



**HAL**  
open science

**Étude électrophysiologique et bi-photonique des modifications du traitement des signaux de communication dans le cortex auditif chez des souris mères n’exprimant pas de canaux endolysosomaux “ two-pore channels ” (TPC)**

Juliette Royer

► **To cite this version:**

Juliette Royer. Étude électrophysiologique et bi-photonique des modifications du traitement des signaux de communication dans le cortex auditif chez des souris mères n’exprimant pas de canaux endolysosomaux “ two-pore channels ” (TPC). *Physiologie [q-bio.TO]*. Université Paris-Saclay, 2021. Français. NNT : 2021UPASL065 . tel-03767528

**HAL Id: tel-03767528**

**<https://theses.hal.science/tel-03767528v1>**

Submitted on 2 Sep 2022

**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.

Étude électrophysiologique et bi-photonique des  
modifications du traitement des signaux de  
communication dans le cortex auditif chez des souris  
mères n'exprimant pas de canaux endolysosomaux «  
two-pore channels » (TPC)

*Electrophysiological and bi-photonic study of modifications in the  
communication sounds processing in the auditory cortex in mother mice lack  
micelacking endolysosomal two-pore channel (TPC)*

**Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay**

École doctorale n° 568 : Signalisations et Réseaux Intégratifs en Biologie (BIOSIGNE)  
Spécialité de doctorat : Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie  
Unité de recherche : Institut des Neurosciences Paris-Saclay (NeuroPSI)  
Référent : Faculté des sciences d'Orsay

**Thèse présentée et soutenue à Paris-Saclay,  
le 04/10/2021, par**

**Juliette ROYER**

**Composition du Jury**

**Micaela GALANTE**

Professeure, Institut des Neurosciences Paris-Saclay,  
Université Paris-Saclay

Présidente du Jury

**Thibault COLLIN**

Professeur, Saints-Pères Paris Institute for the Neurosciences,  
Université de Paris

Rapporteur & Examineur

**Bertrand LAMBOLEZ**

Directeur de recherche, Institut de Biologie Paris Seine,  
Université Pierre et Marie Curie

Rapporteur & Examineur

**Jean-François LEGER**

Directeur de recherche, Institut de Biologie de l'École  
Normale Supérieure, Ecole Normale Supérieure

Examineur

**Direction de la thèse**

**José-Manuel CANCELA**

Chargé de recherche, Institut des Neurosciences  
Paris-Saclay, Université Paris-Saclay

Directeur de thèse

**Jean-Marc EDELIN**

Directeur de recherche, Institut des Neurosciences  
Paris-Saclay, Université Paris-Saclay

Co-Directeur de thèse







## Remerciements :

Je remercie, en premier lieu l'ancien directeur de l'Institut, Philippe Vernier, ainsi que le nouveau directeur, François Rouyer, pour m'avoir accueillie afin de réaliser ma thèse au sein de ce laboratoire.

Je tiens également à remercier les membres du jury, Thibault Collin et Bertrand Lambolez en tant que rapporteurs, pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse. Et je remercie sincèrement Micaela Galante et Jean-François Léger, qui m'ont suivi depuis le début de ma thèse en tant que membres du comité de suivi et dont je souhaitais vraiment qu'ils fassent partie de mon jury de thèse.

Je remercie chaleureusement Brice Bathellier et toute son équipe de doctorants et post-doctorants qui ont fait partie de son équipe ces 4 dernières années. Je suis très reconnaissante du temps, de l'investissement et de l'aide consacrée à mon projet. Cette collaboration a été précieuse, autant scientifiquement et expérimentalement, qu'humainement.

Merci beaucoup José-Manuel Cancela d'avoir été mon directeur de thèse pendant ces quatre années, merci de m'avoir fait confiance et donné toute la liberté nécessaire pour réaliser l'ensemble de ce travail. Et un immense merci à Jean-Marc Edeline, pour ton implication dans le projet en tant que co-directeur de thèse. Merci pour tes conseils, ton aide, ton soutien et ta présence toutes ces années. Merci pour tout ce que tu m'as donné, qui m'a permis d'apprécier ce doctorat.

