Le Méel, S., Palmier, K., Darras, V. M., Punzon, I., Richardson, S. J., Clerget-Froidevaux, M. S. and Demeneix, B. A. (2012) 'Thyroid hormone signaling in the *Xenopus laevis* embryo is functional and susceptible to endocrine disruption', *Endocrinology*, 153(10), pp. 5068-81.
- Fini, J. B., Le Mevel, S., Turque, N., Palmier, K., Zalko, D., Cravedi, J. P. and Demeneix, B. A. (2007) 'An in vivo multiwell-based fluorescent screen for monitoring vertebrate thyroid hormone disruption', *Environ Sci Technol*, 41(16), pp. 5908-14.
- Fini, J. B., Mughal, B. B., Le Méel, S., Leemans, M., Lettmann, M., Spirhanzlova, P., Affaticati, P., Jenett, A. and Demeneix, B. A. (2017) 'Human amniotic fluid contaminants alter thyroid hormone signalling and early brain development in *Xenopus* embryos', *Sci Rep*, 7, pp. 43786.
- Finzsch, M., Stolt, C. C., Lommes, P. and Wegner, M. (2008) 'Sox9 and Sox10 influence survival and migration of oligodendrocyte precursors in the spinal cord by regulating PDGF receptor alpha expression', *Development*, 135(4), pp. 637-46.
- Firth, J. D., Ebert, B. L. and Ratcliffe, P. J. (1995) 'Hypoxic regulation of lactate dehydrogenase A. Interaction between hypoxia-inducible factor 1 and cAMP response elements', *J Biol Chem*, 270(36), pp. 21021-7.
- Fishman, J. B., Rubin, J. B., Handrahan, J. V., Connor, J. R. and Fine, R. E. (1987) 'Receptor-mediated transcytosis of transferrin across the blood-brain barrier', *J Neurosci Res*, 18(2), pp. 299-304.

- Fliers, E. and Boelen, A. (2010) 'Type 2 deiodinase and brown fat: the heat is on--or off', *Endocrinology*, 151(9), pp. 4087-9.
- Flippo, K. H. and Strack, S. (2017) 'An emerging role for mitochondrial dynamics in schizophrenia', *Schizophr Res*, 187, pp. 26-32.
- Folmes, C. D., Park, S. and Terzic, A. (2013) 'Lipid metabolism greases the stem cell engine', *Cell Metab*, 17(2), pp. 153-5.
- Fontaine, E. M., Moussa, M., Devin, A., Garcia, J., Ghisolfi, J., Rigoulet, M. and Leverve, X. M. (1996) 'Effect of polyunsaturated fatty acids deficiency on oxidative phosphorylation in rat liver mitochondria', *Biochim Biophys Acta*, 1276(3), pp. 181-7.
- Forman, B. M., Umesono, K., Chen, J. and Evans, R. M. (1995) 'Unique response pathways are established by allosteric interactions among nuclear hormone receptors', *Cell*, 81(4), pp. 541-50.
- Forrest, D., Hallböök, F., Persson, H. and Vennström, B. (1991) 'Distinct functions for thyroid hormone receptors alpha and beta in brain development indicated by differential expression of receptor genes', *EMBO J*, 10(2), pp. 269-75.
- Foster, T. C., Defazio, R. A. and Bizon, J. L. (2012) 'Characterizing cognitive aging of spatial and contextual memory in animal models', *Front Aging Neurosci*, 4, pp. 12.
- Francis, F., Koulakoff, A., Boucher, D., Chafey, P., Schaar, B., Vinet, M. C., Friocourt, G., McDonnell, N., Reiner, O., Kahn, A., McConnell, S. K., Berwald-Netter, Y., Denoulet, P. and Chelly, J. (1999) 'Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons', *Neuron*, 23(2), pp. 247-56.
- Freitas, J. E. (2000) 'Therapeutic options in the management of toxic and nontoxic nodular goiter', *Semin Nucl Med*, 30(2), pp. 88-97.
- Friedman, J. R., Lackner, L. L., West, M., DiBenedetto, J. R., Nunnari, J. and Voeltz, G. K. (2011) 'ER tubules mark sites of mitochondrial division', *Science*, 334(6054), pp. 358-62.
- Friedman, J. R. and Nunnari, J. (2014) 'Mitochondrial form and function', *Nature*, 505(7483), pp. 335-43.
- Friesema, E. C., Ganguly, S., Abdalla, A., Manning Fox, J. E., Halestrap, A. P. and Visser, T. J. (2003) 'Identification of monocarboxylate transporter 8 as a specific thyroid hormone transporter', *J Biol Chem*, 278(41), pp. 40128-35.
- Friesema, E. C., Grueters, A., Biebermann, H., Krude, H., von Moers, A., Reeser, M., Barrett, T. G., Mancilla, E. E., Svensson, J., Kester, M. H., Kuiper, G. G., Balkassmi, S., Uitterlinden, A. G., Koehrle, J., Rodien, P., Halestrap, A. P. and Visser, T. J. (2004) 'Association between mutations in a thyroid hormone transporter and severe X-linked psychomotor retardation', *Lancet*, 364(9443), pp. 1435-7.

- Friesema, E. C., Jansen, J., Jachtenberg, J. W., Visser, W. E., Kester, M. H. and Visser, T. J. (2008) 'Effective cellular uptake and efflux of thyroid hormone by human monocarboxylate transporter 10', *Mol Endocrinol*, 22(6), pp. 1357-69.
- Friesema, E. C., Kuiper, G. G., Jansen, J., Visser, T. J. and Kester, M. H. (2006) 'Thyroid hormone transport by the human monocarboxylate transporter 8 and its rate-limiting role in intracellular metabolism', *Mol Endocrinol*, 20(11), pp. 2761-72.
- Fu, A. L., Zhou, C. Y. and Chen, X. (2010) 'Thyroid hormone prevents cognitive deficit in a mouse model of Alzheimer's disease', *Neuropharmacology*, 58(4-5), pp. 722-9.
- Fu, A., Zhou, R. and Xu, X. (2014) 'The synthetic thyroid hormone, levothyroxine, protects cholinergic neurons in the hippocampus of naturally aged mice', *Neural Regen Res*, 9(8), pp. 864-71.
- Fu, J., Refetoff, S. and Dumitrescu, A. M. (2013) 'Inherited defects of thyroid hormone-cell-membrane transport: review of recent findings', *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 20(5), pp. 434-40.
- Funa, K. and Sasahara, M. (2014) 'The roles of PDGF in development and during neurogenesis in the normal and diseased nervous system', *J Neuroimmune Pharmacol*, 9(2), pp. 168-81.
- Fünfschilling, U., Supplie, L. M., Mahad, D., Boretius, S., Saab, A. S., Edgar, J., Brinkmann, B. G., Kassmann, C. M., Tzvetanova, I. D., Möius, W., Diaz, F., Meijer, D., Suter, U., Hamprecht, B., Sereda, M. W., Moraes, C. T., Frahm, J., Goebbels, S. and Nave, K. A. (2012) 'Glycolytic oligodendrocytes maintain myelin and long-term axonal integrity', *Nature*, 485(7399), pp. 517-21.
- Furutachi, S., Miya, H., Watanabe, T., Kawai, H., Yamasaki, N., Harada, Y., Imayoshi, I., Nelson, M., Nakayama, K. I., Hirabayashi, Y. and Gotoh, Y. (2015) 'Slowly dividing neural progenitors are an embryonic origin of adult neural stem cells', *Nat Neurosci*, 18(5), pp. 657-65.
- Galton, V. A., Wood, E. T., St Germain, E. A., Withrow, C. A., Aldrich, G., St Germain, G. M., Clark, A. S. and St Germain, D. L. (2007) 'Thyroid hormone homeostasis and action in the type 2 deiodinase-deficient rodent brain during development', *Endocrinology*, 148(7), pp. 3080-8.
- Gao, Z., Ure, K., Ables, J. L., Lagace, D. C., Nave, K. A., Goebbels, S., Eisch, A. J. and Hsieh, J. (2009) 'Neurod1 is essential for the survival and maturation of adult-born neurons', *Nat Neurosci*, 12(9), pp. 1090-2.
- Garland, R. C. (1986) 'Induction of glucose 6-phosphatase in cultured hepatoma cells by dexamethasone', *Biochem Biophys Res Commun*, 139(3), pp. 1130-4.
- Garstka, H. L., Fäke, M., Escribano, J. R. and Wiesner, R. J. (1994) 'Stoichiometry of mitochondrial transcripts and regulation of gene expression by mitochondrial transcription factor A', *Biochem Biophys Res Commun*, 200(1), pp. 619-26.
- Gascon, M., Fort, M., Martíez, D., Carsin, A. E., Forns, J., Grimalt, J. O., Santa Marina, L., Lertxundi, N., Sunyer, J. and Vrijheid, M. (2012) 'Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk and neuropsychological development in infants', *Environ Health Perspect*, 120(12), pp. 1760-5.

- Gaspar, R., Meyer, S., Gotthardt, K., Sirajuddin, M. and Wittinghofer, A. (2009) 'It takes two to tango: regulation of G proteins by dimerization', *Nat Rev Mol Cell Biol*, 10(6), pp. 423-9.
- Ge, J. F., Xu, Y. Y., Li, N., Zhang, Y., Qiu, G. L., Chu, C. H., Wang, C. Y., Qin, G. and Chen, F. H. (2015) 'Resveratrol improved the spatial learning and memory in subclinical hypothyroidism rat induced by hemi-thyroid electrocauterization', *Endocr J*, 62(10), pp. 927-38.
- Ge, J. F., Xu, Y. Y., Qin, G., Cheng, J. Q. and Chen, F. H. (2016) 'Resveratrol Ameliorates the Anxiety- and Depression-Like Behavior of Subclinical Hypothyroidism Rat: Possible Involvement of the HPT Axis, HPA Axis, and Wnt/ β Catenin Pathway', *Front Endocrinol (Lausanne)*, 7, pp. 44.
- Genoud, S., Lappe-Siefke, C., Goebbels, S., Radtke, F., Aguet, M., Scherer, S. S., Suter, U., Nave, K. A. and Mantei, N. (2002) 'Notch1 control of oligodendrocyte differentiation in the spinal cord', *J Cell Biol*, 158(4), pp. 709-18.
- Gereben, B., Zavacki, A. M., Ribich, S., Kim, B. W., Huang, S. A., Simonides, W. S., Zeöd, A. and Bianco, A. C. (2008) 'Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling', *Endocr Rev*, 29(7), pp. 898-938.
- Ge, W. P., Miyawaki, A., Gage, F. H., Jan, Y. N. and Jan, L. Y. (2012) 'Local generation of glia is a major astrocyte source in postnatal cortex', *Nature*, 484(7394), pp. 376-80.
- Gibbons, J. J., Abraham, R. T. and Yu, K. (2009) 'Mammalian target of rapamycin: discovery of rapamycin reveals a signaling pathway important for normal and cancer cell growth', *Semin Oncol*, 36 Suppl 3, pp. S3-S17.
- Gincel, D., Zaid, H. and Shoshan-Barmatz, V. (2001) 'Calcium binding and translocation by the voltage-dependent anion channel: a possible regulatory mechanism in mitochondrial function', *Biochem J*, 358(Pt 1), pp. 147-55.
- Givogri, M. I., de Planell, M., Galbiati, F., Superchi, D., Gritti, A., Vescovi, A., de Vellis, J. and Bongarzone, E. R. (2006) 'Notch signaling in astrocytes and neuroblasts of the adult subventricular zone in health and after cortical injury', *Dev Neurosci*, 28(1-2), pp. 81-91.
- Gjedde, S., Gormsen, L. C., Riis, A. L., Jørgensen, J. O., Rungby, J., Møler, N., Weeke, J. and Pedersen, S. B. (2010) 'Reduced expression of uncoupling protein 2 in adipose tissue in patients with hypothyroidism', *J Clin Endocrinol Metab*, 95(7), pp. 3537-41.
- Glass, C. K. (1994) 'Differential recognition of target genes by nuclear receptor monomers, dimers, and heterodimers', *Endocr Rev*, 15(3), pp. 391-407.
- Glass, C. K., Holloway, J. M., Devary, O. V. and Rosenfeld, M. G. (1988) 'The thyroid hormone receptor binds with opposite transcriptional effects to a common sequence motif in thyroid hormone and estrogen response elements', *Cell*, 54(3), pp. 313-23.
- Glater, E. E., Megeath, L. J., Stowers, R. S. and Schwarz, T. L. (2006) 'Axonal transport of mitochondria requires milton to recruit kinesin heavy chain and is light chain independent', *J Cell Biol*, 173(4), pp. 545-57.

- Gleeson, J. G., Allen, K. M., Fox, J. W., Lamperti, E. D., Berkovic, S., Scheffer, I., Cooper, E. C., Dobyns, W. B., Minnerath, S. R., Ross, M. E. and Walsh, C. A. (1998) 'Doublecortin, a brain-specific gene mutated in human X-linked lissencephaly and double cortex syndrome, encodes a putative signaling protein', *Cell*, 92(1), pp. 63-72.
- Gleeson, J. G., Minnerath, S. R., Fox, J. W., Allen, K. M., Luo, R. F., Hong, S. E., Berg, M. J., Kuzniecky, R., Reitnauer, P. J., Borgatti, R., Mira, A. P., Guerrini, R., Holmes, G. L., Rooney, C. M., Berkovic, S., Scheffer, I., Cooper, E. C., Ricci, S., Cusmai, R., Crawford, T. O., Leroy, R., Andermann, E., Wheless, J. W., Dobyns, W. B. and Walsh, C. A. (1999) 'Characterization of mutations in the gene doublecortin in patients with double cortex syndrome', *Ann Neurol*, 45(2), pp. 146-53.
- Goglia, F. (2014) 'The effects of 3,5-diiodothyronine on energy balance', *Front Physiol*, 5, pp. 528.
- Goglia, F., Lanni, A., Barth, J. and Kadenbach, B. (1994) 'Interaction of diiodothyronines with isolated cytochrome c oxidase', *FEBS Lett*, 346(2-3), pp. 295-8.
- Goglia, F., Torresani, J., Bugli, P., Barletta, A. and Liverini, G. (1981) 'In vitro binding of triiodothyronine to rat liver mitochondria', *Pflugers Arch*, 390(2), pp. 120-4.
- Gonzalez-Perez, O., Romero-Rodriguez, R., Soriano-Navarro, M., Garcia-Verdugo, J. M. and Alvarez-Buylla, A. (2009) 'Epidermal growth factor induces the progeny of subventricular zone type B cells to migrate and differentiate into oligodendrocytes', *Stem Cells*, 27(8), pp. 2032-43.
- GOOLDEN, A. W., GARTSIDE, J. M., JACKSON, D. J. and OSORIO, C. (1962) 'Uptake of ¹³¹I triiodothyronine by red cells. A diagnostic test of thyroid function', *Lancet*, 2(7249), pp. 218-20.
- Gothié J. D., Demeneix, B. and Remaud, S. (2017b) 'Comparative approaches to understanding thyroid hormone regulation of neurogenesis', *Mol Cell Endocrinol*.
- Gothié J.D., Sébillot A., Luongo C., Legendre M., Nguyen Van C., Le Blay K., Perret-Jeanneret M., Remaud S. and Demeneix B.A. (2017a) 'Adult neural stem cell fate is determined by thyroid hormone activation of mitochondrial metabolism', *Molecular Metabolism*, ISSN 2212-8778, 10.1016/j.molmet.2017.08.003.
- Gould, E., Cameron, H. A., Daniels, D. C., Woolley, C. S. and McEwen, B. S. (1992) 'Adrenal hormones suppress cell division in the adult rat dentate gyrus', *J Neurosci*, 12(9), pp. 3642-50.
- Gould, E., Reeves, A. J., Fallah, M., Tanapat, P., Gross, C. G. and Fuchs, E. (1999) 'Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(9), pp. 5263-7.
- Gould, E., Tanapat, P., McEwen, B. S., Flüge, G. and Fuchs, E. (1998) 'Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(6), pp. 3168-71.
- Graham, V., Khudyakov, J., Ellis, P. and Pevny, L. (2003) 'SOX2 functions to maintain neural progenitor identity', *Neuron*, 39(5), pp. 749-65.

- Grandemange, S., Seyer, P., Carazo, A., Béuwe, P., Pessemesse, L., Busson, M., Marsac, C., Roger, P., Casas, F., Cabello, G. and Wrutniak-Cabello, C. (2005) 'Stimulation of mitochondrial activity by p43 overexpression induces human dermal fibroblast transformation', *Cancer Res*, 65(10), pp. 4282-91.
- Grant, N. (2007) 'The role of triiodothyronine-induced substrate cycles in the hepatic response to overnutrition: thyroid hormone as an antioxidant', *Med Hypotheses*, 68(3), pp. 641-9.
- Grøtved, L., Waterfall, J. J., Kim, D. W., Baek, S., Sung, M. H., Zhao, L., Park, J. W., Nielsen, R., Walker, R. L., Zhu, Y. J., Meltzer, P. S., Hager, G. L. and Cheng, S. Y. (2015) 'Transcriptional activation by the thyroid hormone receptor through ligand-dependent receptor recruitment and chromatin remodelling', *Nat Commun*, 6, pp. 7048.
- Guadaño-Ferraz, A., Escámez, M. J., Rausell, E. and Bernal, J. (1999) 'Expression of type 2 iodothyronine deiodinase in hypothyroid rat brain indicates an important role of thyroid hormone in the development of specific primary sensory systems', *J Neurosci*, 19(9), pp. 3430-9.
- Guadaño-Ferraz, A., Obregó, M. J., St Germain, D. L. and Bernal, J. (1997) 'The type 2 iodothyronine deiodinase is expressed primarily in glial cells in the neonatal rat brain', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(19), pp. 10391-6.
- Guenther, M. G., Barak, O. and Lazar, M. A. (2001) 'The SMRT and N-CoR corepressors are activating cofactors for histone deacetylase 3', *Mol Cell Biol*, 21(18), pp. 6091-101.
- Guissouma, H., Dupré S. M., Becker, N., Jeannin, E., Seugnet, I., Desvergne, B. and Demeneix, B. A. (2002) 'Feedback on hypothalamic TRH transcription is dependent on thyroid hormone receptor N terminus', *Mol Endocrinol*, 16(7), pp. 1652-66.
- Guissouma, H., Ghorbel, M. T., Seugnet, I., Ouatas, T. and Demeneix, B. A. (1998) 'Physiological regulation of hypothalamic TRH transcription in vivo is T3 receptor isoform specific', *FASEB J*, 12(15), pp. 1755-64.
- Gunter, T. E., Yule, D. I., Gunter, K. K., Eliseev, R. A. and Salter, J. D. (2004) 'Calcium and mitochondria', *FEBS Lett*, 567(1), pp. 96-102.
- Guo, K., Lu, J., Huang, Y., Wu, M., Zhang, L., Yu, H., Zhang, M., Bao, Y., He, J. C., Chen, H. and Jia, W. (2015) 'Protective role of PGC-1 α in diabetic nephropathy is associated with the inhibition of ROS through mitochondrial dynamic remodeling', *PLoS One*, 10(4), pp. e0125176.
- Gupta, S. C., Hevia, D., Patchva, S., Park, B., Koh, W. and Aggarwal, B. B. (2012) 'Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: the roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and therapy', *Antioxid Redox Signal*, 16(11), pp. 1295-322.
- Gurd, B. J., Yoshida, Y., Lally, J., Holloway, G. P. and Bonen, A. (2009) 'The deacetylase enzyme SIRT1 is not associated with oxidative capacity in rat heart and skeletal muscle and its overexpression reduces mitochondrial biogenesis', *J Physiol*, 587(Pt 8), pp. 1817-28.

- Gurd, B. J., Yoshida, Y., McFarlan, J. T., Holloway, G. P., Moyes, C. D., Heigenhauser, G. J., Spriet, L. and Bonen, A. (2011) 'Nuclear SIRT1 activity, but not protein content, regulates mitochondrial biogenesis in rat and human skeletal muscle', *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 301(1), pp. R67-75.
- Gurley, L. R., Walters, R. A. and Tobey, R. A. (1974) 'Cell cycle-specific changes in histone phosphorylation associated with cell proliferation and chromosome condensation', *J Cell Biol*, 60(2), pp. 356-64.
- Gustafsson, M. V., Zheng, X., Pereira, T., Gradin, K., Jin, S., Lundkvist, J., Ruas, J. L., Poellinger, L., Lendahl, U. and Bondesson, M. (2005) 'Hypoxia requires notch signaling to maintain the undifferentiated cell state', *Dev Cell*, 9(5), pp. 617-28.
- Gyllenberg, D., Sourander, A., Surcel, H. M., Hinkka-Yli-Salomäi, S., McKeague, I. W. and Brown, A. S. (2016) 'Hypothyroxinemia During Gestation and Offspring Schizophrenia in a National Birth Cohort', *Biol Psychiatry*, 79(12), pp. 962-70.
- Haan, N., Goodman, T., Najdi-Samiei, A., Stratford, C. M., Rice, R., El Agha, E., Bellusci, S. and Hajihosseini, M. K. (2013) 'Fgf10-expressing tanycytes add new neurons to the appetite/energy-balance regulating centers of the postnatal and adult hypothalamus', *J Neurosci*, 33(14), pp. 6170-80.
- Hack, M. A., Saghatelian, A., de Chevigny, A., Pfeifer, A., Ashery-Padan, R., Lledo, P. M. and Göz, M. (2005) 'Neuronal fate determinants of adult olfactory bulb neurogenesis', *Nat Neurosci*, 8(7), pp. 865-72.
- Haddow, J. E., Palomaki, G. E., Allan, W. C., Williams, J. R., Knight, G. J., Gagnon, J., O'Heir, C. E., Mitchell, M. L., Hermos, R. J., Waisbren, S. E., Faix, J. D. and Klein, R. Z. (1999) 'Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child', *N Engl J Med*, 341(8), pp. 549-55.
- Hadlow, N. C., Rothacker, K. M., Wardrop, R., Brown, S. J., Lim, E. M. and Walsh, J. P. (2013) 'The relationship between TSH and free T4 in a large population is complex and nonlinear and differs by age and sex', *J Clin Endocrinol Metab*, 98(7), pp. 2936-43.
- Haigis, M. C., Mostoslavsky, R., Haigis, K. M., Fahie, K., Christodoulou, D. C., Murphy, A. J., Valenzuela, D. M., Yancopoulos, G. D., Karow, M., Blander, G., Wolberger, C., Prolla, T. A., Weindruch, R., Alt, F. W. and Guarente, L. (2006) 'SIRT4 inhibits glutamate dehydrogenase and opposes the effects of calorie restriction in pancreatic beta cells', *Cell*, 126(5), pp. 941-54.
- Hallows, W. C., Lee, S. and Denu, J. M. (2006) 'Sirtuins deacetylate and activate mammalian acetyl-CoA synthetases', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(27), pp. 10230-5.
- Han, J., Day, J. R., Connor, J. R. and Beard, J. L. (2003) 'Gene expression of transferrin and transferrin receptor in brains of control vs. iron-deficient rats', *Nutr Neurosci*, 6(1), pp. 1-10.