Un grand merci à mes anciens collègues qui sont maintenant aux quatre coins du monde : Florian Ocelli qui m'a tout appris de l'électrophysiologie sur souris, ainsi que Victor Adenis et Samira Souffi avec qui j'ai eu des discussions passionnantes et partagé de très bons souvenirs au laboratoire et en dehors, surtout aux Congrès.

Je tiens à remercier particulièrement mes collègues de l'équipe : Chloé Huetz pour sa sympathie et sa bonne humeur. Merci aussi pour ton aide indispensable sur mes analyses. Et Elie Partouche pour ta gentillesse et ta bonne humeur sans faille malgré toutes les péripéties que tu as vécues. Je te souhaite le meilleur pour ta fin de thèse, tu as beaucoup de mérite.

Je remercie aussi tous les collègues du deuxième étage qui m'ont assurément vu beaucoup de fois (et de temps) à la machine à café toutes ces années, merci pour tous les bons moments passés ensembles. Un merci particulier à deux collègues du troisième étage : Coralie Alexandre, pour ton soutien à la fois au niveau du travail mais aussi pour avoir été une amie et partenaire indispensable de course à pied. Et Cyril Lhopitallier pour ses blagues et sa présence à mes côtés aux conseils d'Unité ou à l'organisation d'événements de l'Institut.

Un grand merci à Valérie Lavallée et les animalières pour m'avoir aidé dans la gestion de la reproduction et la maternité des souris en animalerie. Je remercie d'ailleurs toutes les personnes qui m'ont aidé au transport des souris à Orsay ou Gif : José-Manuel Cancela, Aurélie Daret, Valérie Lavallée, Sabine de La Porte, Elie Partouche, Sloane Polcan, qui ont été d'une gentillesse et d'une souplesse extrême.

Je remercie, bien-sûr, mes parents, qui ont été un soutien sans faille dès le début de mes études. Je remercie aussi ma sœur et ma marraine qui, avec mes parents, ont toujours été curieuses et intéressés par mon travail même s'il n'est pas simple parfois de le comprendre.

Et pour terminer, merci à tous mes amis proches : Laurie, qui a toujours été présente dans les bons comme les mauvais moments, Lauriane et Claire, qui m'ont rendu la vie plus belle avec leur bonne humeur et tous les bons souvenirs que l'on a partagé, Fanny et Caroline avec qui nous avons passé tellement d'épreuves ensemble (M2, concours de thèse, et thèses) et qui êtes toujours là pour moi, Audrey, Roxane, Yanis, Maxime, Maxence, et Mathieu : votre écoute, vos encouragements, et votre intérêt pour mon travail de thèse (et ses péripéties) ont été si importants.

# Juliette Royer

Doctorante à l'Institut des Neurosciences Paris-Saclay (NeuroPSI)  
Équipe Perception auditive & Code neural (J.M Edeline) Orsay, 91

---

## FORMATIONS

### Naissance :

18/07/1991

### Email :

juliette.royer@universite-  
paris-saclay.fr

### Adresse :

10 rue Marco Polo  
91300 Massy

### Téléphone :

06 10 75 46 24

### • Doctorat en Neurosciences

Université Paris Saclay (Orsay, 91)  
2017-Aujourd'hui

### • Master Signalisation Cellulaire et Neurosciences

Université Paris Saclay (Orsay, 91)  
2017

### • Licence Biologie Santé

Université Paris Descartes (Paris, 75)  
2015

---

## COMPÉTENCES

### Techniques

- Electrophysiologie  
Extracellulaire in vivo
- Imagerie Calcique in vivo
- Tests de comportement  
sur animaux

**Pack Office** (Word, Excel,  
PowerPoint)

**Analyse** (Matlab)

---

## LANGUES

### Français

Maternel

### Anglais

Bon/scientifique

## EXPÉRIENCES

### • Stage de M2 à l'Institut des Neurosciences Paris-Saclay (NeuroPSI) Équipe Perception auditive & Code neural (J.M Edeline) Orsay, 91

Janvier 2017 - Juillet 2017

Sujet : Effet de l'Ocytocine (OT) sur les réponses évoquées par des signaux de communication acoustique dans le cortex auditif de la souris. Analyse du cortex auditif de souris WT et déficientes en OT par électrophysiologie extracellulaire in vivo.