- Han, M. K., Song, E. K., Guo, Y., Ou, X., Mantel, C. and Broxmeyer, H. E. (2008) 'SIRT1 regulates apoptosis and Nanog expression in mouse embryonic stem cells by controlling p53 subcellular localization', *Cell Stem Cell*, 2(3), pp. 241-51.
- Hansen, D. V., Lui, J. H., Parker, P. R. and Kriegstein, A. R. (2010) 'Neurogenic radial glia in the outer subventricular zone of human neocortex', *Nature*, 464(7288), pp. 554-561.
- Hanson, P. J. and Parsons, S. (1977) 'Metabolism and transport of glutamine and glucose in vascularly perfused small intestine rat', *Biochem J*, 166(3), pp. 509-19.
- Harris, J. J. and Attwell, D. (2013) 'Is myelin a mitochondrion?' *J Cereb Blood Flow Metab*, 33(1), pp. 33-6.
- Harvey, C. B., Bassett, J. H., Maruvada, P., Yen, P. M. and Williams, G. R. (2007) 'The rat thyroid hormone receptor (TR) Deltabeta3 displays cell-, TR isoform-, and thyroid hormone response element-specific actions', *Endocrinology*, 148(4), pp. 1764-73.
- Hashimoto, K., Cohen, R. N., Yamada, M., Markan, K. R., Monden, T., Satoh, T., Mori, M. and Wondisford, F. E. (2006) 'Cross-talk between thyroid hormone receptor and liver X receptor regulatory pathways is revealed in a thyroid hormone resistance mouse model', *J Biol Chem*, 281(1), pp. 295-302.
- Hashizume, K. and Ichikawa, K. (1982) 'Localization of 3,5,3'-L-triiodothyronine receptor in rat kidney mitochondrial membranes', *Biochem Biophys Res Commun*, 106(3), pp. 920-6.
- Hassani, Z., Francis, J. C., Alfama, G., Dubois, G. M., Paris, M., Giovannangeli, C. and Demeneix, B. A. (2007) 'A hybrid CMV-H1 construct improves efficiency of PEI-delivered shRNA in the mouse brain', *Nucleic Acids Res*, 35(9), pp. e65.
- Hatakeyama, J., Bessho, Y., Katoh, K., Ookawara, S., Fujioka, M., Guillemot, F. and Kageyama, R. (2004) 'Hes genes regulate size, shape and histogenesis of the nervous system by control of the timing of neural stem cell differentiation', *Development*, 131(22), pp. 5539-50.
- Hathaway, J. A. and Atkinson, D. E. (1965) 'Kinetics of regulatory enzymes: effect of adenosine triphosphate on yeast citrate synthase', *Biochem Biophys Res Commun*, 20(5), pp. 661-5.
- Havis, E., Le Mevel, S., Morvan Dubois, G., Shi, D. L., Scanlan, T. S., Demeneix, B. A. and Sachs, L. M. (2006) 'Unliganded thyroid hormone receptor is essential for *Xenopus laevis* eye development', *EMBO J*, 25(20), pp. 4943-51.
- Heeg, S., Hirt, N., Queisser, A., Schmiege, H., Thaler, M., Kunert, H., Quante, M., Goessel, G., von Werder, A., Harder, J., Beijersbergen, R., Blum, H. E., Nakagawa, H. and Opitz, O. G. (2011) 'EGFR overexpression induces activation of telomerase via PI3K/AKT-mediated phosphorylation and transcriptional regulation through Hif1-alpha in a cellular model of oral-esophageal carcinogenesis', *Cancer Sci*, 102(2), pp. 351-60.
- Herbert, J., Wilcox, J. N., Pham, K. T., Freneau, R. T., Zeviani, M., Dwork, A., Soprano, D. R., Makover, A., Goodman, D. S. and Zimmerman, E. A. (1986) 'Transthyretin: a choroid plexus-

- specific transport protein in human brain. The 1986 S. Weir Mitchell award', *Neurology*, 36(7), pp. 900-11.
- Hertoghe, T. (2005) 'The "multiple hormone deficiency" theory of aging: is human senescence caused mainly by multiple hormone deficiencies?' *Ann N Y Acad Sci*, 1057, pp. 448-65.
- He, T. C., Sparks, A. B., Rago, C., Hermeking, H., Zawel, L., da Costa, L. T., Morin, P. J., Vogelstein, B. and Kinzler, K. W. (1998) 'Identification of c-MYC as a target of the APC pathway', *Science*, 281(5382), pp. 1509-12.
- Heuer, H., Maier, M. K., Iden, S., Mittag, J., Friesema, E. C., Visser, T. J. and Bauer, K. (2005) 'The monocarboxylate transporter 8 linked to human psychomotor retardation is highly expressed in thyroid hormone-sensitive neuron populations', *Endocrinology*, 146(4), pp. 1701-6.
- Hirabayashi, Y. and Gotoh, Y. (2005) 'Stage-dependent fate determination of neural precursor cells in mouse forebrain', *Neurosci Res*, 51(4), pp. 331-6.
- Hiroi, Y., Kim, H. H., Ying, H., Furuya, F., Huang, Z., Simoncini, T., Noma, K., Ueki, K., Nguyen, N. H., Scanlan, T. S., Moskowitz, M. A., Cheng, S. Y. and Liao, J. K. (2006) 'Rapid nongenomic actions of thyroid hormone', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(38), pp. 14104-9.
- Hirokawa, N., Niwa, S. and Tanaka, Y. (2010) 'Molecular motors in neurons: transport mechanisms and roles in brain function, development, and disease', *Neuron*, 68(4), pp. 610-38.
- Hisahara, S., Chiba, S., Matsumoto, H., Tanno, M., Yagi, H., Shimohama, S., Sato, M. and Horio, Y. (2008) 'Histone deacetylase SIRT1 modulates neuronal differentiation by its nuclear translocation', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(40), pp. 15599-604.
- Hitoshi, S., Maruta, N., Higashi, M., Kumar, A., Kato, N. and Ikenaka, K. (2007) 'Antidepressant drugs reverse the loss of adult neural stem cells following chronic stress', *J Neurosci Res*, 85(16), pp. 3574-85.
- Hiyama, T. Y., Watanabe, E., Okado, H. and Noda, M. (2004) 'The subfornical organ is the primary locus of sodium-level sensing by Na(x) sodium channels for the control of salt-intake behavior', *J Neurosci*, 24(42), pp. 9276-81.
- Hochachka, P. W. and Lewis, J. K. (1970) 'Enzyme variants in thermal acclimation. Trout liver citrate synthases', *J Biol Chem*, 245(24), pp. 6567-73.
- Hoffman, S. J., Vasko-Moser, J., Miller, W. H., Lark, M. W., Gowen, M. and Stroup, G. (2002) 'Rapid inhibition of thyroxine-induced bone resorption in the rat by an orally active vitronectin receptor antagonist', *J Pharmacol Exp Ther*, 302(1), pp. 205-11.
- Hollenberg, A. N., Monden, T., Flynn, T. R., Boers, M. E., Cohen, O. and Wondisford, F. E. (1995) 'The human thyrotropin-releasing hormone gene is regulated by thyroid hormone through two distinct classes of negative thyroid hormone response elements', *Mol Endocrinol*, 9(5), pp. 540-50.
- Hourai, A. and Miyata, S. (2013) 'Neurogenesis in the circumventricular organs of adult mouse brains', *J Neurosci Res*, 91(6), pp. 757-70.

- Huang, E. J. and Reichardt, L. F. (2001) 'Neurotrophins: roles in neuronal development and function', *Annu Rev Neurosci*, 24, pp. 677-736.
- Hummerich, H. and Soboll, S. (1989) 'Rapid stimulation of calcium uptake into rat liver by L-triiodothyronine', *Biochem J*, 258(2), pp. 363-7.
- Hüser, J. and Blatter, L. A. (1999) 'Fluctuations in mitochondrial membrane potential caused by repetitive gating of the permeability transition pore', *Biochem J*, 343 Pt 2, pp. 311-7.
- Ichihara, Y., Doi, T., Ryu, Y., Nagao, M., Sawada, Y. and Ogata, T. (2017) 'Oligodendrocyte Progenitor Cells Directly Utilize Lactate for Promoting Cell Cycling and Differentiation', *J Cell Physiol*, 232(5), pp. 986-995.
- Ihrie, R. A., Shah, J. K., Harwell, C. C., Levine, J. H., Guinto, C. D., Lezameta, M., Kriegstein, A. R. and Alvarez-Buylla, A. (2011) 'Persistent sonic hedgehog signaling in adult brain determines neural stem cell positional identity', *Neuron*, 71(2), pp. 250-62.
- Imayoshi, I., Sakamoto, M., Ohtsuka, T., Takao, K., Miyakawa, T., Yamaguchi, M., Mori, K., Ikeda, T., Itohara, S. and Kageyama, R. (2008) 'Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain', *Nat Neurosci*, 11(10), pp. 1153-61.
- Imayoshi, I., Sakamoto, M., Yamaguchi, M., Mori, K. and Kageyama, R. (2010) 'Essential roles of Notch signaling in maintenance of neural stem cells in developing and adult brains', *J Neurosci*, 30(9), pp. 3489-98.
- Ingram, C. J., Mulcare, C. A., Itan, Y., Thomas, M. G. and Swallow, D. M. (2009) 'Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence', *Hum Genet*, 124(6), pp. 579-91.
- Inoue, T., Suzuki, Y. and Ra, C. (2010) 'Epigallocatechin-3-gallate inhibits mast cell degranulation, leukotriene C4 secretion, and calcium influx via mitochondrial calcium dysfunction', *Free Radic Biol Med*, 49(4), pp. 632-40.
- Irrcher, I., Adhietty, P. J., Sheehan, T., Joseph, A. M. and Hood, D. A. (2003) 'PPARgamma coactivator-1alpha expression during thyroid hormone- and contractile activity-induced mitochondrial adaptations', *Am J Physiol Cell Physiol*, 284(6), pp. C1669-77.
- Irrcher, I., Walkinshaw, D. R., Sheehan, T. E. and Hood, D. A. (2008) 'Thyroid hormone (T3) rapidly activates p38 and AMPK in skeletal muscle in vivo', *J Appl Physiol (1985)*, 104(1), pp. 178-85.
- Ishihara, N., Nomura, M., Jofuku, A., Kato, H., Suzuki, S. O., Masuda, K., Otera, H., Nakanishi, Y., Nonaka, I., Goto, Y., Taguchi, N., Morinaga, H., Maeda, M., Takayanagi, R., Yokota, S. and Mihara, K. (2009) 'Mitochondrial fission factor Drp1 is essential for embryonic development and synapse formation in mice', *Nat Cell Biol*, 11(8), pp. 958-66.
- Itoh, K., Nakamura, K., Iijima, M. and Sesaki, H. (2013) 'Mitochondrial dynamics in neurodegeneration', *Trends Cell Biol*, 23(2), pp. 64-71.
- Ito, K. and Suda, T. (2014) 'Metabolic requirements for the maintenance of self-renewing stem cells', *Nat Rev Mol Cell Biol*, 15(4), pp. 243-56.

- Ito, K., Uchida, Y., Ohtsuki, S., Aizawa, S., Kawakami, H., Katsukura, Y., Kamiie, J. and Terasaki, T. (2011) 'Quantitative membrane protein expression at the blood-brain barrier of adult and younger cynomolgus monkeys', *J Pharm Sci*, 100(9), pp. 3939-50.
- Ivan, M., Haberberger, T., Gervasi, D. C., Michelson, K. S., Güzler, V., Kondo, K., Yang, H., Sorokina, I., Conaway, R. C., Conaway, J. W. and Kaelin, W. G. (2002) 'Biochemical purification and pharmacological inhibition of a mammalian prolyl hydroxylase acting on hypoxia-inducible factor', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(21), pp. 13459-64.
- Jackson, E. L., Garcia-Verdugo, J. M., Gil-Perotin, S., Roy, M., Quinones-Hinojosa, A., VandenBerg, S. and Alvarez-Buylla, A. (2006) 'PDGFR alpha-positive B cells are neural stem cells in the adult SVZ that form glioma-like growths in response to increased PDGF signaling', *Neuron*, 51(2), pp. 187-99.
- Jacobs, B. L. (2002) 'Adult brain neurogenesis and depression', *Brain Behav Immun*, 16(5), pp. 602-9.
- Jäger, S., Handschin, C., St-Pierre, J. and Spiegelman, B. M. (2007) 'AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1alpha', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(29), pp. 12017-22.
- Jiang, W., Cao, L., Wang, F., Ge, H., Wu, P. C., Li, X. W. and Chen, G. H. (2016) 'Accelerated reduction of serum thyroxine and hippocampal histone acetylation links to exacerbation of spatial memory impairment in aged CD-1 mice pubertally exposed to bisphenol-a', *Age (Dordr)*, 38(5-6), pp. 405-418.
- Jin, Q., Yan, T., Ge, X., Sun, C., Shi, X. and Zhai, Q. (2007) 'Cytoplasm-localized SIRT1 enhances apoptosis', *J Cell Physiol*, 213(1), pp. 88-97.
- Johri, A., Chandra, A. and Beal, M. F. (2013) 'PGC-1 α mitochondrial dysfunction, and Huntington's disease', *Free Radic Biol Med*, 62, pp. 37-46.
- Johri, A., Starkov, A. A., Chandra, A., Hennessey, T., Sharma, A., Orobello, S., Squitieri, F., Yang, L. and Beal, M. F. (2011) 'Truncated peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α splice variant is severely altered in Huntington's disease', *Neurodegener Dis*, 8(6), pp. 496-503.
- Jones, K. S. and Connor, B. J. (2016) 'The Effect of Pro-Neurogenic Gene Expression on Adult Subventricular Zone Precursor Cell Recruitment and Fate Determination After Excitotoxic Brain Injury', *J Stem Cells Regen Med*, 12(1), pp. 25-35.
- Jourdon, A., Gresset, A., Spassky, N., Charnay, P., Topilko, P. and Santos, R. (2016) 'Prss56, a novel marker of adult neurogenesis in the mouse brain', *Brain Struct Funct*, 221(9), pp. 4411-4427.
- Kageyama, R., Imayoshi, I. and Sakamoto, M. (2012) 'The role of neurogenesis in olfaction-dependent behaviors', *Behav Brain Res*, 227(2), pp. 459-63.
- Kalyanaraman, H., Schwappacher, R., Joshua, J., Zhuang, S., Scott, B. T., Klos, M., Casteel, D. E., Frangos, J. A., Dillmann, W., Boss, G. R. and Pilz, R. B. (2014) 'Nongenomic thyroid hormone signaling occurs through a plasma membrane-localized receptor', *Sci Signal*, 7(326), pp. ra48.

- Kann, O. and Kovás, R. (2007) 'Mitochondria and neuronal activity', *Am J Physiol Cell Physiol*, 292(2), pp. C641-57.
- Kapoor, R., Desouza, L. A., Nanavaty, I. N., Kernie, S. G. and Vaidya, V. A. (2012) 'Thyroid hormone accelerates the differentiation of adult hippocampal progenitors', *J Neuroendocrinol*, 24(9), pp. 1259-71.
- Kapoor, R., Fanibunda, S. E., Desouza, L. A., Guha, S. K. and Vaidya, V. A. (2015) 'Perspectives on thyroid hormone action in adult neurogenesis', *J Neurochem*, 133(5), pp. 599-616.
- Kapoor, R., Ghosh, H., Nordstrom, K., Vennstrom, B. and Vaidya, V. A. (2011) 'Loss of thyroid hormone receptor β s associated with increased progenitor proliferation and NeuroD positive cell number in the adult hippocampus', *Neurosci Lett*, 487(2), pp. 199-203.
- Kapoor, R., van Hogerlinden, M., Wallis, K., Ghosh, H., Nordstrom, K., Vennstrom, B. and Vaidya, V. A. (2010) 'Unliganded thyroid hormone receptor alpha1 impairs adult hippocampal neurogenesis', *FASEB J*, 24(12), pp. 4793-805.
- Karasek, M. and Winczyk, K. (2006) 'Melatonin in humans', *J Physiol Pharmacol*, 57 Suppl 5, pp. 19-39.
- Kasahara, A. and Scorrano, L. (2014) 'Mitochondria: from cell death executioners to regulators of cell differentiation', *Trends Cell Biol*, 24(12), pp. 761-70.
- Kawaguchi, D., Furutachi, S., Kawai, H., Hozumi, K. and Gotoh, Y. (2013) 'Dll1 maintains quiescence of adult neural stem cells and segregates asymmetrically during mitosis', *Nat Commun*, 4, pp. 1880.
- Kelley, K. W., Weigent, D. A. and Kooijman, R. (2007) 'Protein hormones and immunity', *Brain Behav Immun*, 21(4), pp. 384-92.
- Kempermann, G., Kuhn, H. G. and Gage, F. H. (1997) 'More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment', *Nature*, 386(6624), pp. 493-5.
- Khacho, M., Clark, A., Svoboda, D. S., Azzi, J., MacLaurin, J. G., Meghaizel, C., Sesaki, H., Lagace, D. C., Germain, M., Harper, M. E., Park, D. S. and Slack, R. S. (2016) 'Mitochondrial Dynamics Impacts Stem Cell Identity and Fate Decisions by Regulating a Nuclear Transcriptional Program', *Cell Stem Cell*, 19(2), pp. 232-47.
- Khacho, M. and Slack, R. S. (2017) 'Mitochondrial dynamics in the regulation of neurogenesis: From development to the adult brain', *Dev Dyn*.
- Kim, H. J., Shaker, M. R., Cho, B., Cho, H. M., Kim, H., Kim, J. Y. and Sun, W. (2015) 'Dynamin-related protein 1 controls the migration and neuronal differentiation of subventricular zone-derived neural progenitor cells', *Sci Rep*, 5, pp. 15962.
- Kim, H. Y., Lee, K. Y., Lu, Y., Wang, J., Cui, L., Kim, S. J., Chung, J. M. and Chung, K. (2011) 'Mitochondrial Ca(2+) uptake is essential for synaptic plasticity in pain', *J Neurosci*, 31(36), pp. 12982-91.

- Kim, J. W., Tchernyshyov, I., Semenza, G. L. and Dang, C. V. (2006) 'HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia', *Cell Metab*, 3(3), pp. 177-85.
- Kim, R. H., Li, J. J., Ogata, Y., Yamauchi, M., Freedman, L. P. and Sodek, J. (1996) 'Identification of a vitamin D₃-response element that overlaps a unique inverted TATA box in the rat bone sialoprotein gene', *Biochem J*, 318 (Pt 1), pp. 219-26.
- Kimura-Kuroda, J., Nagata, I. and Kuroda, Y. (2007) 'Disrupting effects of hydroxy-polychlorinated biphenyl (PCB) congeners on neuronal development of cerebellar Purkinje cells: a possible causal factor for developmental brain disorders?' *Chemosphere*, 67(9), pp. S412-20.
- Kinne, A., Wittner, M., Wirth, E. K., Hinz, K. M., Schüein, R., Körle, J. and Krause, G. (2015) 'Involvement of the L-Type Amino Acid Transporter Lat2 in the Transport of 3,3'-Diiodothyronine across the Plasma Membrane', *Eur Thyroid J*, 4(Suppl 1), pp. 42-50.
- Kiryu-Seo, S., Ohno, N., Kidd, G. J., Komuro, H. and Trapp, B. D. (2010) 'Demyelination increases axonal stationary mitochondrial size and the speed of axonal mitochondrial transport', *J Neurosci*, 30(19), pp. 6658-66.
- Kluge, M. A., Fetterman, J. L. and Vita, J. A. (2013) 'Mitochondria and endothelial function', *Circ Res*, 112(8), pp. 1171-88.
- Knobloch, M., Braun, S. M., Zurkirchen, L., von Schoultz, C., Zamboni, N., Araújo-Bravo, M. J., Kovacs, W. J., Karalay, O., Suter, U., Machado, R. A., Roccio, M., Lutolf, M. P., Semenkovich, C. F. and Jessberger, S. (2013) 'Metabolic control of adult neural stem cell activity by Fasn-dependent lipogenesis', *Nature*, 493(7431), pp. 226-30.
- Kobayashi, T., Mizuno, H., Imayoshi, I., Furusawa, C., Shirahige, K. and Kageyama, R. (2009) 'The cyclic gene Hes1 contributes to diverse differentiation responses of embryonic stem cells', *Genes Dev*, 23(16), pp. 1870-5.
- Koibuchi, N., Jingu, H., Iwasaki, T. and Chin, W. W. (2003) 'Current perspectives on the role of thyroid hormone in growth and development of cerebellum', *Cerebellum*, 2(4), pp. 279-89.
- Kojetin, D. J., Matta-Camacho, E., Hughes, T. S., Srinivasan, S., Nwachukwu, J. C., Cavett, V., Nowak, J., Chalmers, M. J., Marciano, D. P., Kamenecka, T. M., Shulman, A. I., Rance, M., Griffin, P. R., Bruning, J. B. and Nettles, K. W. (2015) 'Structural mechanism for signal transduction in RXR nuclear receptor heterodimers', *Nat Commun*, 6, pp. 8013.
- Kokoeva, M. V., Yin, H. and Flier, J. S. (2005) 'Neurogenesis in the hypothalamus of adult mice: potential role in energy balance', *Science*, 310(5748), pp. 679-83.
- Kokovay, E., Wang, Y., Kusek, G., Wurster, R., Lederman, P., Lowry, N., Shen, Q. and Temple, S. (2012) 'VCAM1 is essential to maintain the structure of the SVZ niche and acts as an environmental sensor to regulate SVZ lineage progression', *Cell Stem Cell*, 11(2), pp. 220-30.

- Koller, K. J., Wolff, R. S., Warden, M. K. and Zoeller, R. T. (1987) 'Thyroid hormones regulate levels of thyrotropin-releasing-hormone mRNA in the paraventricular nucleus', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 84(20), pp. 7329-33.
- Komitova, M., Zhu, X., Serwanski, D. R. and Nishiyama, A. (2009) 'NG2 cells are distinct from neurogenic cells in the postnatal mouse subventricular zone', *J Comp Neurol*, 512(5), pp. 702-16.
- Kong, W. M., Martin, N. M., Smith, K. L., Gardiner, J. V., Connoley, I. P., Stephens, D. A., Dhillo, W. S., Ghatei, M. A., Small, C. J. and Bloom, S. R. (2004) 'Triiodothyronine stimulates food intake via the hypothalamic ventromedial nucleus independent of changes in energy expenditure', *Endocrinology*, 145(11), pp. 5252-8.
- Konno, D., Shioi, G., Shitamukai, A., Mori, A., Kiyonari, H., Miyata, T. and Matsuzaki, F. (2008) 'Neuroepithelial progenitors undergo LGN-dependent planar divisions to maintain self-renewability during mammalian neurogenesis', *Nat Cell Biol*, 10(1), pp. 93-101.
- Korevaar, T. I., Muetzel, R., Medici, M., Chaker, L., Jaddoe, V. W., de Rijke, Y. B., Steegers, E. A., Visser, T. J., White, T., Tiemeier, H. and Peeters, R. P. (2016) 'Association of maternal thyroid function during early pregnancy with offspring IQ and brain morphology in childhood: a population-based prospective cohort study', *Lancet Diabetes Endocrinol*, 4(1), pp. 35-43.
- Korobova, F., Ramabhadran, V. and Higgs, H. N. (2013) 'An actin-dependent step in mitochondrial fission mediated by the ER-associated formin INF2', *Science*, 339(6118), pp. 464-7.
- Koshiha, T., Detmer, S. A., Kaiser, J. T., Chen, H., McCaffery, J. M. and Chan, D. C. (2004) 'Structural basis of mitochondrial tethering by mitofusin complexes', *Science*, 305(5685), pp. 858-62.
- Koza, R. A., Kozak, U. C., Brown, L. J., Leiter, E. H., MacDonald, M. J. and Kozak, L. P. (1996) 'Sequence and tissue-dependent RNA expression of mouse FAD-linked glycerol-3-phosphate dehydrogenase', *Arch Biochem Biophys*, 336(1), pp. 97-104.
- Kramer, C. K., von Mülen, D., Kritz-Silverstein, D. and Barrett-Connor, E. (2009) 'Treated hypothyroidism, cognitive function, and depressed mood in old age: the Rancho Bernardo Study', *Eur J Endocrinol*, 161(6), pp. 917-21.
- Krebs, H. A. (1972) 'Some aspects of the regulation of fuel supply in omnivorous animals', *Adv Enzyme Regul*, 10, pp. 397-420.
- Krenning, E. P., Docter, R., Bernard, H. F., Visser, T. J. and Hennemann, G. (1978) 'Active transport of triiodothyronine (T3) into isolated rat liver cells', *FEBS Lett*, 91(1), pp. 113-6.
- Kubli, D. A. and Sussman, M. A. (2017) 'Eat, breathe, ROS: controlling stem cell fate through metabolism', *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 15(5), pp. 345-356.
- Kuchler-Bopp, S., Dietrich, J. B., Zaepfel, M. and Delaunoy, J. P. (2000) 'Receptor-mediated endocytosis of transthyretin by ependymoma cells', *Brain Res*, 870(1-2), pp. 185-94.

- Kuhlbrodt, K., Herbarth, B., Sock, E., Hermans-Borgmeyer, I. and Wegner, M. (1998) 'Sox10, a novel transcriptional modulator in glial cells', *J Neurosci*, 18(1), pp. 237-50.
- Kuhn, H. G., Dickinson-Anson, H. and Gage, F. H. (1996) 'Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation', *J Neurosci*, 16(6), pp. 2027-33.
- Kushnareva, Y., Seong, Y., Andreyev, A. Y., Kuwana, T., Kiosses, W. B., Votruba, M. and Newmeyer, D. D. (2016) 'Mitochondrial dysfunction in an Opa1(Q285STOP) mouse model of dominant optic atrophy results from Opa1 haploinsufficiency', *Cell Death Dis*, 7, pp. e2309.
- Kuwabara, T., Hsieh, J., Muotri, A., Yeo, G., Warashina, M., Lie, D. C., Moore, L., Nakashima, K., Asashima, M. and Gage, F. H. (2009) 'Wnt-mediated activation of NeuroD1 and retro-elements during adult neurogenesis', *Nat Neurosci*, 12(9), pp. 1097-105.
- Labbé K., Murley, A. and Nunnari, J. (2014) 'Determinants and functions of mitochondrial behavior', *Annu Rev Cell Dev Biol*, 30, pp. 357-91.
- Lagouge, M., Argmann, C., Gerhart-Hines, Z., Meziane, H., Lerin, C., Daussin, F., Messadeq, N., Milne, J., Lambert, P., Elliott, P., Geny, B., Laakso, M., Puigserver, P. and Auwerx, J. (2006) 'Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha', *Cell*, 127(6), pp. 1109-22.
- Lai, K., Kaspar, B. K., Gage, F. H. and Schaffer, D. V. (2003) 'Sonic hedgehog regulates adult neural progenitor proliferation in vitro and in vivo', *Nat Neurosci*, 6(1), pp. 21-7.
- Lambeth, J. D., Krause, K. H. and Clark, R. A. (2008) 'NOX enzymes as novel targets for drug development', *Semin Immunopathol*, 30(3), pp. 339-63.
- Landers, K. A., Li, H., Subramaniam, V. N., Mortimer, R. H. and Richard, K. (2013) 'Transthyretin-thyroid hormone internalization by trophoblasts', *Placenta*, 34(8), pp. 716-8.
- Lan, F., Cacicedo, J. M., Ruderman, N. and Ido, Y. (2008) 'SIRT1 modulation of the acetylation status, cytosolic localization, and activity of LKB1. Possible role in AMP-activated protein kinase activation', *J Biol Chem*, 283(41), pp. 27628-35.
- Lanks, K. W. (1987) 'End products of glucose and glutamine metabolism by L929 cells', *J Biol Chem*, 262(21), pp. 10093-7.
- Lanni, A., Moreno, M. and Goglia, F. (2016) 'Mitochondrial Actions of Thyroid Hormone', *Compr Physiol*, 6(4), pp. 1591-1607.
- Lanni, A., Moreno, M., Horst, C., Lombardi, A. and Goglia, F. (1994) 'Specific binding sites for 3,3'-diiodo-L-thyronine (3,3'-T₂) in rat liver mitochondria', *FEBS Lett*, 351(2), pp. 237-40.
- Larsen, C. M. and Grattan, D. R. (2012) 'Prolactin, neurogenesis, and maternal behaviors', *Brain Behav Immun*, 26(2), pp. 201-9.
- Larsen, N. B., Rasmussen, M. and Rasmussen, L. J. (2005) 'Nuclear and mitochondrial DNA repair: similar pathways?' *Mitochondrion*, 5(2), pp. 89-108.

- Larsen, P. R. (1982) 'Thyroid-pituitary interaction: feedback regulation of thyrotropin secretion by thyroid hormones', *N Engl J Med*, 306(1), pp. 23-32.
- Laurindo, F. R., Araujo, T. L. and Abrahã, T. B. (2014) 'Nox NADPH oxidases and the endoplasmic reticulum', *Antioxid Redox Signal*, 20(17), pp. 2755-75.
- Lau, W. M., Qiu, G., Helmeeste, D. M., Lee, T. M., Tang, S. W. and So, K. F. (2007) 'Corticosteroid decreases subventricular zone cell proliferation, which could be reversed by paroxetine', *Restor Neurol Neurosci*, 25(1), pp. 17-23.
- Lavado, A., Lagutin, O. V., Chow, L. M., Baker, S. J. and Oliver, G. (2010) 'Prox1 is required for granule cell maturation and intermediate progenitor maintenance during brain neurogenesis', *PLoS Biol*, 8(8).
- Lavado-Autric, R., Ausó E., Garcí-Velasco, J. V., Arufe, M. e. C., Escobar del Rey, F., Berbel, P. and Morreale de Escobar, G. (2003) 'Early maternal hypothyroxinemia alters histogenesis and cerebral cortex cytoarchitecture of the progeny', *J Clin Invest*, 111(7), pp. 1073-82.
- Lazar, M. A., Berrodin, T. J. and Harding, H. P. (1991) 'Differential DNA binding by monomeric, homodimeric, and potentially heteromeric forms of the thyroid hormone receptor', *Mol Cell Biol*, 11(10), pp. 5005-15.
- Lazarov, O. and Marr, R. A. (2010) 'Neurogenesis and Alzheimer's disease: at the crossroads', *Exp Neurol*, 223(2), pp. 267-81.
- Le Belle, J. E., Orozco, N. M., Paucar, A. A., Saxe, J. P., Mottahedeh, J., Pyle, A. D., Wu, H. and Kornblum, H. I. (2011) 'Proliferative neural stem cells have high endogenous ROS levels that regulate self-renewal and neurogenesis in a PI3K/Akt-dependant manner', *Cell Stem Cell*, 8(1), pp. 59-71.
- Ledeen, R. W., Wang, J., Wu, G., Lu, Z. H., Chakraborty, G., Meyenhofer, M., Tying, S. K. and Matalon, R. (2006) 'Physiological role of N-acetylaspartate: contribution to myelinogenesis', *Adv Exp Med Biol*, 576, pp. 131-43; discussion 361-3.
- Lee, D. A., Bedont, J. L., Pak, T., Wang, H., Song, J., Miranda-Angulo, A., Takiar, V., Charubhumi, V., Balordi, F., Takebayashi, H., Aja, S., Ford, E., Fishell, G. and Blackshaw, S. (2012a) 'Tanycytes of the hypothalamic median eminence form a diet-responsive neurogenic niche', *Nat Neurosci*, 15(5), pp. 700-2.
- Lee, J. C., Yau, S. Y., Lee, T. M., Lau, B. W. and So, K. F. (2016) 'Voluntary Wheel Running Reverses the Decrease in Subventricular Zone Neurogenesis Caused by Corticosterone', *Cell Transplant*, 25(11), pp. 1979-1986.
- Lee, J., Duan, W., Long, J. M., Ingram, D. K. and Mattson, M. P. (2000) 'Dietary restriction increases the number of newly generated neural cells, and induces BDNF expression, in the dentate gyrus of rats', *J Mol Neurosci*, 15(2), pp. 99-108.

- Lee, J., Seroogy, K. B. and Mattson, M. P. (2002) 'Dietary restriction enhances neurotrophin expression and neurogenesis in the hippocampus of adult mice', *J Neurochem*, 80(3), pp. 539-47.
- Lee, J. Y., Takahashi, N., Yasubuchi, M., Kim, Y. I., Hashizaki, H., Kim, M. J., Sakamoto, T., Goto, T. and Kawada, T. (2012b) 'Triiodothyronine induces UCP-1 expression and mitochondrial biogenesis in human adipocytes', *Am J Physiol Cell Physiol*, 302(2), pp. C463-72.
- Lee, Y., Morrison, B. M., Li, Y., Lengacher, S., Farah, M. H., Hoffman, P. N., Liu, Y., Tsingalia, A., Jin, L., Zhang, P. W., Pellerin, L., Magistretti, P. J. and Rothstein, J. D. (2012c) 'Oligodendroglia metabolically support axons and contribute to neurodegeneration', *Nature*, 487(7408), pp. 443-8.
- Lehtinen, M. K., Zappaterra, M. W., Chen, X., Yang, Y. J., Hill, A. D., Lun, M., Maynard, T., Gonzalez, D., Kim, S., Ye, P., D'Ercole, A. J., Wong, E. T., LaMantia, A. S. and Walsh, C. A. (2011) 'The cerebrospinal fluid provides a proliferative niche for neural progenitor cells', *Neuron*, 69(5), pp. 893-905.
- Lei, J., Bhargava, M. and Ingbar, D. H. (2009) 'Cell-specific signal transduction pathways regulating Na⁺-K⁺-ATPase. Focus on "short-term effects of thyroid hormones on the Na⁺-K⁺-ATPase activity of chick embryo hepatocytes during development: focus on signal transduction"', *Am J Physiol Cell Physiol*, 296(1), pp. C1-3.
- Lei, J., Mariash, C. N. and Ingbar, D. H. (2004) '3,3',5-Triiodo-L-thyronine up-regulation of Na,K-ATPase activity and cell surface expression in alveolar epithelial cells is Src kinase- and phosphoinositide 3-kinase-dependent', *J Biol Chem*, 279(46), pp. 47589-600.
- Leitner, D. F. and Connor, J. R. (2012) 'Functional roles of transferrin in the brain', *Biochim Biophys Acta*, 1820(3), pp. 393-402.
- LeMaistre, J. L. and Anderson, C. M. (2009) 'Custom astrocyte-mediated vasomotor responses to neuronal energy demand', *Genome Biol*, 10(2), pp. 209.
- Lemkine, G. F., Raj, A., Alfama, G., Turque, N., Hassani, Z., Alegria-Préot, O., Samarut, J., Levi, G. and Demeneix, B. A. (2005) 'Adult neural stem cell cycling in vivo requires thyroid hormone and its alpha receptor', *FASEB J*, 19(7), pp. 863-5.
- Leonard, J. L. and Farwell, A. P. (1997) 'Thyroid hormone-regulated actin polymerization in brain', *Thyroid*, 7(1), pp. 147-51.
- Leonard, J. L., Kaplan, M. M., Visser, T. J., Silva, J. E. and Larsen, P. R. (1981) 'Cerebral cortex responds rapidly to thyroid hormones', *Science*, 214(4520), pp. 571-3.
- Leone, T. C., Lehman, J. J., Finck, B. N., Schaeffer, P. J., Wende, A. R., Boudina, S., Courtois, M., Wozniak, D. F., Sambandam, N., Bernal-Mizrachi, C., Chen, Z., Holloszy, J. O., Medeiros, D. M., Schmidt, R. E., Saffitz, J. E., Abel, E. D., Semenkovich, C. F. and Kelly, D. P. (2005) 'PGC-1alpha deficiency causes multi-system energy metabolic derangements: muscle dysfunction, abnormal weight control and hepatic steatosis', *PLoS Biol*, 3(4), pp. e101.

- Leonetti, C., Butt, C. M., Hoffman, K., Hammel, S. C., Miranda, M. L. and Stapleton, H. M. (2016) 'Brominated flame retardants in placental tissues: associations with infant sex and thyroid hormone endpoints', *Environ Health*, 15(1), pp. 113.
- Lezoualc'h, F., Hassan, A. H., Giraud, P., Loeffler, J. P., Lee, S. L. and Demeneix, B. A. (1992) 'Assignment of the beta-thyroid hormone receptor to 3,5,3'-triiodothyronine-dependent inhibition of transcription from the thyrotropin-releasing hormone promoter in chick hypothalamic neurons', *Mol Endocrinol*, 6(11), pp. 1797-804.
- Li, D., Li, T., Wang, F., Tian, H. and Samuels, H. H. (2002) 'Functional evidence for retinoid X receptor (RXR) as a nonsilent partner in the thyroid hormone receptor/RXR heterodimer', *Mol Cell Biol*, 22(16), pp. 5782-92.
- Lie, D. C., Colamarino, S. A., Song, H. J., Déiré L., Mira, H., Consiglio, A., Lein, E. S., Jessberger, S., Lansford, H., Dearie, A. R. and Gage, F. H. (2005) 'Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis', *Nature*, 437(7063), pp. 1370-5.
- Ligon, L. A. and Steward, O. (2000) 'Movement of mitochondria in the axons and dendrites of cultured hippocampal neurons', *J Comp Neurol*, 427(3), pp. 340-50.
- Li, J., Tang, Y. and Cai, D. (2012) 'IKK β NF- κ disrupts adult hypothalamic neural stem cells to mediate a neurodegenerative mechanism of dietary obesity and pre-diabetes', *Nat Cell Biol*, 14(10), pp. 999-1012.
- Li, L. and Clevers, H. (2010) 'Coexistence of quiescent and active adult stem cells in mammals', *Science*, 327(5965), pp. 542-5.
- Lin, H. Y., Cody, V., Davis, F. B., Hercbergs, A. A., Luidens, M. K., Mousa, S. A. and Davis, P. J. (2011) 'Identification and functions of the plasma membrane receptor for thyroid hormone analogues', *Discov Med*, 11(59), pp. 337-47.
- Lin, H. Y., Davis, F. B., Gordinier, J. K., Martino, L. J. and Davis, P. J. (1999a) 'Thyroid hormone induces activation of mitogen-activated protein kinase in cultured cells', *Am J Physiol*, 276(5 Pt 1), pp. C1014-24.
- Lin, H. Y., Shih, A., Davis, F. B. and Davis, P. J. (1999b) 'Thyroid hormone promotes the phosphorylation of STAT3 and potentiates the action of epidermal growth factor in cultured cells', *Biochem J*, 338 (Pt 2), pp. 427-32.
- Lin, H. Y., Sun, M., Tang, H. Y., Lin, C., Luidens, M. K., Mousa, S. A., Incerpi, S., Drusano, G. L., Davis, F. B. and Davis, P. J. (2009) 'L-Thyroxine vs. 3,5,3'-triiodo-L-thyronine and cell proliferation: activation of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase', *Am J Physiol Cell Physiol*, 296(5), pp. C980-91.
- Lin, H. Y., Su, Y. F., Hsieh, M. T., Lin, S., Meng, R., London, D., Lin, C., Tang, H. Y., Hwang, J., Davis, F. B., Mousa, S. A. and Davis, P. J. (2013) 'Nuclear monomeric integrin α in cancer cells is a coactivator regulated by thyroid hormone', *FASEB J*, 27(8), pp. 3209-16.

- Lin, H. Y., Tang, H. Y., Shih, A., Keating, T., Cao, G., Davis, P. J. and Davis, F. B. (2007) 'Thyroid hormone is a MAPK-dependent growth factor for thyroid cancer cells and is anti-apoptotic', *Steroids*, 72(2), pp. 180-7.
- Lin, J., Puigserver, P., Donovan, J., Tarr, P. and Spiegelman, B. M. (2002) 'Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1beta (PGC-1beta), a novel PGC-1-related transcription coactivator associated with host cell factor', *J Biol Chem*, 277(3), pp. 1645-8.
- Lin, K. H., Lee, H. Y., Shih, C. H., Yen, C. C., Chen, S. L., Yang, R. C. and Wang, C. S. (2003) 'Plasma protein regulation by thyroid hormone', *J Endocrinol*, 179(3), pp. 367-77.
- Lin, P. T., Gleeson, J. G., Corbo, J. C., Flanagan, L. and Walsh, C. A. (2000) 'DCAMKL1 encodes a protein kinase with homology to doublecortin that regulates microtubule polymerization', *J Neurosci*, 20(24), pp. 9152-61.
- Lin, S. J., Ford, E., Haigis, M., Liszt, G. and Guarente, L. (2004) 'Calorie restriction extends yeast life span by lowering the level of NADH', *Genes Dev*, 18(1), pp. 12-6.
- Lister, I., Roberts, R., Schmitz, S., Walker, M., Trinick, J., Veigel, C., Buss, F. and Kendrick-Jones, J. (2004) 'Myosin VI: a multifunctional motor', *Biochem Soc Trans*, 32(Pt 5), pp. 685-8.
- Liu, J., Head, E., Gharib, A. M., Yuan, W., Ingersoll, R. T., Hagen, T. M., Cotman, C. W. and Ames, B. N. (2002) 'Memory loss in old rats is associated with brain mitochondrial decay and RNA/DNA oxidation: partial reversal by feeding acetyl-L-carnitine and/or R-alpha -lipoic acid', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(4), pp. 2356-61.
- Liu, X. and Hajnóczy, G. (2009) 'Ca²⁺-dependent regulation of mitochondrial dynamics by the Miro-Milton complex', *Int J Biochem Cell Biol*, 41(10), pp. 1972-6.
- Li, W. L., Yu, S. P., Ogle, M. E., Ding, X. S. and Wei, L. (2008) 'Enhanced neurogenesis and cell migration following focal ischemia and peripheral stimulation in mice', *Dev Neurobiol*, 68(13), pp. 1474-86.
- Li, X., Fang, P., Mai, J., Choi, E. T., Wang, H. and Yang, X. F. (2013) 'Targeting mitochondrial reactive oxygen species as novel therapy for inflammatory diseases and cancers', *J Hematol Oncol*, 6, pp. 19.
- Li, X., Masliah, E., Reixach, N. and Buxbaum, J. N. (2011) 'Neuronal production of transthyretin in human and murine Alzheimer's disease: is it protective?' *J Neurosci*, 31(35), pp. 12483-90.
- Li, Z., Okamoto, K., Hayashi, Y. and Sheng, M. (2004) 'The importance of dendritic mitochondria in the morphogenesis and plasticity of spines and synapses', *Cell*, 119(6), pp. 873-87.
- Lledo, P. M., Saghatelian, A. and Lemasson, M. (2004) 'Inhibitory interneurons in the olfactory bulb: from development to function', *Neuroscientist*, 10(4), pp. 292-303.
- Llorens-Bobadilla, E., Zhao, S., Baser, A., Saiz-Castro, G., Zwadlo, K. and Martin-Villalba, A. (2015) 'Single-Cell Transcriptomics Reveals a Population of Dormant Neural Stem Cells that Become Activated upon Brain Injury', *Cell Stem Cell*, 17(3), pp. 329-40.