### • Stage à l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM) Équipe Cortex et épilepsie (Richard Miles) Paris, 75

Juillet-Août 2015 et Juillet-Août 2016

Evaluation du nombre, de la forme, et de l'état des microglies dans les différentes régions de l'hippocampe épileptique. Réalisation de tests d'immunofluorescence, analyse et reconstitution graphique de microglies, évaluation de marqueurs microgliaux.

### • Stage à l'Institut Jacques Monod Équipe Évolution des drosophiles (Virginie Orgogozo) Paris, 75

Janvier 2015 - Juin 2015

Evolution des pièces génitales chez *Drosophila pachea*. Réalisation de tests d'immunofluorescence, d'images en microscopies confocale et numérique, de micro-injections sur pupes, de tests PCR.

# Juliette Royer

---

## PUBLICATIONS

Royer J, Huetz C, Occelli F, Cancela JM, Edeline JM. **Enhanced Discriminative Abilities of Auditory Cortex Neurons for Pup Calls Despite Reduced Evoked Responses in C57BL/6 Mother Mice.** *Neuroscience*. 2021 Jan 15;453:1-16.

Morin-Brureau M, Milior G, Royer J, et al. **Microglial phenotypes in the human epileptic temporal lobe.** *Brain*. 2018 Dec 1;141(12):3343-3360.

---

## POSTERS

2020 **Cortical deficit in processing communication sounds in mutant mice lacking of two-pore channels: An electrophysiological and calcium imaging study.** *Juliette Royer, Florian Occelli, Chloé Huetz, Jean-Marc Edeline, Brice Bathellier, José-Manuel Cancela* - 12th FENS (Virtual) Forum of Neuroscience, Glasgow, UK.

2019 **Are auditory cortex neurons better in discriminating communication sounds in mother vs. in virgin mice ? An electrophysiological study in C57BL/6 mice.** *Juliette Royer, Florian Occelli, Chloé Huetz, Jean-Marc Edeline, José-Manuel Cancela* - 42th Midwinter Meeting of the Association for Research in Otolaryngology, Baltimore, USA.

2018 **Responses of auditory cortex neurons in mutant mice lacking of the two-pore channels: is there a deficit in processing communication sounds?** *Juliette Royer, Florian Occelli, Chloé Huetz, Jose-Manuel Cancela, Jean-Marc Edeline* - 41th Midwinter Meeting of the Association for Research in Otolaryngology, San Diego, USA.

---

## CENTRES D'INTERETS

- **Théâtre** : Cours amateurs et représentations de 2019 à 2021.
- **Organisation des NeuroPSI Talents Day** : Présentation du travail des étudiants et post-docs de l'Institut & Conférences en 2019.
- **Bureau des Étudiants à l'UFR Biomédicale (Paris Descartes)** : membre active depuis 2011. Vice-présidente en 2012-2013.
- **Volley-Ball** : pratique au COM d'Argenteuil, et participation aux compétitions interdépartementales de 2006 à 2009.

# Table des matières

<b>Organisation générale du mémoire de Thèse</b> .....	1
<b>Abréviations</b> .....	3
<b>Introduction</b> .....	5
<b>I. Description du système auditif</b> .....	7
a. Le système auditif périphérique.....	7
b. Les relais sous-corticaux .....	9
<b>II. Le cortex auditif de la souris</b> .....	11
a. Caractérisation du cortex auditif par électrophysiologie de Stiebler et al. (1997).....	12
b. Différentes couches du cortex auditif.....	17
c. Quelques propriétés fonctionnelles des neurones du cortex auditif .....	18
d. Réponses aux signaux de communication acoustiques .....	20
e. Au-delà du cortex auditif primaire.....	27
<b>III. Modulation de l'activité du cortex auditif primaire</b> .....	27
a. Noradrénaline (système noradrénergique).....	30
b. Acétylcholine (système cholinergique) .....	31
c. Dopamine (système dopaminergique) .....	33
d. Sérotonine (système de sérotonine) .....	34
<b>IV. L'Ocytocine (OT)</b> .....	35
a. Rôle périphérique .....	36
b. Rôle central.....	37
c. OT et comportement maternel chez le rongeur .....	40
d. Mécanisme d'action de l'OT.....	42
<b>V. Dérèglement de la signalisation calcique intracellulaire induisant des défauts de libération d'OT ou des problèmes de comportements sociaux : Exemple de la souris KO CD38 et KO TPC</b> .....	44
a. Lien entre la protéine CD38 et la sécrétion d'OT .....	44
b. Les canaux de type Two-Pore Channel (TPC) .....	47
c. Etudes de l'équipe démarrées avant mon stage de Master 2 .....	51
<b>VI. Objectif de ma thèse</b> .....	52