- Logan, D. C. (2010) 'Mitochondrial fusion, division and positioning in plants', *Biochem Soc Trans*, 38(3), pp. 789-95.
- Lois, C. and Alvarez-Buylla, A. (1993) 'Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90(5), pp. 2074-7.
- Lombardi, A., Lanni, A., Moreno, M., Brand, M. D. and Goglia, F. (1998) 'Effect of 3,5-di-iodo-L-thyronine on the mitochondrial energy-transduction apparatus', *Biochem J*, 330 (Pt 1), pp. 521-6.
- Lombardi, A., Senese, R., De Matteis, R., Busiello, R. A., Cioffi, F., Goglia, F. and Lanni, A. (2015) '3,5-Diiodo-L-thyronine activates brown adipose tissue thermogenesis in hypothyroid rats', *PLoS One*, 10(2), pp. e0116498.
- López-Juárez, A., Remaud, S., Hassani, Z., Jolivet, P., Pierre Simons, J., Sontag, T., Yoshikawa, K., Price, J., Morvan-Dubois, G. and Demeneix, B. A. (2012) 'Thyroid hormone signaling acts as a neurogenic switch by repressing Sox2 in the adult neural stem cell niche', *Cell Stem Cell*, 10(5), pp. 531-43.
- Lowell, S., Bouchoua, A., Heavey, B. and Smith, A. G. (2006) 'Notch promotes neural lineage entry by pluripotent embryonic stem cells', *PLoS Biol*, 4(5), pp. e121.
- Lugert, S., Basak, O., Knuckles, P., Haussler, U., Fabel, K., Göz, M., Haas, C. A., Kempermann, G., Taylor, V. and Giachino, C. (2010) 'Quiescent and active hippocampal neural stem cells with distinct morphologies respond selectively to physiological and pathological stimuli and aging', *Cell Stem Cell*, 6(5), pp. 445-56.
- Lunt, S. Y. and Vander Heiden, M. G. (2011) 'Aerobic glycolysis: meeting the metabolic requirements of cell proliferation', *Annu Rev Cell Dev Biol*, 27, pp. 441-64.
- Luongo, C., Ambrosio, R., Salzano, S., Dlugosz, A. A., Missero, C. and Dentice, M. (2014) 'The sonic hedgehog-induced type 3 deiodinase facilitates tumorigenesis of basal cell carcinoma by reducing Gli2 inactivation', *Endocrinology*, 155(6), pp. 2077-88.
- Lu, Q. R., Yuk, D., Alberta, J. A., Zhu, Z., Pawlitzky, I., Chan, J., McMahon, A. P., Stiles, C. D. and Rowitch, D. H. (2000) 'Sonic hedgehog--regulated oligodendrocyte lineage genes encoding bHLH proteins in the mammalian central nervous system', *Neuron*, 25(2), pp. 317-29.
- MacAskill, A. F. and Kittler, J. T. (2010) 'Control of mitochondrial transport and localization in neurons', *Trends Cell Biol*, 20(2), pp. 102-12.
- Macaskill, A. F., Rinholm, J. E., Twelvetrees, A. E., Arancibia-Carcamo, I. L., Muir, J., Fransson, A., Aspenstrom, P., Attwell, D. and Kittler, J. T. (2009) 'Miro1 is a calcium sensor for glutamate receptor-dependent localization of mitochondria at synapses', *Neuron*, 61(4), pp. 541-55.
- MacDonald, M. J. and Brown, L. J. (1996) 'Calcium activation of mitochondrial glycerol phosphate dehydrogenase restudied', *Arch Biochem Biophys*, 326(1), pp. 79-84.

- Machold, R., Hayashi, S., Rutlin, M., Muzumdar, M. D., Nery, S., Corbin, J. G., Gritli-Linde, A., Dellovade, T., Porter, J. A., Rubin, L. L., Dudek, H., McMahon, A. P. and Fishell, G. (2003) 'Sonic hedgehog is required for progenitor cell maintenance in telencephalic stem cell niches', *Neuron*, 39(6), pp. 937-50.
- Madhavan, L., Ourednik, V. and Ourednik, J. (2006) 'Increased "vigilance" of antioxidant mechanisms in neural stem cells potentiates their capability to resist oxidative stress', *Stem Cells*, 24(9), pp. 2110-9.
- Madhavan, L., Ourednik, V. and Ourednik, J. (2008) 'Neural stem/progenitor cells initiate the formation of cellular networks that provide neuroprotection by growth factor-modulated antioxidant expression', *Stem Cells*, 26(1), pp. 254-65.
- Magnus-Levy, A. 1895. *Über den respiratorischen Gaswechsel unter dem Einfluss der Thyroidea sowie unter verschiedenen pathologischen Zuständen.*: Berl. Klin. Wochenschr .
- Mahad, D. J., Ziabreva, I., Campbell, G., Lax, N., White, K., Hanson, P. S., Lassmann, H. and Turnbull, D. M. (2009) 'Mitochondrial changes within axons in multiple sclerosis', *Brain*, 132(Pt 5), pp. 1161-74.
- Malberg, J. E. and Duman, R. S. (2003) 'Cell proliferation in adult hippocampus is decreased by inescapable stress: reversal by fluoxetine treatment', *Neuropsychopharmacology*, 28(9), pp. 1562-71.
- Malecki, E. A., Devenyi, A. G., Beard, J. L. and Connor, J. R. (1999) 'Existing and emerging mechanisms for transport of iron and manganese to the brain', *J Neurosci Res*, 56(2), pp. 113-22.
- Ma, M. S., Brouwer, N., Wesseling, E., Raj, D., van der Want, J., Boddeke, E., Balasubramanian, V. and Copray, S. (2015) 'Multipotent stem cell factor UGS148 is a marker for tanycytes in the adult hypothalamus', *Mol Cell Neurosci*, 65, pp. 21-30.
- Manczak, M., Calkins, M. J. and Reddy, P. H. (2011) 'Impaired mitochondrial dynamics and abnormal interaction of amyloid beta with mitochondrial protein Drp1 in neurons from patients with Alzheimer's disease: implications for neuronal damage', *Hum Mol Genet*, 20(13), pp. 2495-509.
- Markakis, E. A., Palmer, T. D., Randolph-Moore, L., Rakic, P. and Gage, F. H. (2004) 'Novel neuronal phenotypes from neural progenitor cells', *J Neurosci*, 24(12), pp. 2886-97.
- Marshall, C. A. and Goldman, J. E. (2002) 'Subpallial dlx2-expressing cells give rise to astrocytes and oligodendrocytes in the cerebral cortex and white matter', *J Neurosci*, 22(22), pp. 9821-30.
- Marshall, C. A., Novitsch, B. G. and Goldman, J. E. (2005) 'Olig2 directs astrocyte and oligodendrocyte formation in postnatal subventricular zone cells', *J Neurosci*, 25(32), pp. 7289-98.
- Martinez, R., Eller, C., Viana, N. B. and Gomes, F. C. (2011) 'Thyroid hormone induces cerebellar neuronal migration and Bergmann glia differentiation through epidermal growth factor/mitogen-activated protein kinase pathway', *Eur J Neurosci*, 33(1), pp. 26-35.

- Martin, N. P., Marron Fernandez de Velasco, E., Mizuno, F., Scappini, E. L., Gloss, B., Erxleben, C., Williams, J. G., Stapleton, H. M., Gentile, S. and Armstrong, D. L. (2014a) 'A rapid cytoplasmic mechanism for PI3 kinase regulation by the nuclear thyroid hormone receptor, TR β and genetic evidence for its role in the maturation of mouse hippocampal synapses in vivo', *Endocrinology*, 155(9), pp. 3713-24.
- Martin, O. J., Lai, L., Soundarapandian, M. M., Leone, T. C., Zorzano, A., Keller, M. P., Attie, A. D., Muoio, D. M. and Kelly, D. P. (2014b) 'A role for peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 in the control of mitochondrial dynamics during postnatal cardiac growth', *Circ Res*, 114(4), pp. 626-36.
- Marziali, L. N., Garcia, C. I. and Pasquini, J. M. (2015) 'Transferrin and thyroid hormone converge in the control of myelinogenesis', *Exp Neurol*, 265, pp. 129-41.
- Mastrorilli, V., Scopa, C., Sarauli, D., Costanzi, M., Scardigli, R., Rouault, J. P., Farioli-Vecchioli, S. and Tirone, F. (2017) 'Physical exercise rescues defective neural stem cells and neurogenesis in the adult subventricular zone of Btg1 knockout mice', *Brain Struct Funct*, 222(6), pp. 2855-2876.
- Matsuzaki, K., Katakura, M., Hara, T., Li, G., Hashimoto, M. and Shido, O. (2009) 'Proliferation of neuronal progenitor cells and neuronal differentiation in the hypothalamus are enhanced in heat-acclimated rats', *Pflugers Arch*, 458(4), pp. 661-73.
- Mavinakere, M. S., Powers, J. M., Subramanian, K. S., Roggero, V. R. and Allison, L. A. (2012) 'Multiple novel signals mediate thyroid hormone receptor nuclear import and export', *J Biol Chem*, 287(37), pp. 31280-97.
- Mayerl, S., Müller, J., Bauer, R., Richert, S., Kassmann, C. M., Darras, V. M., Buder, K., Boelen, A., Visser, T. J. and Heuer, H. (2014) 'Transporters MCT8 and OATP1C1 maintain murine brain thyroid hormone homeostasis', *J Clin Invest*, 124(5), pp. 1987-99.
- McCarthy, R. A., Barth, J. L., Chintalapudi, M. R., Knaak, C. and Argraves, W. S. (2002) 'Megalin functions as an endocytic sonic hedgehog receptor', *J Biol Chem*, 277(28), pp. 25660-7.
- McCormack, J. G. and Denton, R. M. (1993) 'The role of intramitochondrial Ca²⁺ in the regulation of oxidative phosphorylation in mammalian tissues', *Biochem Soc Trans*, 21 (Pt 3)(3), pp. 793-9.
- McGann, J. P. (2017) 'Poor human olfaction is a 19th-century myth', *Science*, 356(6338).
- McGill, J. K. and Beal, M. F. (2006) 'PGC-1 α , a new therapeutic target in Huntington's disease?' *Cell*, 127(3), pp. 465-8.
- McGill, M. A. and McGlade, C. J. (2003) 'Mammalian numb proteins promote Notch1 receptor ubiquitination and degradation of the Notch1 intracellular domain', *J Biol Chem*, 278(25), pp. 23196-203.
- McMahon, A. P. and Bradley, A. (1990) 'The Wnt-1 (int-1) proto-oncogene is required for development of a large region of the mouse brain', *Cell*, 62(6), pp. 1073-85.

- Meldrum, B. S. (2000) 'Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology', *J Nutr*, 130(4S Suppl), pp. 1007S-15S.
- Méndez-Pertuz, M., Sánchez-Pacheco, A. and Aranda, A. (2003) 'The thyroid hormone receptor antagonizes CREB-mediated transcription', *EMBO J*, 22(12), pp. 3102-12.
- Mendoza, A., Navarrete-Ramírez, P., Hernández-Puga, G., Villalobos, P., Holzer, G., Renaud, J. P., Laudet, V. and Orozco, A. (2013) '3,5-T2 is an alternative ligand for the thyroid hormone receptor ①', *Endocrinology*, 154(8), pp. 2948-58.
- Mengeling, B. J. and Furlow, J. D. (2015) 'Pituitary specific retinoid-X receptor ligand interactions with thyroid hormone receptor signaling revealed by high throughput reporter and endogenous gene responses', *Toxicol In Vitro*, 29(7), pp. 1609-18.
- Menn, B., Garcia-Verdugo, J. M., Yaschine, C., Gonzalez-Perez, O., Rowitch, D. and Alvarez-Buylla, A. (2006) 'Origin of oligodendrocytes in the subventricular zone of the adult brain', *J Neurosci*, 26(30), pp. 7907-18.
- Menzies, R. A. and Gold, P. H. (1971) 'The turnover of mitochondria in a variety of tissues of young adult and aged rats', *J Biol Chem*, 246(8), pp. 2425-9.
- Merkle, F. T., Mirzadeh, Z. and Alvarez-Buylla, A. (2007) 'Mosaic organization of neural stem cells in the adult brain', *Science*, 317(5836), pp. 381-4.
- Merkle, F. T., Tramontin, A. D., Garcí-Verdugo, J. M. and Alvarez-Buylla, A. (2004) 'Radial glia give rise to adult neural stem cells in the subventricular zone', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(50), pp. 17528-32.
- MESSIER, B., LEBLOND, C. P. and SMART, I. (1958) 'Presence of DNA synthesis and mitosis in the brain of young adult mice', *Exp Cell Res*, 14(1), pp. 224-6.
- Metallo, C. M., Gameiro, P. A., Bell, E. L., Mattaini, K. R., Yang, J., Hiller, K., Jewell, C. M., Johnson, Z. R., Irvine, D. J., Guarente, L., Kelleher, J. K., Vander Heiden, M. G., Iliopoulos, O. and Stephanopoulos, G. (2011) 'Reductive glutamine metabolism by IDH1 mediates lipogenesis under hypoxia', *Nature*, 481(7381), pp. 380-4.
- Meyer, T., Gustafsson, J. A. and Carlstedt-Duke, J. (1997) 'Glucocorticoid-dependent transcriptional repression of the osteocalcin gene by competitive binding at the TATA box', *DNA Cell Biol*, 16(8), pp. 919-27.
- Migaud, M., Batailler, M., Segura, S., Duittoz, A., Franceschini, I. and Pillon, D. (2010) 'Emerging new sites for adult neurogenesis in the mammalian brain: a comparative study between the hypothalamus and the classical neurogenic zones', *Eur J Neurosci*, 32(12), pp. 2042-52.
- Mildaziene, V., Baniene, R., Nauciene, Z., Bakker, B. M., Brown, G. C., Westerhoff, H. V. and Kholodenko, B. N. (1995) 'Calcium indirectly increases the control exerted by the adenine nucleotide translocator over 2-oxoglutarate oxidation in rat heart mitochondria', *Arch Biochem Biophys*, 324(1), pp. 130-4.

- Mirzadeh, Z., Merkle, F. T., Soriano-Navarro, M., Garcia-Verdugo, J. M. and Alvarez-Buylla, A. (2008) 'Neural stem cells confer unique pinwheel architecture to the ventricular surface in neurogenic regions of the adult brain', *Cell Stem Cell*, 3(3), pp. 265-78.
- Mitsushashi, T., Tennyson, G. E. and Nikodem, V. M. (1988) 'Alternative splicing generates messages encoding rat c-erbA proteins that do not bind thyroid hormone', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85(16), pp. 5804-8.
- Miyata, S. and Hatton, G. I. (2002) 'Activity-related, dynamic neuron-glia interactions in the hypothalamo-neurohypophysial system', *Microsc Res Tech*, 56(2), pp. 143-57.
- Miyata, T., Ono, Y., Okamoto, M., Masaoka, M., Sakakibara, A., Kawaguchi, A., Hashimoto, M. and Ogawa, M. (2010) 'Migration, early axonogenesis, and Reelin-dependent layer-forming behavior of early/posterior-born Purkinje cells in the developing mouse lateral cerebellum', *Neural Dev*, 5, pp. 23.
- Moeller, L. C., Cao, X., Dumitrescu, A. M., Seo, H. and Refetoff, S. (2006) 'Thyroid hormone mediated changes in gene expression can be initiated by cytosolic action of the thyroid hormone receptor beta through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway', *Nucl Recept Signal*, 4, pp. e020.
- Moeller, L. C., Dumitrescu, A. M. and Refetoff, S. (2005) 'Cytosolic action of thyroid hormone leads to induction of hypoxia-inducible factor-1alpha and glycolytic genes', *Mol Endocrinol*, 19(12), pp. 2955-63.
- Mohásik, P., Zeöd, A., Bianco, A. C. and Gereben, B. (2011) 'Thyroid hormone and the neuroglia: both source and target', *J Thyroid Res*, 2011, pp. 215718.
- Mohyeldin, A., Garzó-Muvdi, T. and Quiñones-Hinojosa, A. (2010) 'Oxygen in stem cell biology: a critical component of the stem cell niche', *Cell Stem Cell*, 7(2), pp. 150-61.
- Møllgård, K., Dziegielewska, K. M., Saunders, N. R., Zakut, H. and Soreq, H. (1988) 'Synthesis and localization of plasma proteins in the developing human brain. Integrity of the fetal blood-brain barrier to endogenous proteins of hepatic origin', *Dev Biol*, 128(1), pp. 207-21.
- Montero-Pedrazuela, A., Venero, C., Lavado-Autric, R., Fernández-Lamo, I., Garcí-Verdugo, J. M., Bernal, J. and Guadañ-Ferraz, A. (2006) 'Modulation of adult hippocampal neurogenesis by thyroid hormones: implications in depressive-like behavior', *Mol Psychiatry*, 11(4), pp. 361-71.
- Moon, J. H., Kim, H. J., Kim, H. M., Choi, S. H., Lim, S., Park, Y. J., Jang, H. C. and Cha, B. S. (2013) 'Decreased expression of hepatic low-density lipoprotein receptor-related protein 1 in hypothyroidism: a novel mechanism of atherogenic dyslipidemia in hypothyroidism', *Thyroid*, 23(9), pp. 1057-65.
- Moos, T. (1996) 'Immunohistochemical localization of intraneuronal transferrin receptor immunoreactivity in the adult mouse central nervous system', *J Comp Neurol*, 375(4), pp. 675-92.

- Moos, T., Rosengren Nielsen, T., Skjørninge, T. and Morgan, E. H. (2007) 'Iron trafficking inside the brain', *J Neurochem*, 103(5), pp. 1730-40.
- Morales, C. R., Zeng, J., El Alfy, M., Barth, J. L., Chintalapudi, M. R., McCarthy, R. A., Incardona, J. P. and Argraves, W. S. (2006) 'Epithelial trafficking of Sonic hedgehog by megalin', *J Histochem Cytochem*, 54(10), pp. 1115-27.
- Moriya, T., Horie, N., Mitome, M. and Shinohara, K. (2007) 'Melatonin influences the proliferative and differentiative activity of neural stem cells', *J Pineal Res*, 42(4), pp. 411-8.
- Morreale de Escobar, G., Obregon, M. J. and Escobar del Rey, F. (2004) 'Role of thyroid hormone during early brain development', *Eur J Endocrinol*, 151 Suppl 3, pp. U25-37.
- Morshead, C. M., Reynolds, B. A., Craig, C. G., McBurney, M. W., Staines, W. A., Morassutti, D., Weiss, S. and van der Kooy, D. (1994) 'Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells', *Neuron*, 13(5), pp. 1071-82.
- Morshead, C. M. and van der Kooy, D. (1992) 'Postmitotic death is the fate of constitutively proliferating cells in the subependymal layer of the adult mouse brain', *J Neurosci*, 12(1), pp. 249-56.
- Morte, B. and Bernal, J. (2014) 'Thyroid hormone action: astrocyte-neuron communication', *Front Endocrinol (Lausanne)*, 5, pp. 82.
- Mráčková, T., Drahotová, Z. and Houšková, J. (2013) 'The function and the role of the mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase in mammalian tissues', *Biochim Biophys Acta*, 1827(3), pp. 401-10.
- Mullen, R. J., Buck, C. R. and Smith, A. M. (1992) 'NeuN, a neuronal specific nuclear protein in vertebrates', *Development*, 116(1), pp. 201-11.
- Müller, J. and Heuer, H. (2014) 'Expression pattern of thyroid hormone transporters in the postnatal mouse brain', *Front Endocrinol (Lausanne)*, 5, pp. 92.
- Müller, J., Mayerl, S., Visser, T. J., Darras, V. M., Boelen, A., Frappart, L., Mariotta, L., Verrey, F. and Heuer, H. (2014) 'Tissue-specific alterations in thyroid hormone homeostasis in combined Mct10 and Mct8 deficiency', *Endocrinology*, 155(1), pp. 315-25.
- Müller, M. J., Acheson, K. J., Jequier, E. and Burger, A. G. (1990) 'Thyroid hormone action on lipid metabolism in humans: a role for endogenous insulin', *Metabolism*, 39(5), pp. 480-5.
- Mullur, R., Liu, Y. Y. and Brent, G. A. (2014) 'Thyroid hormone regulation of metabolism', *Physiol Rev*, 94(2), pp. 355-82.
- Mylotte, K. M., Cody, V., Davis, P. J., Davis, F. B., Blas, S. D. and Schoenl, M. (1985) 'Milrinone and thyroid hormone stimulate myocardial membrane Ca²⁺-ATPase activity and share structural homologies', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 82(23), pp. 7974-8.
- Nait-Oumesmar, B., Decker, L., Lachapelle, F., Avellana-Adalid, V., Bachelin, C. and Baron-Van Evercooren, A. (1999) 'Progenitor cells of the adult mouse subventricular zone proliferate,

- migrate and differentiate into oligodendrocytes after demyelination', *Eur J Neurosci*, 11(12), pp. 4357-66.
- Nait-Oumesmar, B., Picard-Riera, N., Kerninon, C., Decker, L., Seilhean, D., Hölinger, G. U., Hirsch, E. C., Reynolds, R. and Baron-Van Evercooren, A. (2007) 'Activation of the subventricular zone in multiple sclerosis: evidence for early glial progenitors', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(11), pp. 4694-9.
- Nakagawa, T., Lomb, D. J., Haigis, M. C. and Guarente, L. (2009) 'SIRT5 Deacetylates carbamoyl phosphate synthetase 1 and regulates the urea cycle', *Cell*, 137(3), pp. 560-70.
- Nasca, A., Legati, A., Baruffini, E., Nolli, C., Moroni, I., Ardisson, A., Goffrini, P. and Ghezzi, D. (2016) 'Biallelic Mutations in DNMT1L are Associated with a Slowly Progressive Infantile Encephalopathy', *Hum Mutat*, 37(9), pp. 898-903.
- Nascimento, L. F., Souza, G. F., Morari, J., Barbosa, G. O., Solon, C., Moura, R. F., Victório, S. C., Ignácio-Souza, L. M., Razolli, D. S., Carvalho, H. F. and Velloso, L. A. (2016) 'n-3 Fatty Acids Induce Neurogenesis of Predominantly POMC-Expressing Cells in the Hypothalamus', *Diabetes*, 65(3), pp. 673-86.
- Nemoto, S., Fergusson, M. M. and Finkel, T. (2005) 'SIRT1 functionally interacts with the metabolic regulator and transcriptional coactivator PGC-1{alpha}', *J Biol Chem*, 280(16), pp. 16456-60.
- Newsholme, E. A., Crabtree, B. and Ardawi, M. S. (1985) 'The role of high rates of glycolysis and glutamine utilization in rapidly dividing cells', *Biosci Rep*, 5(5), pp. 393-400.
- Ng, F. and Tang, B. L. (2013) 'Sirtuins' modulation of autophagy', *J Cell Physiol*, 228(12), pp. 2262-70.
- Nieoullon, V., Belvindrah, R., Rougon, G. and Chazal, G. (2005) 'mCD24 regulates proliferation of neuronal committed precursors in the subventricular zone', *Mol Cell Neurosci*, 28(3), pp. 462-74.
- Niwa, A., Nishibori, M., Hamasaki, S., Kobori, T., Liu, K., Wake, H., Mori, S., Yoshino, T. and Takahashi, H. (2016) 'Voluntary exercise induces neurogenesis in the hypothalamus and ependymal lining of the third ventricle', *Brain Struct Funct*, 221(3), pp. 1653-66.
- Noctor, S. C., Martínez-Cerdeñ, V., Ivic, L. and Kriegstein, A. R. (2004) 'Cortical neurons arise in symmetric and asymmetric division zones and migrate through specific phases', *Nat Neurosci*, 7(2), pp. 136-44.
- Noctor, S. C., Martínez-Cerdeñ, V. and Kriegstein, A. R. (2008) 'Distinct behaviors of neural stem and progenitor cells underlie cortical neurogenesis', *J Comp Neurol*, 508(1), pp. 28-44.
- NORDLIE, R. C. and ARION, W. J. (1965) 'LIVER MICROSOMAL GLUCOSE 6-PHOSPHATASE, INORGANIC PYROPHOSPHATASE, AND PYROPHOSPHATE-GLUCOSE PHOSPHOTRANSFERASE. 3. ASSOCIATED NUCLEOSIDE TRIPHOSPHATE- AND NUCLEOSIDE DIPHOSPHATE-GLUCOSE PHOSPHOTRANSFERASE ACTIVITIES', *J Biol Chem*, 240, pp. 2155-64.

- Norenberg, M. D. and Martinez-Hernandez, A. (1979) 'Fine structural localization of glutamine synthetase in astrocytes of rat brain', *Brain Res*, 161(2), pp. 303-10.
- Nottebohm, F. (1985) 'Neuronal replacement in adulthood', *Ann N Y Acad Sci*, 457, pp. 143-61.
- Núñez, B., Martínez de Mena, R., Obregon, M. J., Font-Llitjó, M., Nunes, V., Palací, M., Dumitrescu, A. M., Morte, B. and Bernal, J. (2014) 'Cerebral cortex hyperthyroidism of newborn mct8-deficient mice transiently suppressed by lat2 inactivation', *PLoS One*, 9(5), pp. e96915.
- Ohtsuka, T., Ishibashi, M., Gradwohl, G., Nakanishi, S., Guillemot, F. and Kageyama, R. (1999) 'Hes1 and Hes5 as notch effectors in mammalian neuronal differentiation', *EMBO J*, 18(8), pp. 2196-207.
- Okada, A., Charron, F., Morin, S., Shin, D. S., Wong, K., Fabre, P. J., Tessier-Lavigne, M. and McConnell, S. K. (2006) 'Boc is a receptor for sonic hedgehog in the guidance of commissural axons', *Nature*, 444(7117), pp. 369-73.
- Oppenheimer, J. H. (1985) 'Thyroid hormone action at the nuclear level', *Ann Intern Med*, 102(3), pp. 374-84.
- O'Reilly, C. M., Fogarty, K. E., Drummond, R. M., Tuft, R. A. and Walsh, J. V. (2003) 'Quantitative analysis of spontaneous mitochondrial depolarizations', *Biophys J*, 85(5), pp. 3350-7.
- O'Reilly, I. and Murphy, M. P. (1992) 'Studies on the rapid stimulation of mitochondrial respiration by thyroid hormones', *Acta Endocrinol (Copenh)*, 127(6), pp. 542-6.
- Orrenius, S., Zhivotovsky, B. and Nicotera, P. (2003) 'Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link', *Nat Rev Mol Cell Biol*, 4(7), pp. 552-65.
- Ortega, F., Gascó, S., Masserdotti, G., Deshpande, A., Simon, C., Fischer, J., Dimou, L., Chichung Lie, D., Schroeder, T. and Berninger, B. (2013) 'Oligodendroglial and neurogenic adult subependymal zone neural stem cells constitute distinct lineages and exhibit differential responsiveness to Wnt signalling', *Nat Cell Biol*, 15(6), pp. 602-13.
- O'Toole, M., Latham, R., Baqri, R. M. and Miller, K. E. (2008) 'Modeling mitochondrial dynamics during in vivo axonal elongation', *J Theor Biol*, 255(4), pp. 369-77.
- Paisán-Ruiz, C., Jain, S., Evans, E. W., Gilks, W. P., Simó, J., van der Brug, M., Lóez de Munain, A., Aparicio, S., Gil, A. M., Khan, N., Johnson, J., Martinez, J. R., Nicholl, D., Carrera, I. M., Pena, A. S., de Silva, R., Lees, A., MartíMassó J. F., Pérez-Tur, J., Wood, N. W. and Singleton, A. B. (2004) 'Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson's disease', *Neuron*, 44(4), pp. 595-600.
- Palacios-Romero, R. and Mowbray, J. (1979) 'Evidence for the rapid direct control both in vivo and in vitro of the efficiency of oxidative phosphorylation by 3,5,3'-tri-iodo-L-thyronine in rats', *Biochem J*, 184(3), pp. 527-38.

- Palha, J. A., Fernandes, R., de Escobar, G. M., Episkopou, V., Gottesman, M. and Saraiva, M. J. (2000) 'Transthyretin regulates thyroid hormone levels in the choroid plexus, but not in the brain parenchyma: study in a transthyretin-null mouse model', *Endocrinology*, 141(9), pp. 3267-72.
- Palmer, C. S., Elgass, K. D., Parton, R. G., Osellame, L. D., Stojanovski, D. and Ryan, M. T. (2013) 'Adaptor proteins MiD49 and MiD51 can act independently of Mff and Fis1 in Drp1 recruitment and are specific for mitochondrial fission', *J Biol Chem*, 288(38), pp. 27584-93.
- Palmer, T. D., Takahashi, J. and Gage, F. H. (1997) 'The adult rat hippocampus contains primordial neural stem cells', *Mol Cell Neurosci*, 8(6), pp. 389-404.
- Panchision, D. M., Chen, H. L., Pistollato, F., Papini, D., Ni, H. T. and Hawley, T. S. (2007) 'Optimized flow cytometric analysis of central nervous system tissue reveals novel functional relationships among cells expressing CD133, CD15, and CD24', *Stem Cells*, 25(6), pp. 1560-70.
- Pappa, T., Ferrara, A. M. and Refetoff, S. (2015) 'Inherited defects of thyroxine-binding proteins', *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 29(5), pp. 735-47.
- Paridaen, J. T. and Huttner, W. B. (2014) 'Neurogenesis during development of the vertebrate central nervous system', *EMBO Rep*, 15(4), pp. 351-64.
- Park, Y. Y., Lee, S., Karbowski, M., Neutzner, A., Youle, R. J. and Cho, H. (2010) 'Loss of MARCH5 mitochondrial E3 ubiquitin ligase induces cellular senescence through dynamin-related protein 1 and mitofusin 1', *J Cell Sci*, 123(Pt 4), pp. 619-26.
- Pastrana, E., Cheng, L. C. and Doetsch, F. (2009) 'Simultaneous prospective purification of adult subventricular zone neural stem cells and their progeny', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(15), pp. 6387-92.
- Pate, K. T., Stringari, C., Sprowl-Tanio, S., Wang, K., TeSlaa, T., Hoverter, N. P., McQuade, M. M., Garner, C., Digman, M. A., Teitell, M. A., Edwards, R. A., Gratton, E. and Waterman, M. L. (2014) 'Wnt signaling directs a metabolic program of glycolysis and angiogenesis in colon cancer', *EMBO J*, 33(13), pp. 1454-73.
- Patel, J., Landers, K. A., Mortimer, R. H. and Richard, K. (2012) 'Expression and uptake of the thyroxine-binding protein transthyretin is regulated by oxygen in primary trophoblast placental cells', *J Endocrinol*, 212(2), pp. 159-67.
- Patel, J., Landers, K., Li, H., Mortimer, R. H. and Richard, K. (2011) 'Oxygen concentration regulates expression and uptake of transthyretin, a thyroxine binding protein, in JEG-3 choriocarcinoma cells', *Placenta*, 32(2), pp. 128-33.
- Patrick, L. (2009) 'Thyroid disruption: mechanism and clinical implications in human health', *Altern Med Rev*, 14(4), pp. 326-46.
- Patrikios, P., Stadelmann, C., Kutzelnigg, A., Rauschka, H., Schmidbauer, M., Laursen, H., Sorensen, P. S., Brük, W., Lucchinetti, C. and Lassmann, H. (2006) 'Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients', *Brain*, 129(Pt 12), pp. 3165-72.

- Paul, A., Chaker, Z. and Doetsch, F. (2017) 'Hypothalamic regulation of regionally distinct adult neural stem cells and neurogenesis', *Science*, 356(6345), pp. 1383-1386.
- Peeters, R. P. (2008) 'Thyroid hormones and aging', *Hormones (Athens)*, 7(1), pp. 28-35.
- Peeters, R. P., Hernandez, A., Ng, L., Ma, M., Sharlin, D. S., Pandey, M., Simonds, W. F., St Germain, D. L. and Forrest, D. (2013) 'Cerebellar abnormalities in mice lacking type 3 deiodinase and partial reversal of phenotype by deletion of thyroid hormone receptor $\alpha 1$ ', *Endocrinology*, 154(1), pp. 550-61.
- Perello, M., Friedman, T., Paez-Espinosa, V., Shen, X., Stuart, R. C. and Nillni, E. A. (2006) 'Thyroid hormones selectively regulate the posttranslational processing of prothyrotropin-releasing hormone in the paraventricular nucleus of the hypothalamus', *Endocrinology*, 147(6), pp. 2705-16.
- Pérez, M. J., Fernandez, N. and Pasquini, J. M. (2013) 'Oligodendrocyte differentiation and signaling after transferrin internalization: a mechanism of action', *Exp Neurol*, 248, pp. 262-74.
- Perumalsamy, L. R., Nagala, M. and Sarin, A. (2010) 'Notch-activated signaling cascade interacts with mitochondrial remodeling proteins to regulate cell survival', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(15), pp. 6882-7.
- Pessemesse, L., Lepourry, L., Bouton, K., Levin, J., Cabello, G., Wrutniak-Cabello, C. and Casas, F. (2014) 'p28, a truncated form of TR $\alpha 1$ regulates mitochondrial physiology', *FEBS Lett*, 588(21), pp. 4037-43.
- Pfeiffer, T., Schuster, S. and Bonhoeffer, S. (2001) 'Cooperation and competition in the evolution of ATP-producing pathways', *Science*, 292(5516), pp. 504-7.
- Picca, A. and Lezza, A. M. (2015) 'Regulation of mitochondrial biogenesis through TFAM-mitochondrial DNA interactions: Useful insights from aging and calorie restriction studies', *Mitochondrion*, 25, pp. 67-75.
- Pierce, A. A. and Xu, A. W. (2010) 'De novo neurogenesis in adult hypothalamus as a compensatory mechanism to regulate energy balance', *J Neurosci*, 30(2), pp. 723-30.
- Pistollato, F., Chen, H. L., Schwartz, P. H., Basso, G. and Panchision, D. M. (2007) 'Oxygen tension controls the expansion of human CNS precursors and the generation of astrocytes and oligodendrocytes', *Mol Cell Neurosci*, 35(3), pp. 424-35.
- Plateroti, M., Gauthier, K., Domon-Dell, C., Freund, J. N., Samarut, J. and Chassande, O. (2001) 'Functional interference between thyroid hormone receptor alpha (TR α) and natural truncated TR Δ alpha isoforms in the control of intestine development', *Mol Cell Biol*, 21(14), pp. 4761-72.
- Plow, E. F., Haas, T. A., Zhang, L., Loftus, J. and Smith, J. W. (2000) 'Ligand binding to integrins', *J Biol Chem*, 275(29), pp. 21785-8.

- Polito, A. and Reynolds, R. (2005) 'NG2-expressing cells as oligodendrocyte progenitors in the normal and demyelinated adult central nervous system', *J Anat*, 207(6), pp. 707-16.
- Popov, V., Medvedev, N. I., Davies, H. A. and Stewart, M. G. (2005) 'Mitochondria form a filamentous reticular network in hippocampal dendrites but are present as discrete bodies in axons: a three-dimensional ultrastructural study', *J Comp Neurol*, 492(1), pp. 50-65.
- Porterfield, S. P. (2000) 'Thyroidal dysfunction and environmental chemicals--potential impact on brain development', *Environ Health Perspect*, 108 Suppl 3, pp. 433-8.
- Porter, R. K., Hulbert, A. J. and Brand, M. D. (1996) 'Allometry of mitochondrial proton leak: influence of membrane surface area and fatty acid composition', *Am J Physiol*, 271(6 Pt 2), pp. R1550-60.
- Pozniak, C. D., Langseth, A. J., Dijkgraaf, G. J., Choe, Y., Werb, Z. and Pleasure, S. J. (2010) 'Sox10 directs neural stem cells toward the oligodendrocyte lineage by decreasing Suppressor of Fused expression', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(50), pp. 21795-800.
- Préau, L., Le Blay, K., Saint Paul, E., Morvan-Dubois, G. and Demeneix, B. A. (2016) 'Differential thyroid hormone sensitivity of fast cycling progenitors in the neurogenic niches of tadpoles and juvenile frogs', *Mol Cell Endocrinol*, 420, pp. 138-51.
- Prozorovski, T., Schneider, R., Berndt, C., Hartung, H. P. and Aktas, O. (2015) 'Redox-regulated fate of neural stem progenitor cells', *Biochim Biophys Acta*, 1850(8), pp. 1543-54.
- Prozorovski, T., Schulze-Topphoff, U., Glumm, R., Baumgart, J., Schröer, F., Ninnemann, O., Siegert, E., Bendix, I., Brüttele, O., Nitsch, R., Zipp, F. and Aktas, O. (2008) 'Sirt1 contributes critically to the redox-dependent fate of neural progenitors', *Nat Cell Biol*, 10(4), pp. 385-94.
- Pruszek, J., Ludwig, W., Blak, A., Alavian, K. and Isacson, O. (2009) 'CD15, CD24, and CD29 define a surface biomarker code for neural lineage differentiation of stem cells', *Stem Cells*, 27(12), pp. 2928-40.
- Qin, W., Haroutunian, V., Katsel, P., Cardozo, C. P., Ho, L., Buxbaum, J. D. and Pasinetti, G. M. (2009) 'PGC-1alpha expression decreases in the Alzheimer disease brain as a function of dementia', *Arch Neurol*, 66(3), pp. 352-61.
- Quiñones-Hinojosa, A. and Chaichana, K. (2007) 'The human subventricular zone: a source of new cells and a potential source of brain tumors', *Exp Neurol*, 205(2), pp. 313-24.
- Qu, Q., Sun, G., Li, W., Yang, S., Ye, P., Zhao, C., Yu, R. T., Gage, F. H., Evans, R. M. and Shi, Y. (2010) 'Orphan nuclear receptor TLX activates Wnt/beta-catenin signalling to stimulate neural stem cell proliferation and self-renewal', *Nat Cell Biol*, 12(1), pp. 31-40; sup pp 1-9.
- Rafalski, V. A. and Brunet, A. (2011) 'Energy metabolism in adult neural stem cell fate', *Prog Neurobiol*, 93(2), pp. 182-203.
- Rafalski, V. A., Ho, P. P., Brett, J. O., Ucar, D., Dugas, J. C., Pollina, E. A., Chow, L. M., Ibrahim, A., Baker, S. J., Barres, B. A., Steinman, L. and Brunet, A. (2013) 'Expansion of oligodendrocyte

- progenitor cells following SIRT1 inactivation in the adult brain', *Nat Cell Biol*, 15(6), pp. 614-24.
- Rajasekaran, A., Venkatasubramanian, G., Berk, M. and Debnath, M. (2015) 'Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: pathways, mechanisms and implications', *Neurosci Biobehav Rev*, 48, pp. 10-21.
- Ramadoss, P., Abraham, B. J., Tsai, L., Zhou, Y., Costa-e-Sousa, R. H., Ye, F., Bilban, M., Zhao, K. and Hollenberg, A. N. (2014) 'Novel mechanism of positive versus negative regulation by thyroid hormone receptor TR identified by genome-wide profiling of binding sites in mouse liver', *J Biol Chem*, 289(3), pp. 1313-28.
- Ramírez-Rodríguez, G., Klempin, F., Babu, H., Benítez-King, G. and Kempermann, G. (2009) 'Melatonin modulates cell survival of new neurons in the hippocampus of adult mice', *Neuropsychopharmacology*, 34(9), pp. 2180-91.
- Ramonet, D., Perier, C., Recasens, A., Dehay, B., Bové J., Costa, V., Scorrano, L. and Vila, M. (2013) 'Optic atrophy 1 mediates mitochondria remodeling and dopaminergic neurodegeneration linked to complex I deficiency', *Cell Death Differ*, 20(1), pp. 77-85.
- Rao, G. S., Eckel, J., Rao, M. L. and Breuer, H. (1976) 'Uptake of thyroid hormone by isolated rat liver cells', *Biochem Biophys Res Commun*, 73(1), pp. 98-104.
- Rao, M. S. and Shetty, A. K. (2004) 'Efficacy of doublecortin as a marker to analyse the absolute number and dendritic growth of newly generated neurons in the adult dentate gyrus', *Eur J Neurosci*, 19(2), pp. 234-46.
- Rasola, A. and Bernardi, P. (2007) 'The mitochondrial permeability transition pore and its involvement in cell death and in disease pathogenesis', *Apoptosis*, 12(5), pp. 815-33.
- Ravera, S., Panfoli, I., Calzia, D., Aluigi, M. G., Bianchini, P., Diaspro, A., Mancardi, G. and Morelli, A. (2009) 'Evidence for aerobic ATP synthesis in isolated myelin vesicles', *Int J Biochem Cell Biol*, 41(7), pp. 1581-91.
- Rayment, I., Rypniewski, W. R., Schmidt-Bäe, K., Smith, R., Tomchick, D. R., Benning, M. M., Winkelmann, D. A., Wesenberg, G. and Holden, H. M. (1993) 'Three-dimensional structure of myosin subfragment-1: a molecular motor', *Science*, 261(5117), pp. 50-8.
- Redzic, Z. (2011) 'Molecular biology of the blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: similarities and differences', *Fluids Barriers CNS*, 8(1), pp. 3.
- Refetoff, S. (1989) 'Inherited thyroxine-binding globulin abnormalities in man', *Endocr Rev*, 10(3), pp. 275-93.
- Refetoff, S. 2000-2015. Thyroid Hormone Serum Transport Proteins.
- Refetoff, S., Marinov, V. S., Tunca, H., Byrne, M. M., Sunthornthepvarakul, T. and Weiss, R. E. (1996) 'A new family with hyperthyroxinemia caused by transthyretin Val109 misdiagnosed as

- thyrotoxicosis and resistance to thyroid hormone--a clinical research center study', *J Clin Endocrinol Metab*, 81(9), pp. 3335-40.
- Remaud, S., Gothié J. D., Morvan-Dubois, G. and Demeneix, B. A. (2014) 'Thyroid hormone signaling and adult neurogenesis in mammals', *Front Endocrinol (Lausanne)*, 5, pp. 62.
- Remaud, S., Ortiz, F. C., Perret-Jeanneret, M., Aigrot, M. S., Gothié J. D., Fekete, C., Kváta-Papp, Z., Gereben, B., Langui, D., Lubetzki, C., Angulo, M. C., Zalc, B. and Demeneix, B. (2017) 'Transient hypothyroidism favors oligodendrocyte generation providing functional remyelination in the adult mouse brain', *Elife*, 6.
- Renault, V. M., Rafalski, V. A., Morgan, A. A., Salih, D. A., Brett, J. O., Webb, A. E., Villeda, S. A., Thekkat, P. U., Guillerey, C., Denko, N. C., Palmer, T. D., Butte, A. J. and Brunet, A. (2009) 'FoxO3 regulates neural stem cell homeostasis', *Cell Stem Cell*, 5(5), pp. 527-39.
- Reynolds, B. A. and Weiss, S. (1992) 'Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system', *Science*, 255(5052), pp. 1707-10.
- Rharass, T., Lemcke, H., Lantow, M., Kuznetsov, S. A., Weiss, D. G. and Panáová D. (2014) 'Ca²⁺-mediated mitochondrial reactive oxygen species metabolism augments Wnt/ β catenin pathway activation to facilitate cell differentiation', *J Biol Chem*, 289(40), pp. 27937-51.
- Ribeiro, M. O., Bianco, S. D., Kaneshige, M., Schultz, J. J., Cheng, S. Y., Bianco, A. C. and Brent, G. A. (2010) 'Expression of uncoupling protein 1 in mouse brown adipose tissue is thyroid hormone receptor-beta isoform specific and required for adaptive thermogenesis', *Endocrinology*, 151(1), pp. 432-40.
- Ribeiro, R. C., Apriletti, J. W., West, B. L., Wagner, R. L., Fletterick, R. J., Schaufele, F. and Baxter, J. D. (1995) 'The molecular biology of thyroid hormone action', *Ann N Y Acad Sci*, 758, pp. 366-89.
- Rice, S., Lin, A. W., Safer, D., Hart, C. L., Naber, N., Carragher, B. O., Cain, S. M., Pechatnikova, E., Wilson-Kubalek, E. M., Whittaker, M., Pate, E., Cooke, R., Taylor, E. W., Milligan, R. A. and Vale, R. D. (1999) 'A structural change in the kinesin motor protein that drives motility', *Nature*, 402(6763), pp. 778-84.
- Richardson, S. J., Lemkine, G. F., Alfama, G., Hassani, Z. and Demeneix, B. A. (2007) 'Cell division and apoptosis in the adult neural stem cell niche are differentially affected in transthyretin null mice', *Neurosci Lett*, 421(3), pp. 234-8.
- Richardson, W. D., Young, K. M., Tripathi, R. B. and McKenzie, I. (2011) 'NG2-glia as multipotent neural stem cells: fact or fantasy?' *Neuron*, 70(4), pp. 661-73.
- Richetin, K., Moulis, M., Millet, A., Arràola, M. S., Andraini, T., Hua, J., Davezac, N., Roybon, L., Belenguer, P., Miquel, M. C. and Rampon, C. (2017) 'Amplifying mitochondrial function rescues adult neurogenesis in a mouse model of Alzheimer's disease', *Neurobiol Dis*, 102, pp. 113-124.