<b>Résultats</b> .....	55
Article 1 .....	59
Article 2 .....	91
Article 3 .....	107
<b>Discussion générale</b> .....	133
<b>I. Synthèse des résultats</b> .....	135
a. Chez les souris vierges KO TPC (par rapport aux vierges WT).....	135
b. Chez les souris mères WT (par rapport aux vierges WT).....	135
c. Chez les souris mères KO TPC (par rapport aux mères WT).....	136
d. L'administration d'OT chez les souris mères KO TPC .....	136
<b>II. Quels paramètres utiliser pour déterminer et connaître la capacité des neurones corticaux à traiter des sons de communication acoustiques ?</b> .....	137
a. La reproductibilité temporelle des réponses (CorrCoef) .....	137
b. L'information mutuelle (MI).....	139
c. Pourquoi nous avons décidé de travailler sur la MI/Spike plutôt que la MI <sub>ind</sub> ?.....	141
d. Calcul du score de discrimination en imagerie calcique .....	142
<b>III. Quels liens peut-on faire entre les résultats comportementaux observés et les résultats enregistrés dans le cortex auditif en électrophysiologie ?</b> .....	142
<b>IV. Que nous apportent ces résultats sur le rôle du canal TPC dans le traitement des signaux de communication ?</b> .....	145
<b>IV. La souris TPC peut-elle être un nouveau modèle d'autisme ?</b> .....	147
<b>Références bibliographiques</b> .....	149

# Organisation générale du mémoire de Thèse

Dans l'introduction, je commencerai par décrire le système auditif depuis le système auditif périphérique et les relais sous-corticaux, pour terminer avec le cortex auditif. Je détaillerai ensuite le cortex auditif, la structure principale étudiée dans ma thèse, en décrivant les différentes aires, les couches du cortex auditif ainsi que les propriétés fonctionnelles des neurones de cette structure. J'aborderai ensuite les réponses aux signaux de communication acoustique au niveau du cortex auditif et au-delà (dans des aires préfrontales). En troisième partie d'introduction, j'évoquerai l'action des neuromodulateurs dans le cortex auditif en décrivant les systèmes et les actions de quatre principaux neuromodulateurs : a. La noradrénaline ; b. L'acétylcholine ; c. La dopamine ; d. la sérotonine. Je parlerai ensuite d'une neurohormone qui nous intéresse particulièrement dans cette thèse, l'Ocytocine et ses rôles au niveau central, périphérique, ainsi que ses mécanismes d'action notamment dans le comportement maternel. Enfin j'aborderai deux situations où des défauts de libération d'OT ou des problèmes de comportements sociaux ont été observés à la suite d'un dérèglement de la signalisation calcique intracellulaire : Je commencerai par décrire le lien entre la protéine CD38 et la sécrétion d'OT puis je finirai cette partie sur les connaissances actuelles du canal endolysosomal « Two-Pore Channel » (TPC) et les études réalisées par mon équipe avant mon stage de Master 2.

Les résultats de ma thèse sont divisés en trois parties, chacune étant présentée sous forme d'article :

- Le premier article compare les réponses du cortex auditif primaire à des sons purs et à des signaux de communication entre des souris vierges WT et des souris vierges KO TPC pour établir des différences potentiellement déjà existantes chez les souris vierges, avant d'étudier les souris mères. Dans cette étude, j'ai utilisé deux techniques pour étudier les réponses des neurones du cortex auditif : l'électrophysiologie extracellulaire sur souris anesthésiée et l'imagerie calcique sur souris vigile.
- Le deuxième article, publié en 2021 (Royer et al., Neuroscience 2021), étudie les réponses corticales à des sons purs et à des signaux de communication entre des souris vierges WT et mères WT en électrophysiologie pour déterminer les changements qui s'opèrent lors du passage vierge à mère. Cette étude sert de socle pour décrire les modifications corticales liées à la maternité chez la souris WT (de fond génétique C57BL/6) qui a été définie pendant ma thèse comme la situation contrôle.
- Le troisième article, écrit en français, compare dans un premier temps les différences de réponses corticales aux signaux de communication observées en électrophysiologie chez les souris WT lors du passage vierge à mères avec celles observées lors de ce passage vierge-mère des souris KO TPC. Dans un deuxième temps, cette étude évalue les réponses

comportementales et corticales de mères KO TPC qui ont reçu de l'OT ou du sérum physiologique par injection intranasale, ce de façon chronique (durant 9-10 jours post-partum).