- Richter, C., Park, J. W. and Ames, B. N. (1988) 'Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85(17), pp. 6465-7.
- Rinholm, J. E., Hamilton, N. B., Kessaris, N., Richardson, W. D., Bergersen, L. H. and Attwell, D. (2011) 'Regulation of oligodendrocyte development and myelination by glucose and lactate', *J Neurosci*, 31(2), pp. 538-48.
- Rinholm, J. E., Vervaeke, K., Tadross, M. R., Tkachuk, A. N., Kopek, B. G., Brown, T. A., Bergersen, L. H. and Clayton, D. A. (2016) 'Movement and structure of mitochondria in oligodendrocytes and their myelin sheaths', *Glia*, 64(5), pp. 810-25.
- Riskind, P. N., Kolodny, J. M. and Larsen, P. R. (1987) 'The regional hypothalamic distribution of type II 5'-monodeiodinase in euthyroid and hypothyroid rats', *Brain Res*, 420(1), pp. 194-8.
- Roberts, L. M., Woodford, K., Zhou, M., Black, D. S., Haggerty, J. E., Tate, E. H., Grindstaff, K. K., Mengesha, W., Raman, C. and Zerangue, N. (2008) 'Expression of the thyroid hormone transporters monocarboxylate transporter-8 (SLC16A2) and organic ion transporter-14 (SLCO1C1) at the blood-brain barrier', *Endocrinology*, 149(12), pp. 6251-61.
- Robins, S. C., Stewart, I., McNay, D. E., Taylor, V., Giachino, C., Goetz, M., Ninkovic, J., Briancon, N., Maratos-Flier, E., Flier, J. S., Kokoeva, M. V. and Placzek, M. (2013) ' α Tanycytes of the adult hypothalamic third ventricle include distinct populations of FGF-responsive neural progenitors', *Nat Commun*, 4, pp. 2049.
- Rochard, P., Rodier, A., Casas, F., Cassar-Malek, I., Marchal-Victorion, S., Daury, L., Wrutniak, C. and Cabello, G. (2000) 'Mitochondrial activity is involved in the regulation of myoblast differentiation through myogenin expression and activity of myogenic factors', *J Biol Chem*, 275(4), pp. 2733-44.
- Rodgers, J. T., Lerin, C., Haas, W., Gygi, S. P., Spiegelman, B. M. and Puigserver, P. (2005) 'Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1', *Nature*, 434(7029), pp. 113-8.
- Rodriguez, T. T., Biscarde, E. F., Muniz, R. F., Amoedo, M. K. and Ramalho, M. J. (2005) 'Prolactin secretion in hypothyroid endotoxemic rats: involvement of L-arginine and nitric oxide synthase', *Shock*, 23(5), pp. 448-52.
- Rogatsky, I., Zarembek, K. A. and Yamamoto, K. R. (2001) 'Factor recruitment and TIF2/GRIP1 corepressor activity at a collagenase-3 response element that mediates regulation by phorbol esters and hormones', *EMBO J*, 20(21), pp. 6071-83.
- Rojo, M., Legros, F., Chateau, D. and Lombè, A. (2002) 'Membrane topology and mitochondrial targeting of mitofusins, ubiquitous mammalian homologs of the transmembrane GTPase Fzo', *J Cell Sci*, 115(Pt 8), pp. 1663-74.

- Román, G. C., Ghassabian, A., Bongers-Schokking, J. J., Jaddoe, V. W., Hofman, A., de Rijke, Y. B., Verhulst, F. C. and Tiemeier, H. (2013) 'Association of gestational maternal hypothyroxinemia and increased autism risk', *Ann Neurol*, 74(5), pp. 733-42.
- Romanko, M. J., Rothstein, R. P. and Levison, S. W. (2004) 'Neural stem cells in the subventricular zone are resilient to hypoxia/ischemia whereas progenitors are vulnerable', *J Cereb Blood Flow Metab*, 24(7), pp. 814-25.
- Rosenfeld, M., Brenner-Lavie, H., Ari, S. G., Kavushansky, A. and Ben-Shachar, D. (2011) 'Perturbation in mitochondrial network dynamics and in complex I dependent cellular respiration in schizophrenia', *Biol Psychiatry*, 69(10), pp. 980-8.
- Rossor, A. M., Polke, J. M., Houlden, H. and Reilly, M. M. (2013) 'Clinical implications of genetic advances in Charcot-Marie-Tooth disease', *Nat Rev Neurol*, 9(10), pp. 562-71.
- Rousselot, P., Lois, C. and Alvarez-Buylla, A. (1995) 'Embryonic (PSA) N-CAM reveals chains of migrating neuroblasts between the lateral ventricle and the olfactory bulb of adult mice', *J Comp Neurol*, 351(1), pp. 51-61.
- Roy, M., Reddy, P. H., Iijima, M. and Sesaki, H. (2015) 'Mitochondrial division and fusion in metabolism', *Curr Opin Cell Biol*, 33, pp. 111-8.
- Saharan, S., Jhaveri, D. J. and Bartlett, P. F. (2013) 'SIRT1 regulates the neurogenic potential of neural precursors in the adult subventricular zone and hippocampus', *J Neurosci Res*, 91(5), pp. 642-59.
- Saher, G., Quintes, S. and Nave, K. A. (2011) 'Cholesterol: a novel regulatory role in myelin formation', *Neuroscientist*, 17(1), pp. 79-93.
- Sahlgren, C., Gustafsson, M. V., Jin, S., Poellinger, L. and Lendahl, U. (2008) 'Notch signaling mediates hypoxia-induced tumor cell migration and invasion', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(17), pp. 6392-7.
- Saltó C., Kindblom, J. M., Johansson, C., Wang, Z., Gullberg, H., Nordströ, K., Mansé, A., Ohlsson, C., Thoré, P., Forrest, D. and Vennströ, B. (2001) 'Ablation of TRalpha2 and a concomitant overexpression of alpha1 yields a mixed hypo- and hyperthyroid phenotype in mice', *Mol Endocrinol*, 15(12), pp. 2115-28.
- Samuels, H. H., Tsai, J. S. and Casanova, J. (1974) 'Thyroid hormone action: in vitro demonstration of putative receptors in isolated nuclei and soluble nuclear extracts', *Science*, 184(4142), pp. 1188-91.
- Sanai, N., Nguyen, T., Ihrie, R. A., Mirzadeh, Z., Tsai, H. H., Wong, M., Gupta, N., Berger, M. S., Huang, E., Garcia-Verdugo, J. M., Rowitch, D. H. and Alvarez-Buylla, A. (2011) 'Corridors of migrating neurons in the human brain and their decline during infancy', *Nature*, 478(7369), pp. 382-6.
- Sánchez-Abarca, L. I., Tabernero, A. and Medina, J. M. (2001) 'Oligodendrocytes use lactate as a source of energy and as a precursor of lipids', *Glia*, 36(3), pp. 321-9.

- Sanders, D. C., Chaturvedi, A. K. and Hordinsky, J. R. (1999) 'Melatonin: aeromedical, toxicopharmacological, and analytical aspects', *J Anal Toxicol*, 23(3), pp. 159-67.
- Sandieson, L., Hwang, J. T. and Kelly, G. M. (2014) 'Redox regulation of canonical Wnt signaling affects extraembryonic endoderm formation', *Stem Cells Dev*, 23(10), pp. 1037-49.
- Santarelli, L., Saxe, M., Gross, C., Surget, A., Battaglia, F., Dulawa, S., Weisstaub, N., Lee, J., Duman, R., Arancio, O., Belzung, C. and Hen, R. (2003) 'Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants', *Science*, 301(5634), pp. 805-9.
- Santilli, G., Lamorte, G., Carlessi, L., Ferrari, D., Rota Nodari, L., Binda, E., Delia, D., Vescovi, A. L. and De Filippis, L. (2010) 'Mild hypoxia enhances proliferation and multipotency of human neural stem cells', *PLoS One*, 5(1), pp. e8575.
- Sap, J., Muñoz, A., Damm, K., Goldberg, Y., Ghysdael, J., Leutz, A., Beug, H. and Vennström, B. (1986) 'The c-erb-A protein is a high-affinity receptor for thyroid hormone', *Nature*, 324(6098), pp. 635-40.
- Saretzki, G., Walter, T., Atkinson, S., Passos, J. F., Bareth, B., Keith, W. N., Stewart, R., Hoare, S., Stojkovic, M., Armstrong, L., von Zglinicki, T. and Lako, M. (2008) 'Downregulation of multiple stress defense mechanisms during differentiation of human embryonic stem cells', *Stem Cells*, 26(2), pp. 455-64.
- Sarlière, L. L., Rodríguez-Peña, A. and Langley, K. (2004) 'Expression of thyroid hormone receptor isoforms in the oligodendrocyte lineage', *Neurochem Res*, 29(5), pp. 903-22.
- Sasaki, S., Lesoon-Wood, L. A., Dey, A., Kuwata, T., Weintraub, B. D., Humphrey, G., Yang, W. M., Seto, E., Yen, P. M., Howard, B. H. and Ozato, K. (1999) 'Ligand-induced recruitment of a histone deacetylase in the negative-feedback regulation of the thyrotropin beta gene', *EMBO J*, 18(19), pp. 5389-98.
- Sastre, J., Borrà, C., Garcí-Sala, D., Lloret, A., Pallardó F. V. and Viñ, J. (2002) 'Mitochondrial damage in aging and apoptosis', *Ann N Y Acad Sci*, 959, pp. 448-51.
- Satoh, T., Monden, T., Ishizuka, T., Mitsuhashi, T., Yamada, M. and Mori, M. (1999) 'DNA binding and interaction with the nuclear receptor corepressor of thyroid hormone receptor are required for ligand-independent stimulation of the mouse preprothyrotropin-releasing hormone gene', *Mol Cell Endocrinol*, 154(1-2), pp. 137-49.
- Sato, K., Han, D. C., Fujii, Y., Tsushima, T. and Shizume, K. (1987) 'Thyroid hormone stimulates alkaline phosphatase activity in cultured rat osteoblastic cells (ROS 17/2.8) through 3,5,3'-triiodo-L-thyronine nuclear receptors', *Endocrinology*, 120(5), pp. 1873-81.
- Sauer, H., Wartenberg, M. and Hescheler, J. (2001) 'Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation', *Cell Physiol Biochem*, 11(4), pp. 173-86.
- Sawicka, A. and Seiser, C. (2012) 'Histone H3 phosphorylation - a versatile chromatin modification for different occasions', *Biochimie*, 94(11), pp. 2193-201.

- Saxton, W. M. and Hollenbeck, P. J. (2012) 'The axonal transport of mitochondria', *J Cell Sci*, 125(Pt 9), pp. 2095-104.
- Scherer, S. S., Deschêes, S. M., Xu, Y. T., Grinspan, J. B., Fischbeck, K. H. and Paul, D. L. (1995) 'Connexin32 is a myelin-related protein in the PNS and CNS', *J Neurosci*, 15(12), pp. 8281-94.
- Schoenfeld, R., Wong, A., Silva, J., Li, M., Itoh, A., Horiuchi, M., Itoh, T., Pleasure, D. and Cortopassi, G. (2010) 'Oligodendroglial differentiation induces mitochondrial genes and inhibition of mitochondrial function represses oligodendroglial differentiation', *Mitochondrion*, 10(2), pp. 143-50.
- Schoenfeld, T. J. and Cameron, H. A. (2015) 'Adult neurogenesis and mental illness', *Neuropsychopharmacology*, 40(1), pp. 113-28.
- Schon, E. A. and Przedborski, S. (2011) 'Mitochondria: the next (neurode)generation', *Neuron*, 70(6), pp. 1033-53.
- Schönfeld, P., Wiêkowski, M. R. and Wojtczak, L. (1997) 'Thyroid hormone-induced expression of the ADP/ATP carrier and its effect on fatty acid-induced uncoupling of oxidative phosphorylation', *FEBS Lett*, 416(1), pp. 19-22.
- Schoonover, C. M., Seibel, M. M., Jolson, D. M., Stack, M. J., Rahman, R. J., Jones, S. A., Mariash, C. N. and Anderson, G. W. (2004) 'Thyroid hormone regulates oligodendrocyte accumulation in developing rat brain white matter tracts', *Endocrinology*, 145(11), pp. 5013-20.
- Schreiber, G., Aldred, A. R., Jaworowski, A., Nilsson, C., Achen, M. G. and Segal, M. B. (1990) 'Thyroxine transport from blood to brain via transthyretin synthesis in choroid plexus', *Am J Physiol*, 258(2 Pt 2), pp. R338-45.
- Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Seeley, R. J. and Baskin, D. G. (2000) 'Central nervous system control of food intake', *Nature*, 404(6778), pp. 661-71.
- Schweizer, U., Johannes, J., Bayer, D. and Braun, D. (2014) 'Structure and function of thyroid hormone plasma membrane transporters', *Eur Thyroid J*, 3(3), pp. 143-53.
- Scobie, K. N., Hall, B. J., Wilke, S. A., Klemenhausen, K. C., Fujii-Kuriyama, Y., Ghosh, A., Hen, R. and Sahay, A. (2009) 'Krüppel-like factor 9 is necessary for late-phase neuronal maturation in the developing dentate gyrus and during adult hippocampal neurogenesis', *J Neurosci*, 29(31), pp. 9875-87.
- Seelig, S., Liaw, C., Towle, H. C. and Oppenheimer, J. H. (1981) 'Thyroid hormone attenuates and augments hepatic gene expression at a pretranslational level', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 78(8), pp. 4733-7.
- Seitz, H. J., Müller, M. J. and Soboll, S. (1985) 'Rapid thyroid-hormone effect on mitochondrial and cytosolic ATP/ADP ratios in the intact liver cell', *Biochem J*, 227(1), pp. 149-53.
- Senese, R., Cioffi, F., de Lange, P., Goglia, F. and Lanni, A. (2014) 'Thyroid: biological actions of 'nonclassical' thyroid hormones', *J Endocrinol*, 221(2), pp. R1-12.

- Seyer, P., Grandemange, S., Rochard, P., Busson, M., Pessemeesse, L., Casas, F., Cabello, G. and Wrutniak-Cabello, C. (2011) 'P43-dependent mitochondrial activity regulates myoblast differentiation and slow myosin isoform expression by control of Calcineurin expression', *Exp Cell Res*, 317(14), pp. 2059-71.
- Sheng, B., Wang, X., Su, B., Lee, H. G., Casadesus, G., Perry, G. and Zhu, X. (2012) 'Impaired mitochondrial biogenesis contributes to mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease', *J Neurochem*, 120(3), pp. 419-29.
- Shen, Q., Wang, Y., Kokovay, E., Lin, G., Chuang, S. M., Goderie, S. K., Roysam, B. and Temple, S. (2008) 'Adult SVZ stem cells lie in a vascular niche: a quantitative analysis of niche cell-cell interactions', *Cell Stem Cell*, 3(3), pp. 289-300.
- Sherwood, V., Chaurasiya, S. K., Ekströ, E. J., Guilmain, W., Liu, Q., Koeck, T., Brown, K., Hansson, K., Agnarsdóttir, M., Bergqvist, M., Jirströ, K., Ponten, F., James, P. and Andersson, T. (2014) 'WNT5A-mediated β catenin-independent signalling is a novel regulator of cancer cell metabolism', *Carcinogenesis*, 35(4), pp. 784-94.
- Shibusawa, N., Hollenberg, A. N. and Wondisford, F. E. (2003) 'Thyroid hormone receptor DNA binding is required for both positive and negative gene regulation', *J Biol Chem*, 278(2), pp. 732-8.
- Shingo, T., Gregg, C., Enwere, E., Fujikawa, H., Hassam, R., Geary, C., Cross, J. C. and Weiss, S. (2003) 'Pregnancy-stimulated neurogenesis in the adult female forebrain mediated by prolactin', *Science*, 299(5603), pp. 117-20.
- Shin, J., Berg, D. A., Zhu, Y., Shin, J. Y., Song, J., Bonaguidi, M. A., Enikolopov, G., Nauen, D. W., Christian, K. M., Ming, G. L. and Song, H. (2015) 'Single-Cell RNA-Seq with Waterfall Reveals Molecular Cascades underlying Adult Neurogenesis', *Cell Stem Cell*, 17(3), pp. 360-72.
- Shin, J. H., Ko, H. S., Kang, H., Lee, Y., Lee, Y. I., Pletinkova, O., Troconso, J. C., Dawson, V. L. and Dawson, T. M. (2011) 'PARIS (ZNF746) repression of PGC-1 α contributes to neurodegeneration in Parkinson's disease', *Cell*, 144(5), pp. 689-702.
- Shinohara, C., Gobbel, G. T., Lamborn, K. R., Tada, E. and Fike, J. R. (1997) 'Apoptosis in the subependyma of young adult rats after single and fractionated doses of X-rays', *Cancer Res*, 57(13), pp. 2694-702.
- Shirendeb, U. P., Calkins, M. J., Manczak, M., Anekonda, V., Dufour, B., McBride, J. L., Mao, P. and Reddy, P. H. (2012) 'Mutant huntingtin's interaction with mitochondrial protein Drp1 impairs mitochondrial biogenesis and causes defective axonal transport and synaptic degeneration in Huntington's disease', *Hum Mol Genet*, 21(2), pp. 406-20.
- Shitamukai, A., Konno, D. and Matsuzaki, F. (2011) 'Oblique radial glial divisions in the developing mouse neocortex induce self-renewing progenitors outside the germinal zone that resemble primate outer subventricular zone progenitors', *J Neurosci*, 31(10), pp. 3683-95.

- Shmueli, O., Gdalyahu, A., Sorokina, K., Nevo, E., Avivi, A. and Reiner, O. (2001) 'DCX in PC12 cells: CREB-mediated transcription and neurite outgrowth', *Hum Mol Genet*, 10(10), pp. 1061-70.
- Shtutman, M., Zhurinsky, J., Simcha, I., Albanese, C., D'Amico, M., Pestell, R. and Ben-Ze'ev, A. (1999) 'The cyclin D1 gene is a target of the beta-catenin/LEF-1 pathway', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(10), pp. 5522-7.
- Shulman, A. I., Larson, C., Mangelsdorf, D. J. and Ranganathan, R. (2004) 'Structural determinants of allosteric ligand activation in RXR heterodimers', *Cell*, 116(3), pp. 417-29.
- Shyh-Chang, N., Daley, G. Q. and Cantley, L. C. (2013) 'Stem cell metabolism in tissue development and aging', *Development*, 140(12), pp. 2535-47.
- Siegrist-Kaiser, C. A., Juge-Aubry, C., Tranter, M. P., Ekenbarger, D. M. and Leonard, J. L. (1990) 'Thyroxine-dependent modulation of actin polymerization in cultured astrocytes. A novel, extranuclear action of thyroid hormone', *J Biol Chem*, 265(9), pp. 5296-302.
- Sikorska, M., Sandhu, J. K., Deb-Rinker, P., Jezierski, A., Leblanc, J., Charlebois, C., Ribocco-Lutkiewicz, M., Bani-Yaghoub, M. and Walker, P. R. (2008) 'Epigenetic modifications of SOX2 enhancers, SRR1 and SRR2, correlate with in vitro neural differentiation', *J Neurosci Res*, 86(8), pp. 1680-93.
- Silva, D. F., Selfridge, J. E., Lu, J., E, L., Roy, N., Hutfles, L., Burns, J. M., Michaelis, E. K., Yan, S., Cardoso, S. M. and Swerdlow, R. H. (2013) 'Bioenergetic flux, mitochondrial mass and mitochondrial morphology dynamics in AD and MCI cybrid cell lines', *Hum Mol Genet*, 22(19), pp. 3931-46.
- Silva, J. M., Wong, A., Carelli, V. and Cortopassi, G. A. (2009) 'Inhibition of mitochondrial function induces an integrated stress response in oligodendroglia', *Neurobiol Dis*, 34(2), pp. 357-65.
- Silva-Vargas, V., Crouch, E. E. and Doetsch, F. (2013) 'Adult neural stem cells and their niche: a dynamic duo during homeostasis, regeneration, and aging', *Curr Opin Neurobiol*, 23(6), pp. 935-42.
- Silva-Vargas, V., Maldonado-Soto, A. R., Mizrak, D., Codega, P. and Doetsch, F. (2016) 'Age-Dependent Niche Signals from the Choroid Plexus Regulate Adult Neural Stem Cells', *Cell Stem Cell*, 19(5), pp. 643-652.
- Simonides, W. S., Mulcahey, M. A., Redout, E. M., Muller, A., Zuidwijk, M. J., Visser, T. J., Wassen, F. W., Crescenzi, A., da-Silva, W. S., Harney, J., Engel, F. B., Obregon, M. J., Larsen, P. R., Bianco, A. C. and Huang, S. A. (2008) 'Hypoxia-inducible factor induces local thyroid hormone inactivation during hypoxic-ischemic disease in rats', *J Clin Invest*, 118(3), pp. 975-83.
- Simsek, T., Kocabas, F., Zheng, J., Deberardinis, R. J., Mahmoud, A. I., Olson, E. N., Schneider, J. W., Zhang, C. C. and Sadek, H. A. (2010) 'The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche', *Cell Stem Cell*, 7(3), pp. 380-90.