Dans la discussion générale, après une synthèse des résultats majeurs détaillés dans les 3 articles (a. Différences entre les souris vierges WT et KO TPC ; b. Différence entre les souris WT vierges et mère ; c. Différences entre les souris WT et KO TPC lors du passage vierge à mère ; d. L'administration d'OT chez les souris mères KO TPC), j'aborderai successivement la question des paramètres quantifiés pour analyser au mieux la capacité des neurones corticaux à traiter des signaux de communication acoustiques, puis je tenterai de proposer des liens possibles entre les résultats comportementaux observés et les résultats enregistrés dans le cortex auditif en électrophysiologie. Je discuterai ensuite de ce que mes résultats permettent de conclure sur le rôle du canal TPC dans le traitement cortical des signaux de communication, et enfin, j'évaluerai dans quelle mesure la souris KO TPC pourrait être un nouveau modèle murin des TSA dans la recherche translationnelle.

## Abréviations :

5-HT : Sérotonine  
AAF : Aire auditive antérieure  
ABR : *Auditory Brainstem Responses*  
Ach : Acetylcholine  
Acx : Cortex auditif  
AI : Cortex auditif primaire  
All : Cortex auditif secondaire  
AM : Modulation d'Amplitude  
AON : Noyau Antérieur Olfactif  
ATV : Aire Tegmentale Ventrale  
AVP : Vasopressine  
BF : Fréquence préférée  
CA1-CA2-CA3 : Cornes d'Ammon 1, 2 et 3  
Ca<sup>2+</sup> : Calcium  
cADPR : ADP-ribose cyclique  
CCE : Cellules Ciliées Externes  
CCI : Cellules Ciliées Internes  
CGM : Corps Genouillé Médian  
CI : Colliculus Inférieur  
CorrCoef : Coefficient de reproductibilité temporelle  
COS : Complexe Olivaire Supérieur  
DA : Dopamine  
dB SPL : Decibel (*Sound Pressure Level*)  
DOPAC : acide 3,4-dihydroxyphénylacétique  
EPSC : Courants postsynaptiques excitateurs  
FM : Modulation de Fréquence  
HVA : Acide homovanillique  
InsP<sub>3</sub> : Inositol-1,4,5-trisphosphate  
InsP<sub>3</sub>R : Récepteurs des InsP<sub>3</sub>  
IPSC : Courants postsynaptiques inhibiteurs  
IRMf : Imagerie à Résonance Magnétique fonctionnelle  
kHz : kilohertz  
KO : *Knock-Out*  
LC : Locus Coeruleus  
LCR : Liquide Céphalo-Rachidien  
LDCV : Grandes vésicules à cœurs denses  
LTP : *Long Terme Potentiation*

MGd/MGv : Corps Genouillé dorsal ou ventral  
mGluR1 : Récepteur métabotrope au Glutamate  
MI : Information Mutuelle  
mPCF : Cortex Prefrontal median  
ms : milliseconde  
NA : Noradrénaline  
NAADP : Acide nicotinique adénine di-nucléotide phosphate  
NAD+ : Nicotinamide adénine dinucléotide  
NADP : Nicotinamide adénine dinucleotide Phosphate  
NBM : Noyau Magnocellulaire Basal  
NC : Noyaux Cochléaires  
NE : Norépinephrine  
OT : Ocytocine  
OTR : Récepteur de l'OT  
PA : Potentiel d'Action  
PI(3,5)P2  
PCF : Cortex préfrontal  
PPN : Phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate  
PSTH : Histogramme temporel post-stimulus  
PVN : Noyau paraventriculaire  
RE : Réticulum Endoplasmique  
RS : Réticulum Sarcoplasmique  
RyR : Canaux de type Ryanodine  
SD : Écart type  
SNC : Système Nerveux Central  
SNR : Rapport signal sur bruit  
SON : Noyau supraoptique  
TGOT : Antagoniste de du récepteur de l'OT  
TPC : *Two-Pore Channel*  
TSA : Troubles du Spectre Autistique  
UF : Aire Ultrasonique  
USV : Vocalisations ultrasoniques  
WT : *Wild type*  
YFP : *Yellow Fluorescent Protein*

## **Introduction**



## I. Description du système auditif

### a. Le système auditif périphérique

Lorsqu'elle atteint l'oreille, l'onde sonore passe ensuite par le conduit auditif et va faire vibrer la membrane tympanique reliée aux trois osselets (marteau, enclume et étrier). Le signal acoustique se transforme alors en signal mécanique. L'étrier, qui est en contact avec la fenêtre ovale de l'oreille interne, va transmettre la vibration mécanique à la périlymphe qui remplit la cochlée (Figure 1A).

La cochlée est la structure auditive qui permet la transduction auditive, c'est-à-dire la transformation des ondes mécaniques en des signaux électriques. Reliée au vestibule, la cochlée est reconnaissable par sa forme en colimaçon. Elle est constituée de trois canalicules, enroulés en spirale autour d'un axe osseux : la rampe tympanique et la rampe vestibulaire (contenant la périlymphe et communiquant par l'hélicotrème), et le canal cochléaire (contenant l'endolymphe) situé entre les deux rampes (Figure 1B).

Entre le canal cochléaire et la rampe tympanique se situe l'organe de Corti (Figure 1C). Il repose sur la membrane basilaire et est formé de cellules sensorielles (les cellules ciliées de Corti) et de cellules de soutien. La membrane basilaire est flexible et est cinq fois plus large et moins rigide à son apex qu'à sa base. Ce sont ces caractéristiques biomécaniques qui vont déterminer les fréquences préférées qui font rentrer en résonance la membrane basilaire le long de la cochlée, et qui sont à l'origine de la tonotopie cochléaire. Cette propriété sera préservée à chaque étage du système auditif, depuis la cochlée jusqu'au cortex auditif. Lorsqu'une onde sonore arrive dans le canal cochléaire, elle provoque une vibration de la membrane basilaire et se propage dans l'endolymphe de la base vers l'apex de la membrane. En un point précis, la membrane basilaire entre en résonance à la fréquence du son : Si la fréquence du son est élevée, le point de résonance se situe à la base de la membrane basilaire, si la fréquence est basse, ce point se situe à l'apex.

Les cellules ciliées (ou cellules de Corti) sont insérées entre la membrane basilaire et la lame réticulaire. Elles possèdent des stéréocils (de 30 à quelques centaines) à leur surface apicale qui sont en contact avec la membrane tectoriale. Il existe deux catégories de cellules ciliées :