- Sinha, R. A., Pathak, A., Mohan, V., Babu, S., Pal, A., Khare, D. and Godbole, M. M. (2010) 'Evidence of a bigenomic regulation of mitochondrial gene expression by thyroid hormone during rat brain development', *Biochem Biophys Res Commun*, 397(3), pp. 548-52.
- Sinha, R. A., Singh, B. K., Zhou, J., Wu, Y., Farah, B. L., Ohba, K., Lesmana, R., Gooding, J., Bay, B. H. and Yen, P. M. (2015) 'Thyroid hormone induction of mitochondrial activity is coupled to mitophagy via ROS-AMPK-ULK1 signaling', *Autophagy*, 11(8), pp. 1341-57.
- Sirakov, M., Boussouar, A., Kress, E., Frau, C., Lone, I. N., Nadjar, J., Angelov, D. and Plateroti, M. (2015) 'The thyroid hormone nuclear receptor TR β controls the Notch signaling pathway and cell fate in murine intestine', *Development*, 142(16), pp. 2764-74.
- Skarlatos, S., Yoshikawa, T. and Pardridge, W. M. (1995) 'Transport of [125I]transferrin through the rat blood-brain barrier', *Brain Res*, 683(2), pp. 164-71.
- Smith, K. J. (2007) 'Sodium channels and multiple sclerosis: roles in symptom production, damage and therapy', *Brain Pathol*, 17(2), pp. 230-42.
- Sommer, I. and Schachner, M. (1981) 'Monoclonal antibodies (O1 to O4) to oligodendrocyte cell surfaces: an immunocytological study in the central nervous system', *Dev Biol*, 83(2), pp. 311-27.
- Somogyi, V., Horváh, T. L., Tóh, I., Bartha, T., Frenyó L. V., Kiss, D. S., Jósá, G., Kerti, A., Naftolin, F. and Zsarnovszky, A. (2016) 'Bisphenol A influences oestrogen- and thyroid hormone-regulated thyroid hormone receptor expression in rat cerebellar cell culture', *Acta Vet Hung*, 64(4), pp. 497-513.
- Song, J., Kang, S. M., Lee, K. M. and Lee, J. E. (2015) 'The protective effect of melatonin on neural stem cell against LPS-induced inflammation', *Biomed Res Int*, 2015, pp. 854359.
- Song, W., Chen, J., Petrilli, A., Liot, G., Klinglmayr, E., Zhou, Y., Poquiz, P., Tjong, J., Pouladi, M. A., Hayden, M. R., Masliah, E., Ellisman, M., Rouiller, I., Schwarzenbacher, R., Bossy, B., Perkins, G. and Bossy-Wetzel, E. (2011) 'Mutant huntingtin binds the mitochondrial fission GTPase dynamin-related protein-1 and increases its enzymatic activity', *Nat Med*, 17(3), pp. 377-82.
- Song, Z., Chen, H., Fiket, M., Alexander, C. and Chan, D. C. (2007) 'OPA1 processing controls mitochondrial fusion and is regulated by mRNA splicing, membrane potential, and Yme1L', *J Cell Biol*, 178(5), pp. 749-55.
- Sossey-Alaoui, K., Hartung, A. J., Guerrini, R., Manchester, D. K., Posar, A., Puche-Mira, A., Andermann, E., Dobyns, W. B. and Srivastava, A. K. (1998) 'Human doublecortin (DCX) and the homologous gene in mouse encode a putative Ca²⁺-dependent signaling protein which is mutated in human X-linked neuronal migration defects', *Hum Mol Genet*, 7(8), pp. 1327-32.
- Sossey-Alaoui, K. and Srivastava, A. K. (1999) 'DCAMKL1, a brain-specific transmembrane protein on 13q12.3 that is similar to doublecortin (DCX)', *Genomics*, 56(1), pp. 121-6.

- Sotthibundhu, A., Phansuwan-Pujito, P. and Govitrapong, P. (2010) 'Melatonin increases proliferation of cultured neural stem cells obtained from adult mouse subventricular zone', *J Pineal Res*, 49(3), pp. 291-300.
- Southwell, B. R., Duan, W., Alcorn, D., Brack, C., Richardson, S. J., Körle, J. and Schreiber, G. (1993) 'Thyroxine transport to the brain: role of protein synthesis by the choroid plexus', *Endocrinology*, 133(5), pp. 2116-26.
- Spalding, K. L., Bhardwaj, R. D., Buchholz, B. A., Druid, H. and Frisé, J. (2005) 'Retrospective birth dating of cells in humans', *Cell*, 122(1), pp. 133-43.
- Spritzer, M. D. and Galea, L. A. (2007) 'Testosterone and dihydrotestosterone, but not estradiol, enhance survival of new hippocampal neurons in adult male rats', *Dev Neurobiol*, 67(10), pp. 1321-33.
- Stauder, A. J., Dickson, P. W., Aldred, A. R., Schreiber, G., Mendelsohn, F. A. and Hudson, P. (1986) 'Synthesis of transthyretin (pre-albumin) mRNA in choroid plexus epithelial cells, localized by in situ hybridization in rat brain', *J Histochem Cytochem*, 34(7), pp. 949-52.
- STEIN, W. H. and MOORE, S. (1954) 'The free amino acids of human blood plasma', *J Biol Chem*, 211(2), pp. 915-26.
- Stenzel, D., Wilsch-Bräninger, M., Wong, F. K., Heuer, H. and Huttner, W. B. (2014) 'Integrin α ³ and thyroid hormones promote expansion of progenitors in embryonic neocortex', *Development*, 141(4), pp. 795-806.
- Sterling, K., Brenner, M. A. and Sakurada, T. (1980) 'Rapid effect of triiodothyronine on the mitochondrial pathway in rat liver in vivo', *Science*, 210(4467), pp. 340-2.
- Sterling, K., Campbell, G. A., Taliadouros, G. S. and Nunez, E. A. (1984) 'Mitochondrial binding of triiodothyronine (T3). Demonstration by electron-microscopic radioautography of dispersed liver cells', *Cell Tissue Res*, 236(2), pp. 321-5.
- Sterling, K., Milch, P. O., Brenner, M. A. and Lazarus, J. H. (1977) 'Thyroid hormone action: the mitochondrial pathway', *Science*, 197(4307), pp. 996-9.
- Stidworthy, M. F., Genoud, S., Suter, U., Mantei, N. and Franklin, R. J. (2003) 'Quantifying the early stages of remyelination following cuprizone-induced demyelination', *Brain Pathol*, 13(3), pp. 329-39.
- Stockigt, J. R. (1983) 'New methods of free T4 estimation. The need for critical evaluation', *Med J Aust*, 1(2), pp. 53-4.
- Stolt, C. C., Lommes, P., Friedrich, R. P. and Wegner, M. (2004) 'Transcription factors Sox8 and Sox10 perform non-equivalent roles during oligodendrocyte development despite functional redundancy', *Development*, 131(10), pp. 2349-58.
- St-Pierre, J., Drori, S., Uldry, M., Silvaggi, J. M., Rhee, J., Jäger, S., Handschin, C., Zheng, K., Lin, J., Yang, W., Simon, D. K., Bachoo, R. and Spiegelman, B. M. (2006) 'Suppression of reactive

- oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators', *Cell*, 127(2), pp. 397-408.
- St-Pierre, J., Lin, J., Krauss, S., Tarr, P. T., Yang, R., Newgard, C. B. and Spiegelman, B. M. (2003) 'Bioenergetic analysis of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivators 1alpha and 1beta (PGC-1alpha and PGC-1beta) in muscle cells', *J Biol Chem*, 278(29), pp. 26597-603.
- Strait, K. A., Carlson, D. J., Schwartz, H. L. and Oppenheimer, J. H. (1997) 'Transient stimulation of myelin basic protein gene expression in differentiating cultured oligodendrocytes: a model for 3,5,3'-triiodothyronine-induced brain development', *Endocrinology*, 138(2), pp. 635-41.
- Suda, T., Takubo, K. and Semenza, G. L. (2011) 'Metabolic regulation of hematopoietic stem cells in the hypoxic niche', *Cell Stem Cell*, 9(4), pp. 298-310.
- Suh, H., Consiglio, A., Ray, J., Sawai, T., D'Amour, K. A. and Gage, F. H. (2007) 'In vivo fate analysis reveals the multipotent and self-renewal capacities of Sox2+ neural stem cells in the adult hippocampus', *Cell Stem Cell*, 1(5), pp. 515-28.
- Suh, J. H., Sieglaff, D. H., Zhang, A., Xia, X., Cvaro, A., Winnier, G. E. and Webb, P. (2013) 'SIRT1 is a direct coactivator of thyroid hormone receptor with gene-specific actions', *PLoS One*, 8(7), pp. e70097.
- Suhonen, J. O., Peterson, D. A., Ray, J. and Gage, F. H. (1996) 'Differentiation of adult hippocampus-derived progenitors into olfactory neurons in vivo', *Nature*, 383(6601), pp. 624-7.
- Suh, Y., Obernier, K., Hözl-Wenig, G., Mandl, C., Herrmann, A., Wöner, K., Eckstein, V. and Ciccolini, F. (2009) 'Interaction between DLX2 and EGFR regulates proliferation and neurogenesis of SVZ precursors', *Mol Cell Neurosci*, 42(4), pp. 308-14.
- Sun, F., Mao, X., Xie, L., Ding, M., Shao, B. and Jin, K. (2013) 'Notch1 signaling modulates neuronal progenitor activity in the subventricular zone in response to aging and focal ischemia', *Aging Cell*, 12(6), pp. 978-87.
- Sunthornthepvarakul, T., Likitmaskul, S., Ngowngarmratana, S., Angsusingha, K., Kitvitayasak, S., Scherberg, N. H. and Refetoff, S. (1998) 'Familial dysalbuminemic hypertriiodothyroninemia: a new, dominantly inherited albumin defect', *J Clin Endocrinol Metab*, 83(5), pp. 1448-54.
- Surks, M. I. and Hollowell, J. G. (2007) 'Age-specific distribution of serum thyrotropin and antithyroid antibodies in the US population: implications for the prevalence of subclinical hypothyroidism', *J Clin Endocrinol Metab*, 92(12), pp. 4575-82.
- Tagami, T., Park, Y. and Jameson, J. L. (1999) 'Mechanisms that mediate negative regulation of the thyroid-stimulating hormone alpha gene by the thyroid hormone receptor', *J Biol Chem*, 274(32), pp. 22345-53.
- Taguchi, N., Ishihara, N., Jofuku, A., Oka, T. and Mihara, K. (2007) 'Mitotic phosphorylation of dynamin-related GTPase Drp1 participates in mitochondrial fission', *J Biol Chem*, 282(15), pp. 11521-9.

- Tahara, E. B., Navarete, F. D. and Kowaltowski, A. J. (2009) 'Tissue-, substrate-, and site-specific characteristics of mitochondrial reactive oxygen species generation', *Free Radic Biol Med*, 46(9), pp. 1283-97.
- Taylor, D., Hahm, E. R., Kale, R. K., Singh, S. V. and Singh, R. P. (2014) 'Sodium butyrate induces DRP1-mediated mitochondrial fusion and apoptosis in human colorectal cancer cells', *Mitochondrion*, 16, pp. 55-64.
- Takubo, K., Nagamatsu, G., Kobayashi, C. I., Nakamura-Ishizu, A., Kobayashi, H., Ikeda, E., Goda, N., Rahimi, Y., Johnson, R. S., Soga, T., Hirao, A., Suematsu, M. and Suda, T. (2013) 'Regulation of glycolysis by Pdk functions as a metabolic checkpoint for cell cycle quiescence in hematopoietic stem cells', *Cell Stem Cell*, 12(1), pp. 49-61.
- Tanapat, P., Hastings, N. B. and Gould, E. (2005) 'Ovarian steroids influence cell proliferation in the dentate gyrus of the adult female rat in a dose- and time-dependent manner', *J Comp Neurol*, 481(3), pp. 252-65.
- Tanner, K. G., Landry, J., Sternglanz, R. and Denu, J. M. (2000) 'Silent information regulator 2 family of NAD- dependent histone/protein deacetylases generates a unique product, 1-O-acetyl-ADP-ribose', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(26), pp. 14178-82.
- Tanno, M., Sakamoto, J., Miura, T., Shimamoto, K. and Horio, Y. (2007) 'Nucleocytoplasmic shuttling of the NAD⁺-dependent histone deacetylase SIRT1', *J Biol Chem*, 282(9), pp. 6823-32.
- Tavazoie, M., Van der Veken, L., Silva-Vargas, V., Louissaint, M., Colonna, L., Zaidi, B., Garcia-Verdugo, J. M. and Doetsch, F. (2008) 'A specialized vascular niche for adult neural stem cells', *Cell Stem Cell*, 3(3), pp. 279-88.
- Tetsu, O. and McCormick, F. (1999) 'Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells', *Nature*, 398(6726), pp. 422-6.
- Thakran, S., Sharma, P., Attia, R. R., Hori, R. T., Deng, X., Elam, M. B. and Park, E. A. (2013) 'Role of sirtuin 1 in the regulation of hepatic gene expression by thyroid hormone', *J Biol Chem*, 288(2), pp. 807-18.
- Thijssen-Timmer, D. C., Schiphorst, M. P., Kwakkel, J., Emter, R., Kralli, A., Wiersinga, W. M. and Bakker, O. (2006) 'PGC-1alpha regulates the isoform mRNA ratio of the alternatively spliced thyroid hormone receptor alpha transcript', *J Mol Endocrinol*, 37(2), pp. 251-7.
- Thomas, W. E. and Mowbray, J. (1987) 'Evidence for ADP-ribosylation in the mechanism of rapid thyroid hormone control of mitochondria', *FEBS Lett*, 223(2), pp. 279-83.
- Thompson, C. C., Weinberger, C., Lebo, R. and Evans, R. M. (1987) 'Identification of a novel thyroid hormone receptor expressed in the mammalian central nervous system', *Science*, 237(4822), pp. 1610-4.

- Tiwari, S. K., Agarwal, S., Chauhan, L. K., Mishra, V. N. and Chaturvedi, R. K. (2015a) 'Bisphenol-A impairs myelination potential during development in the hippocampus of the rat brain', *Mol Neurobiol*, 51(3), pp. 1395-416.
- Tiwari, S. K., Agarwal, S., Seth, B., Yadav, A., Ray, R. S., Mishra, V. N. and Chaturvedi, R. K. (2015b) 'Inhibitory Effects of Bisphenol-A on Neural Stem Cells Proliferation and Differentiation in the Rat Brain Are Dependent on Wnt/ β Catenin Pathway', *Mol Neurobiol*, 52(3), pp. 1735-1757.
- Todorich, B., Pasquini, J. M., Garcia, C. I., Paez, P. M. and Connor, J. R. (2009) 'Oligodendrocytes and myelination: the role of iron', *Glia*, 57(5), pp. 467-78.
- Todorich, B., Zhang, X., Slagle-Webb, B., Seaman, W. E. and Connor, J. R. (2008) 'Tim-2 is the receptor for H-ferritin on oligodendrocytes', *J Neurochem*, 107(6), pp. 1495-505.
- Tomasi, T. E. (1991) 'Utilization rates of thyroid hormones in mammals', *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*, 100(3), pp. 503-16.
- Tondera, D., Czauderna, F., Paulick, K., Schwarzer, R., Kaufmann, J. and Santel, A. (2005) 'The mitochondrial protein MTP18 contributes to mitochondrial fission in mammalian cells', *J Cell Sci*, 118(Pt 14), pp. 3049-59.
- Tong, C. K., Fuentealba, L. C., Shah, J. K., Lindquist, R. A., Ihrie, R. A., Guinto, C. D., Rodas-Rodriguez, J. L. and Alvarez-Buylla, A. (2015) 'A Dorsal SHH-Dependent Domain in the V-SVZ Produces Large Numbers of Oligodendroglial Lineage Cells in the Postnatal Brain', *Stem Cell Reports*, 5(4), pp. 461-70.
- Tothova, Z., Kollipara, R., Huntly, B. J., Lee, B. H., Castrillon, D. H., Cullen, D. E., McDowell, E. P., Lazo-Kallanian, S., Williams, I. R., Sears, C., Armstrong, S. A., Passegué E., DePinho, R. A. and Gilliland, D. G. (2007) 'FoxOs are critical mediators of hematopoietic stem cell resistance to physiologic oxidative stress', *Cell*, 128(2), pp. 325-39.
- Trajkovic, M., Visser, T. J., Mittag, J., Horn, S., Lukas, J., Darras, V. M., Raivich, G., Bauer, K. and Heuer, H. (2007) 'Abnormal thyroid hormone metabolism in mice lacking the monocarboxylate transporter 8', *J Clin Invest*, 117(3), pp. 627-35.
- Tu, H. M., Legradi, G., Bartha, T., Salvatore, D., Lechan, R. M. and Larsen, P. R. (1999) 'Regional expression of the type 3 iodothyronine deiodinase messenger ribonucleic acid in the rat central nervous system and its regulation by thyroid hormone', *Endocrinology*, 140(2), pp. 784-90.
- Turaç G., Hindley, C. J., Thomas, R., Davis, J. A., Deleidi, M., Gasser, T., Karaö, E. and Pruszk, J. (2013) 'Combined flow cytometric analysis of surface and intracellular antigens reveals surface molecule markers of human neurogenesis', *PLoS One*, 8(6), pp. e68519.
- Uhl, I., Bez, J. A., Stamm, T., Pilhatsch, M., Assion, H. J., Norra, C., Lewitzka, U., Schlagenhauf, F., Bauer, M. and Juckel, G. (2014) 'Influence of levothyroxine in augmentation therapy for bipolar depression on central serotonergic function', *Pharmacopsychiatry*, 47(4-5), pp. 180-3.

- Valle, I., Alvarez-Barrientos, A., Arza, E., Lamas, S. and Monsalve, M. (2005) 'PGC-1 α regulates the mitochondrial antioxidant defense system in vascular endothelial cells', *Cardiovasc Res*, 66(3), pp. 562-73.
- van der Deure, W. M., Peeters, R. P. and Visser, T. J. (2010) 'Molecular aspects of thyroid hormone transporters, including MCT8, MCT10, and OATPs, and the effects of genetic variation in these transporters', *J Mol Endocrinol*, 44(1), pp. 1-11.
- van Praag, H., Kempermann, G. and Gage, F. H. (1999) 'Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus', *Nat Neurosci*, 2(3), pp. 266-70.
- Vaquero, A., Scher, M. B., Lee, D. H., Sutton, A., Cheng, H. L., Alt, F. W., Serrano, L., Sternglanz, R. and Reinberg, D. (2006) 'SirT2 is a histone deacetylase with preference for histone H4 Lys 16 during mitosis', *Genes Dev*, 20(10), pp. 1256-61.
- Vaquero, A., Scher, M., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Serrano, L. and Reinberg, D. (2007) 'SIRT1 regulates the histone methyl-transferase SUV39H1 during heterochromatin formation', *Nature*, 450(7168), pp. 440-4.
- Vazquez-Anaya, G., Martinez, B., Soñez-Organis, J. G., Nakano, D., Nishiyama, A. and Ortiz, R. M. (2017) 'Exogenous thyroxine improves glucose intolerance in insulin-resistant rats', *J Endocrinol*, 232(3), pp. 501-511.
- Velasco, L. F., Togashi, M., Walfish, P. G., Pessanha, R. P., Moura, F. N., Barra, G. B., Nguyen, P., Rebong, R., Yuan, C., Simeoni, L. A., Ribeiro, R. C., Baxter, J. D., Webb, P. and Neves, F. A. (2007) 'Thyroid hormone response element organization dictates the composition of active receptor', *J Biol Chem*, 282(17), pp. 12458-66.
- Vella, K. R., Ramadoss, P., Lam, F. S., Harris, J. C., Ye, F. D., Same, P. D., O'Neill, N. F., Maratos-Flier, E. and Hollenberg, A. N. (2011) 'NPY and MC4R signaling regulate thyroid hormone levels during fasting through both central and peripheral pathways', *Cell Metab*, 14(6), pp. 780-90.
- Velpula, K. K., Bhasin, A., Asuthkar, S. and Tsung, A. J. (2013) 'Combined targeting of PDK1 and EGFR triggers regression of glioblastoma by reversing the Warburg effect', *Cancer Res*, 73(24), pp. 7277-89.
- Vercauteren, K., Gleyzer, N. and Scarpulla, R. C. (2009) 'Short hairpin RNA-mediated silencing of PRC (PGC-1-related coactivator) results in a severe respiratory chain deficiency associated with the proliferation of aberrant mitochondria', *J Biol Chem*, 284(4), pp. 2307-19.
- Videla, L. A., Fernández, V., Cornejo, P., Vargas, R. and Castillo, I. (2015) 'Thyroid hormone in the frontier of cell protection, survival and functional recovery', *Expert Rev Mol Med*, 17, pp. e10.
- Villa, A., Santiago, J., Belandia, B. and Pascual, A. (2004) 'A response unit in the first exon of the beta-amyloid precursor protein gene containing thyroid hormone receptor and Sp1 binding sites mediates negative regulation by 3,5,3'-triiodothyronine', *Mol Endocrinol*, 18(4), pp. 863-73.

- Villanueva, I., Alva-Sánchez, C. and Pacheco-Rosado, J. (2013) 'The role of thyroid hormones as inductors of oxidative stress and neurodegeneration', *Oxid Med Cell Longev*, 2013, pp. 218145.
- Visser, T. J., Leonard, J. L., Kaplan, M. M. and Larsen, P. R. (1982) 'Kinetic evidence suggesting two mechanisms for iodothyronine 5'-deiodination in rat cerebral cortex', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 79(16), pp. 5080-4.
- Visser, W. E., Bombardieri, C. R., Zevenbergen, C., Barnhoorn, S., Ottaviani, A., van der Pluijm, I., Brandt, R., Kaptein, E., van Heerebeek, R., van Toor, H., Garinis, G. A., Peeters, R. P., Medici, M., van Ham, W., Vermeij, W. P., de Waard, M. C., de Krijger, R. R., Boelen, A., Kwakkel, J., Kopchick, J. J., List, E. O., Melis, J. P., Darras, V. M., Dollé M. E., van der Horst, G. T., Hoeijmakers, J. H. and Visser, T. J. (2016) 'Tissue-Specific Suppression of Thyroid Hormone Signaling in Various Mouse Models of Aging', *PLoS One*, 11(3), pp. e0149941.
- Wagner, R. L., Apriletti, J. W., McGrath, M. E., West, B. L., Baxter, J. D. and Fletterick, R. J. (1995) 'A structural role for hormone in the thyroid hormone receptor', *Nature*, 378(6558), pp. 690-7.
- Wai, T. and Langer, T. (2016) 'Mitochondrial Dynamics and Metabolic Regulation', *Trends Endocrinol Metab*, 27(2), pp. 105-17.
- Wai, T., Saita, S., Nolte, H., Müller, S., Köig, T., Richter-Dennerlein, R., Sprenger, H. G., Madrenas, J., Mülmeister, M., Brandt, U., Krüer, M. and Langer, T. (2016) 'The membrane scaffold SLP2 anchors a proteolytic hub in mitochondria containing PARL and the i-AAA protease YME1L', *EMBO Rep*, 17(12), pp. 1844-1856.
- Wakabayashi, J., Zhang, Z., Wakabayashi, N., Tamura, Y., Fukaya, M., Kensler, T. W., Iijima, M. and Sesaki, H. (2009) 'The dynamin-related GTPase Drp1 is required for embryonic and brain development in mice', *J Cell Biol*, 186(6), pp. 805-16.
- WALFISH, P. G., BRITTON, A., VOLPE, R. and EZRIN, C. (1961) 'Experience with an in vitro test of thyroid function--the red blood cell uptake of L-triiodothyronine labelled with radioactive iodine', *Can Med Assoc J*, 84, pp. 637-41.
- Walton, N. M., Shin, R., Tajinda, K., Heusner, C. L., Kogan, J. H., Miyake, S., Chen, Q., Tamura, K. and Matsumoto, M. (2012) 'Adult neurogenesis transiently generates oxidative stress', *PLoS One*, 7(4), pp. e35264.
- Wanet, A., Arnould, T., Najimi, M. and Renard, P. (2015) 'Connecting Mitochondria, Metabolism, and Stem Cell Fate', *Stem Cells Dev*, 24(17), pp. 1957-71.
- Wang, G. L., Jiang, B. H., Rue, E. A. and Semenza, G. L. (1995) 'Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92(12), pp. 5510-4.
- Wang, L. C. and Almazan, G. (2016) 'Role of Sonic Hedgehog Signaling in Oligodendrocyte Differentiation', *Neurochem Res*, 41(12), pp. 3289-3299.