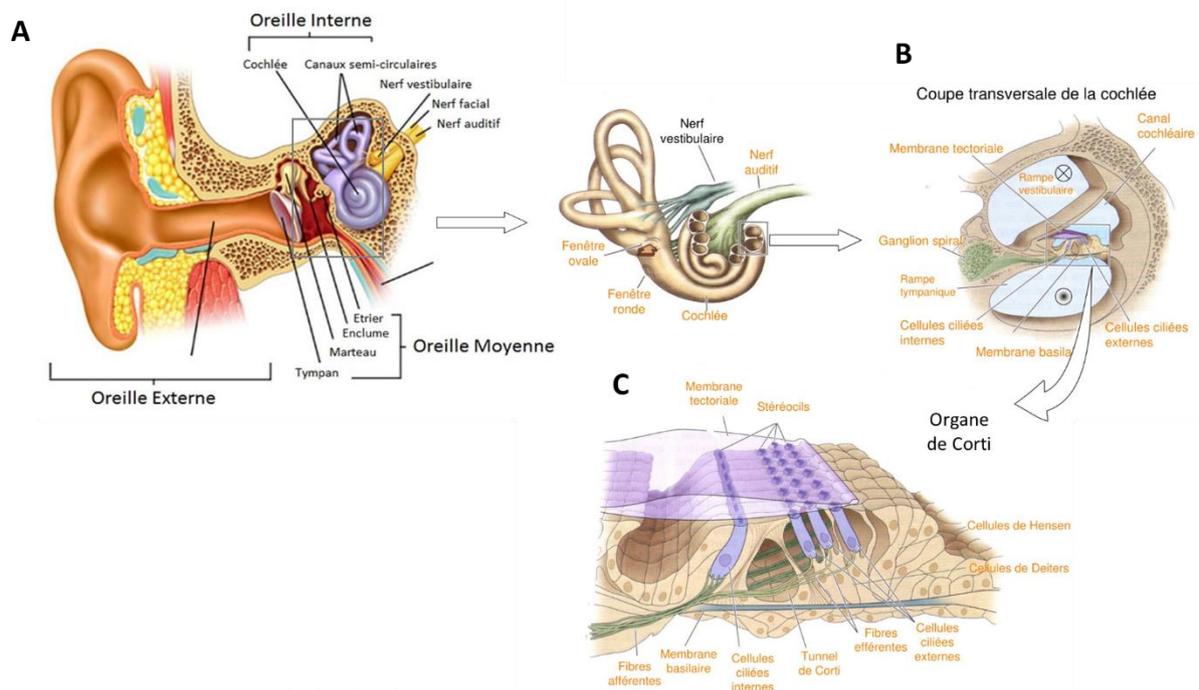
- Les cellules ciliées internes (CCI), avec un corps cellulaire en forme de poire et trois rangées de stéréocils (rangés par ordre de taille) à leur extrémité apicale. Disposées en une seule rangée du côté interne du tunnel de Corti, elles constituent les cellules réceptrices sensorielles et sont donc connectées aux neurones du nerf auditif (neurones de type I qui codent pour les fréquences sonores). Ce sont elles qui assurent la transduction du signal auditif.

- Les cellules ciliées externes (CCE), avec un corps cellulaire de forme cylindrique et des stéréocils arrangés en W. Plus nombreuses que les CCI, elles sont disposées en 3 à 5 rangées du côté externe du tunnel de Corti, et ne semblent transmettre que très peu d'information sur le codage du stimulus sonore aux structures centrales. Elles ont plutôt un rôle moteur : par un mécanisme actif de transduction inverse elles amplifient les déplacements de la

membrane basilaire lors de faibles oscillations au point qu'on parle parfois de l'amplificateur cochléaire pour désigner leur rôle.

Les cellules ciliées reçoivent aussi des projections des voies olivo-cochléaires : médiane pour les CCE, latérale pour les CCI. En réalité, ces fibres efférentes (ou projections descendantes) contactent principalement les CCE (en se terminant sur le soma des CCE) et seulement à 5% les CCI (en se terminant sur les terminaisons afférentes). Il est donc vraisemblable que ces terminaisons efférentes contrôlent principalement le niveau de polarisation des CCE, alors qu'elles ne pourraient contrôler que faiblement le niveau de polarisation des terminaisons des fibres afférentes.

Sur leurs membranes plasmiques, les stéréocils possèdent des canaux potassiques, mécanosensibles. Lorsque l'onde sonore fait vibrer la périlymphe, celle-ci fait bouger la membrane basilaire de haut en bas, ce qui provoque l'inclinaison des stéréocils des cellules ciliées. C'est ce déplacement des stéréocils qui va ouvrir les canaux potassiques et faire rentrer du potassium dans la cellule. Cette entrée massive de potassium (qui provoque normalement une hyperpolarisation dans un neurone) va dépolariser la cellule ciliée et provoquer l'entrée de calcium. Cette dépolarisation provoque une libération de glutamate, qui va stimuler les fibres afférentes du nerf auditif.



**Figure 1 : Le système auditif périphérique**

**A :** L'oreille divisée en trois parties : l'oreille externe, l'oreille moyenne composée des trois osselets et du tympan, et l'oreille interne composée du vestibule, de la cochlée et des nerfs facial et auditif.

**B :** La coupe transversale de la cochlée constituée de trois canicules séparées par la rampe tympanique et la rampe vestibulaire, avec au centre le canal cochléaire qui contient l'organe de Corti.

**C :** L'organe de Corti avec la membrane basilaire à la base et la membrane tectoriale à l'apex. Entre les deux membranes se situent les cellules ciliées internes et externes.

Images de « Neurosciences à la découverte du cerveau » par Bear M., Connors B., Paradiso M.