- Wang, Q. J., Ding, Y., Kohtz, D. S., Kohtz, S., Mizushima, N., Cristea, I. M., Rout, M. P., Chait, B. T., Zhong, Y., Heintz, N. and Yue, Z. (2006) 'Induction of autophagy in axonal dystrophy and degeneration', *J Neurosci*, 26(31), pp. 8057-68.
- Wang, S., Sdrulla, A. D., diSibio, G., Bush, G., Nofziger, D., Hicks, C., Weinmaster, G. and Barres, B. A. (1998) 'Notch receptor activation inhibits oligodendrocyte differentiation', *Neuron*, 21(1), pp. 63-75.
- Wang, W., Pan, Y. W., Wietecha, T., Zou, J., Abel, G. M., Kuo, C. T. and Xia, Z. (2013) 'Extracellular signal-regulated kinase 5 (ERK5) mediates prolactin-stimulated adult neurogenesis in the subventricular zone and olfactory bulb', *J Biol Chem*, 288(4), pp. 2623-31.
- Wang, X., Su, B., Lee, H. G., Li, X., Perry, G., Smith, M. A. and Zhu, X. (2009) 'Impaired balance of mitochondrial fission and fusion in Alzheimer's disease', *J Neurosci*, 29(28), pp. 9090-103.
- Wang, X., Su, B., Siedlak, S. L., Moreira, P. I., Fujioka, H., Wang, Y., Casadesus, G. and Zhu, X. (2008) 'Amyloid-beta overproduction causes abnormal mitochondrial dynamics via differential modulation of mitochondrial fission/fusion proteins', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(49), pp. 19318-23.
- Wang, X., Yan, M. H., Fujioka, H., Liu, J., Wilson-Delfosse, A., Chen, S. G., Perry, G., Casadesus, G. and Zhu, X. (2012) 'LRRK2 regulates mitochondrial dynamics and function through direct interaction with DLP1', *Hum Mol Genet*, 21(9), pp. 1931-44.
- WARBURG, O. (1956) 'On respiratory impairment in cancer cells', *Science*, 124(3215), pp. 269-70.
- Warburg, O., Posener, K. and Negelein, E. 1924. Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle. *Biochem Zeitschr.*
- Wareski, P., Vaarmann, A., Choubey, V., Safiulina, D., Liiv, J., Kuum, M. and Kaasik, A. (2009) 'PGC-1{alpha} and PGC-1{beta} regulate mitochondrial density in neurons', *J Biol Chem*, 284(32), pp. 21379-85.
- Wassen, F. W., Klootwijk, W., Kaptein, E., Duncker, D. J., Visser, T. J. and Kuiper, G. G. (2004) 'Characteristics and thyroid state-dependent regulation of iodothyronine deiodinases in pigs', *Endocrinology*, 145(9), pp. 4251-63.
- Waterham, H. R., Koster, J., van Roermund, C. W., Mooyer, P. A., Wanders, R. J. and Leonard, J. V. (2007) 'A lethal defect of mitochondrial and peroxisomal fission', *N Engl J Med*, 356(17), pp. 1736-41.
- Waxman, S. G. (2006) 'Axonal conduction and injury in multiple sclerosis: the role of sodium channels', *Nat Rev Neurosci*, 7(12), pp. 932-41.
- Weinandy, F., Ninkovic, J. and Göz, M. (2011) 'Restrictions in time and space--new insights into generation of specific neuronal subtypes in the adult mammalian brain', *Eur J Neurosci*, 33(6), pp. 1045-54.

- Weinberger, C., Thompson, C. C., Ong, E. S., Lebo, R., Gruol, D. J. and Evans, R. M. (1986) 'The c-erb-A gene encodes a thyroid hormone receptor', *Nature*, 324(6098), pp. 641-6.
- Weitzel, J. M., Kutz, S., Radtke, C., Grott, S. and Seitz, H. J. (2001) 'Hormonal regulation of multiple promoters of the rat mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase gene: identification of a complex hormone-response element in the ubiquitous promoter B', *Eur J Biochem*, 268(14), pp. 4095-103.
- Weitzman, P. D. and Hewson, J. K. (1973) 'In situ regulation of yeast citrate synthase. Absence of ATP inhibition observed in vitro', *FEBS Lett*, 36(2), pp. 227-31.
- Wen, J. W., Hwang, J. T. and Kelly, G. M. (2012) 'Reactive oxygen species and Wnt signalling crosstalk patterns mouse extraembryonic endoderm', *Cell Signal*, 24(12), pp. 2337-48.
- Westermann, B. (2010) 'Mitochondrial fusion and fission in cell life and death', *Nat Rev Mol Cell Biol*, 11(12), pp. 872-84.
- Weydt, P., Pineda, V. V., Torrence, A. E., Libby, R. T., Satterfield, T. F., Lazarowski, E. R., Gilbert, M. L., Morton, G. J., Bammler, T. K., Strand, A. D., Cui, L., Beyer, R. P., Easley, C. N., Smith, A. C., Krainc, D., Luquet, S., Sweet, I. R., Schwartz, M. W. and La Spada, A. R. (2006) 'Thermoregulatory and metabolic defects in Huntington's disease transgenic mice implicate PGC-1alpha in Huntington's disease neurodegeneration', *Cell Metab*, 4(5), pp. 349-62.
- Williams, E. O., Taylor, A. K., Bell, E. L., Lim, R., Kim, D. M. and Guarente, L. (2016) 'Sirtuin 1 Promotes Deacetylation of Oct4 and maintenance of Naive Pluripotency', *Cell Rep*, 17(3), pp. 809-820.
- Williams, G. R. (2000) 'Cloning and characterization of two novel thyroid hormone receptor beta isoforms', *Mol Cell Biol*, 20(22), pp. 8329-42.
- Williams, G. R. (2008) 'Neurodevelopmental and neurophysiological actions of thyroid hormone', *J Neuroendocrinol*, 20(6), pp. 784-94.
- Williams, G. R., Zavacki, A. M., Harney, J. W. and Brent, G. A. (1994) 'Thyroid hormone receptor binds with unique properties to response elements that contain hexamer domains in an inverted palindrome arrangement', *Endocrinology*, 134(4), pp. 1888-96.
- Williams, P. A., Morgan, J. E. and Votruba, M. (2011) 'Mouse models of dominant optic atrophy: what do they tell us about the pathophysiology of visual loss?' *Vision Res*, 51(2), pp. 229-34.
- Williams, S. M., Sullivan, R. K., Scott, H. L., Finkelstein, D. I., Colditz, P. B., Lingwood, B. E., Dodd, P. R. and Pow, D. V. (2005) 'Glial glutamate transporter expression patterns in brains from multiple mammalian species', *Glia*, 49(4), pp. 520-41.
- Wirth, E. K., Roth, S., Blechschmidt, C., Höter, S. M., Becker, L., Racz, I., Zimmer, A., Klopstock, T., Gailus-Durner, V., Fuchs, H., Wurst, W., Naumann, T., Bräer, A., de Angelis, M. H., Körle, J., Grüers, A. and Schweizer, U. (2009) 'Neuronal 3',3,5-triiodothyronine (T3) uptake and

- behavioral phenotype of mice deficient in Mct8, the neuronal T3 transporter mutated in Allan-Herndon-Dudley syndrome', *J Neurosci*, 29(30), pp. 9439-49.
- Wise, A., Parham, F., Axelrad, D. A., Guyton, K. Z., Portier, C., Zeise, L., Zoeller, R. T. and Woodruff, T. J. (2012) 'Upstream adverse effects in risk assessment: a model of polychlorinated biphenyls, thyroid hormone disruption and neurological outcomes in humans', *Environ Res*, 117, pp. 90-9.
- Wong, J. and Shi, Y. B. (1995) 'Coordinated regulation of and transcriptional activation by Xenopus thyroid hormone and retinoid X receptors', *J Biol Chem*, 270(31), pp. 18479-83.
- Woodruff, T. J., Zota, A. R. and Schwartz, J. M. (2011) 'Environmental chemicals in pregnant women in the United States: NHANES 2003-2004', *Environ Health Perspect*, 119(6), pp. 878-85.
- Wood, W. M., Sarapura, V. D., Dowding, J. M., Woodmansee, W. W., Haakinson, D. J., Gordon, D. F. and Ridgway, E. C. (2002) 'Early gene expression changes preceding thyroid hormone-induced involution of a thyrotrope tumor', *Endocrinology*, 143(2), pp. 347-59.
- Worlitzer, M. M. and Schwamborn, J. C. (2014) 'The Notch co-repressor protein NKAP is highly expressed in adult mouse subventricular zone neural progenitor cells', *Neuroscience*, 266, pp. 138-49.
- Wrutniak-Cabello, C., Carazo, A., Casas, F. and Cabello, G. (2008) '[Triiodothyronine mitochondrial receptors: import and molecular mechanisms]', *J Soc Biol*, 202(2), pp. 83-92.
- Wrutniak-Cabello, C., Casas, F. and Cabello, G. (2001) 'Thyroid hormone action in mitochondria', *J Mol Endocrinol*, 26(1), pp. 67-77.
- Wrutniak, C., Cassar-Malek, I., Marchal, S., Rasclé, A., Heusser, S., Keller, J. M., Fléhon, J., Dauç, M., Samarut, J. and Ghysdael, J. (1995) 'A 43-kDa protein related to c-Erb A alpha 1 is located in the mitochondrial matrix of rat liver', *J Biol Chem*, 270(27), pp. 16347-54.
- Wulf, A., Wetzel, M. G., Kebenko, M., Kröer, M., Harneit, A., Merz, J. and Weitzel, J. M. (2008) 'The role of thyroid hormone receptor DNA binding in negative thyroid hormone-mediated gene transcription', *J Mol Endocrinol*, 41(1), pp. 25-34.
- Wu, Z., Puigserver, P., Andersson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., Troy, A., Cinti, S., Lowell, B., Scarpulla, R. C. and Spiegelman, B. M. (1999) 'Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1', *Cell*, 98(1), pp. 115-24.
- Xie, Y., Li, X., Liu, L., Hu, Z., Huang, S., Zhan, Y., Zi, X., Xia, K., Tang, B. and Zhang, R. (2016) 'MFN2-related genetic and clinical features in a cohort of Chinese CMT2 patients', *J Peripher Nerv Syst*, 21(1), pp. 38-44.
- Xie, Y., Zhang, J., Lin, Y., Gaeta, X., Meng, X., Wisidagama, D. R., Cinkornpumin, J., Koehler, C. M., Malone, C. S., Teitell, M. A. and Lowry, W. E. (2014) 'Defining the role of oxygen tension in human neural progenitor fate', *Stem Cell Reports*, 3(5), pp. 743-57.
- Xing, Y. L., Röh, P. T., Stratton, J. A., Chuang, B. H., Danne, J., Ellis, S. L., Ng, S. W., Kilpatrick, T. J. and Merson, T. D. (2014) 'Adult neural precursor cells from the subventricular zone contribute

- significantly to oligodendrocyte regeneration and remyelination', *J Neurosci*, 34(42), pp. 14128-46.
- Xu, J., Thompson, K. L., Shephard, L. B., Hudson, L. G. and Gill, G. N. (1993) 'T3 receptor suppression of Sp1-dependent transcription from the epidermal growth factor receptor promoter via overlapping DNA-binding sites', *J Biol Chem*, 268(21), pp. 16065-73.
- Yamano, K. and Youle, R. J. (2011) 'Coupling mitochondrial and cell division', *Nat Cell Biol*, 13(9), pp. 1026-7.
- Yehuda-Shnaidman, E., Kalderon, B. and Bar-Tana, J. (2014) 'Thyroid hormone, thyromimetics, and metabolic efficiency', *Endocr Rev*, 35(1), pp. 35-58.
- Yen, P. M. (2001) 'Physiological and molecular basis of thyroid hormone action', *Physiol Rev*, 81(3), pp. 1097-142.
- Yen, P. M., Darling, D. S., Carter, R. L., Forgione, M., Umeda, P. K. and Chin, W. W. (1992) 'Triiodothyronine (T3) decreases binding to DNA by T3-receptor homodimers but not receptor-auxiliary protein heterodimers', *J Biol Chem*, 267(6), pp. 3565-8.
- Yeung, F., Hoberg, J. E., Ramsey, C. S., Keller, M. D., Jones, D. R., Frye, R. A. and Mayo, M. W. (2004) 'Modulation of NF-kappaB-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase', *EMBO J*, 23(12), pp. 2369-80.
- Yeung, S. T., Myczek, K., Kang, A. P., Chabrier, M. A., Baglietto-Vargas, D. and Laferla, F. M. (2014) 'Impact of hippocampal neuronal ablation on neurogenesis and cognition in the aged brain', *Neuroscience*, 259, pp. 214-22.
- Yoo, H., Stephanopoulos, G. and Kelleher, J. K. (2004) 'Quantifying carbon sources for de novo lipogenesis in wild-type and IRS-1 knockout brown adipocytes', *J Lipid Res*, 45(7), pp. 1324-32.
- Yoon, D. S., Choi, Y., Jang, Y., Lee, M., Choi, W. J., Kim, S. H. and Lee, J. W. (2014) 'SIRT1 directly regulates SOX2 to maintain self-renewal and multipotency in bone marrow-derived mesenchymal stem cells', *Stem Cells*, 32(12), pp. 3219-31.
- Yoshida, M., Muneyuki, E. and Hisabori, T. (2001) 'ATP synthase--a marvellous rotary engine of the cell', *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2(9), pp. 669-77.
- Yoshii, S. R. and Mizushima, N. (2015) 'Autophagy machinery in the context of mammalian mitophagy', *Biochim Biophys Acta*, 1853(10 Pt B), pp. 2797-801.
- Youle, R. J. and van der Bliek, A. M. (2012) 'Mitochondrial fission, fusion, and stress', *Science*, 337(6098), pp. 1062-5.
- Yuan, C., Nguyen, P., Baxter, J. D. and Webb, P. (2013) 'Distinct ligand-dependent and independent modes of thyroid hormone receptor (TR)/PGC-1 α interaction', *J Steroid Biochem Mol Biol*, 133, pp. 58-65.

- Yu, J. M., Kim, J. H., Song, G. S. and Jung, J. S. (2006a) 'Increase in proliferation and differentiation of neural progenitor cells isolated from postnatal and adult mice brain by Wnt-3a and Wnt-5a', *Mol Cell Biochem*, 288(1-2), pp. 17-28.
- Yu, T., Robotham, J. L. and Yoon, Y. (2006b) 'Increased production of reactive oxygen species in hyperglycemic conditions requires dynamic change of mitochondrial morphology', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(8), pp. 2653-8.
- Zanna, C., Ghelli, A., Porcelli, A. M., Karbowski, M., Youle, R. J., Schimpf, S., Wissinger, B., Pinti, M., Cossarizza, A., Vidoni, S., Valentino, M. L., Rugolo, M. and Carelli, V. (2008) 'OPA1 mutations associated with dominant optic atrophy impair oxidative phosphorylation and mitochondrial fusion', *Brain*, 131(Pt 2), pp. 352-67.
- Zechel, C., Shen, X. Q., Chambon, P. and Gronemeyer, H. (1994) 'Dimerization interfaces formed between the DNA binding domains determine the cooperative binding of RXR/RAR and RXR/TR heterodimers to DR5 and DR4 elements', *EMBO J*, 13(6), pp. 1414-24.
- Zechner, D., Fujita, Y., Hüsken, J., Müller, T., Walther, I., Taketo, M. M., Crenshaw, E. B., Birchmeier, W. and Birchmeier, C. (2003) 'beta-Catenin signals regulate cell growth and the balance between progenitor cell expansion and differentiation in the nervous system', *Dev Biol*, 258(2), pp. 406-18.
- Zeeshan, H. M., Lee, G. H., Kim, H. R. and Chae, H. J. (2016) 'Endoplasmic Reticulum Stress and Associated ROS', *Int J Mol Sci*, 17(3), pp. 327.
- Zemirli, N., Pourcelot, M., Ambroise, G., Hatchi, E., Vazquez, A. and Arnoult, D. (2014) 'Mitochondrial hyperfusion promotes NF- κ activation via the mitochondrial E3 ligase MULAN', *FEBS J*, 281(14), pp. 3095-112.
- Zhang, X. K., Hoffmann, B., Tran, P. B., Graupner, G. and Pfahl, M. (1992) 'Retinoid X receptor is an auxiliary protein for thyroid hormone and retinoic acid receptors', *Nature*, 355(6359), pp. 441-6.
- Zhang, Y., Chen, K., Sloan, S. A., Bennett, M. L., Scholze, A. R., O'Keefe, S., Phatnani, H. P., Guarnieri, P., Caneda, C., Ruderisch, N., Deng, S., Liddelow, S. A., Zhang, C., Daneman, R., Maniatis, T., Barres, B. A. and Wu, J. Q. (2014) 'An RNA-sequencing transcriptome and splicing database of glia, neurons, and vascular cells of the cerebral cortex', *J Neurosci*, 34(36), pp. 11929-47.
- Zheng, B., Liao, Z., Locascio, J. J., Lesniak, K. A., Roderick, S. S., Watt, M. L., Eklund, A. C., Zhang-James, Y., Kim, P. D., Hauser, M. A., Grüblatt, E., Moran, L. B., Mandel, S. A., Riederer, P., Miller, R. M., Federoff, H. J., Wülner, U., Papapetropoulos, S., Youdim, M. B., Cantuti-Castelvetri, I., Young, A. B., Vance, J. M., Davis, R. L., Hedreen, J. C., Adler, C. H., Beach, T. G., Graeber, M. B., Middleton, F. A., Rochet, J. C., Scherzer, C. R. and Consortium, G. P. G. E. (2010) 'PGC-1 α a potential therapeutic target for early intervention in Parkinson's disease', *Sci Transl Med*, 2(52), pp. 52ra73.

- Zheng, J., Zhang, P., Li, X., Lei, S., Li, W., He, X., Zhang, J., Wang, N., Qi, C., Chen, X., Lu, H. and Liu, Y. (2013) 'Post-stroke estradiol treatment enhances neurogenesis in the subventricular zone of rats after permanent focal cerebral ischemia', *Neuroscience*, 231, pp. 82-90.
- Zheng, X., Boyer, L., Jin, M., Mertens, J., Kim, Y., Ma, L., Hamm, M., Gage, F. H. and Hunter, T. (2016) 'Metabolic reprogramming during neuronal differentiation from aerobic glycolysis to neuronal oxidative phosphorylation', *Elife*, 5.
- Zhou, Q., Wang, S. and Anderson, D. J. (2000) 'Identification of a novel family of oligodendrocyte lineage-specific basic helix-loop-helix transcription factors', *Neuron*, 25(2), pp. 331-43.
- Zhu, X., Bergles, D. E. and Nishiyama, A. (2008) 'NG2 cells generate both oligodendrocytes and gray matter astrocytes', *Development*, 135(1), pp. 145-57.
- Zickermann, V., Wirth, C., Nasiri, H., Siegmund, K., Schwalbe, H., Hunte, C. and Brandt, U. (2015) 'Structural biology. Mechanistic insight from the crystal structure of mitochondrial complex I', *Science*, 347(6217), pp. 44-9.
- Zick, M., Duvezin-Caubet, S., Schäer, A., Vogel, F., Neupert, W. and Reichert, A. S. (2009) 'Distinct roles of the two isoforms of the dynamin-like GTPase Mgm1 in mitochondrial fusion', *FEBS Lett*, 583(13), pp. 2237-43.
- Ziegler, A. N., Schneider, J. S., Qin, M., Tyler, W. A., Pintar, J. E., Fraidenraich, D., Wood, T. L. and Levison, S. W. (2012) 'IGF-II promotes stemness of neural restricted precursors', *Stem Cells*, 30(6), pp. 1265-76.
- Zimmermann, M. B., Jooste, P. L. and Pandav, C. S. (2008) 'Iodine-deficiency disorders', *Lancet*, 372(9645), pp. 1251-62.
- Zimprich, A., Biskup, S., Leitner, P., Lichtner, P., Farrer, M., Lincoln, S., Kachergus, J., Hulihan, M., Uitti, R. J., Calne, D. B., Stoessl, A. J., Pfeiffer, R. F., Patenge, N., Carbajal, I. C., Vieregge, P., Asmus, F., Müller-Mylshok, B., Dickson, D. W., Meitinger, T., Strom, T. M., Wszolek, Z. K. and Gasser, T. (2004) 'Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology', *Neuron*, 44(4), pp. 601-7.
- Zorzano, A., Liesa, M., Sebastián, D., Segalé, J. and Palací, M. (2010) 'Mitochondrial fusion proteins: dual regulators of morphology and metabolism', *Semin Cell Dev Biol*, 21(6), pp. 566-74.
- Züchner, S., Mersiyanova, I. V., Muglia, M., Bissar-Tadmouri, N., Rochelle, J., Dadali, E. L., Zappia, M., Nelis, E., Patitucci, A., Senderek, J., Parman, Y., Evgrafov, O., Jonghe, P. D., Takahashi, Y., Tsuji, S., Pericak-Vance, M. A., Quattrone, A., Battaloglu, E., Polyakov, A. V., Timmerman, V., Schröer, J. M., Vance, J. M. and Battaloglu, E. (2004) 'Mutations in the mitochondrial GTPase mitofusin 2 cause Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A', *Nat Genet*, 36(5), pp. 449-51.
- Zunino, R., Braschi, E., Xu, L. and McBride, H. M. (2009) 'Translocation of SenP5 from the nucleoli to the mitochondria modulates DRP1-dependent fission during mitosis', *J Biol Chem*, 284(26), pp. 17783-95.

Zupanc, G. K., Hinsch, K. and Gage, F. H. (2005) 'Proliferation, migration, neuronal differentiation, and long-term survival of new cells in the adult zebrafish brain', *J Comp Neurol*, 488(3), pp. 290-319.