## b. Les relais sous-corticaux

Les voies auditives ont une organisation complexe. Transmettant l'information auditive à partir de la cochlée, elles sont constituées par les neurones de différentes structures sous-corticales avant d'atteindre le cortex auditif. Il existe des voies auditives ascendantes (de la cochlée vers le cortex auditif) et des voies descendantes (du cortex au thalamus auditif et au colliculus inférieur mais aussi du tronc cérébral auditif vers la cochlée). Nous nous intéresserons uniquement à la voie auditive principale ascendante. Elle se divise en cinq relais avant d'arriver au cortex auditif : les noyaux cochléaires, le complexe olivaire supérieur (situés dans le tronc cérébral), le lemnisque latéral, le colliculus inférieur (situés dans le mésencéphale), et le corps genouillé médian du thalamus (situé dans le diencephale). Tous ces relais sont organisés, au moins partiellement, de manière tonotopique jusqu'au cortex auditif primaire (Figure 2).

Les neurones auditifs (de type I) qui partent de la cochlée, dont le corps cellulaire est situé au niveau du ganglion spiral (et dont les axones constituent le nerf auditif) vont innervier les Noyaux Cochléaires (NC). Ce premier relais est divisé en deux parties, le noyau cochléaire ventral (NCV) et le noyau cochléaire dorsal (NCD). Le NCV est lui-même divisé en deux noyaux : le noyau cochléaire antéroventral (NCAV) et le noyau cochléaire postéroventral (NCPV). Les neurones de chaque noyau sont disposés selon un axe tonotopique (plan d'isofréquence) et présentent une grande diversité dans leur mode de décharge, leur morphologie et leurs types de champs récepteurs. Après ce premier relais, la projection des neurones à chaque structure est bilatérale, avec cependant une dominance contralatérale.

L'ensemble des neurones du NC projettent vers le Complexe Olivaire Supérieur (COS). Ce deuxième relais est lui aussi divisé en trois noyaux principaux : le noyau olivaire supérieur latéral (OSL), le noyau olivaire supérieur médian (OSM) et le noyau médian du corps trapézoïde (NMCT). Une partie des axones du NC vont projeter vers le complexe olivaire médian ipsilatéral, et une autre partie va projeter vers le complexe olivaire médian contralatéral, soit directement soit indirectement via un relais par les neurones inhibiteurs du corps trapézoïde. Ce sont les interactions entre les complexes ipsi- et contralatéraux qui fournissent les indices binauraux nécessaires à la localisation des sources sonores.

Les neurones du tronc cérébral (des deux NC et du COS) vont arriver au niveau du mésencéphale, soit en passant par le noyau du lemnisque latéral, soit en contactant directement les neurones du colliculus inférieur. Le lemnisque Latéral (LL) est constitué d'un noyau dorsal (DLL), d'un noyau ventral (VLL), tous les deux tonotopiques, séparés par un noyau intermédiaire (ILL). Le DLL reçoit des projections du COS tandis que le VLL reçoit les projections du NC et du corps trapézoïde (NMCT, voir Bajo et al., 1998, 1999 ; Malmierca et al., 1998).

Toutes les voies auditives afférentes convergent ensuite vers le quatrième relais auditif : le colliculus inférieur (CI) qui est considéré comme un « hub » obligatoire du système auditif

(Malmierca, 2003 ; Malmierca et Ruygo, 2011). Il est divisé en trois régions : le noyau central, le cortex dorsal et le cortex latéral (ces deux derniers étant regroupés sous le terme de noyau externe). Le noyau externe est organisé en couches de neurones, sans distribution tonotopique précise, et il reçoit des projections corticales issues du cortex auditif ipsi- et controlatéral (Malmierca, 2004). Le noyau central est, lui, organisé de façon tonotopique. Il reçoit principalement les projections du COS et du LL et semble donc jouer un rôle essentiel dans la localisation du son (différences interaurales), le codage des fréquences et de l'intensité sonore.

Le dernier relai, situé dans le diencephale, est le corps genouillé médian (CGM) ou thalamus auditif. Comme en vision et somesthésie, c'est la structure cérébrale qui centralise les entrées vers le cortex sensoriel. Elle comprend trois zones principales (Edeline, 2011):

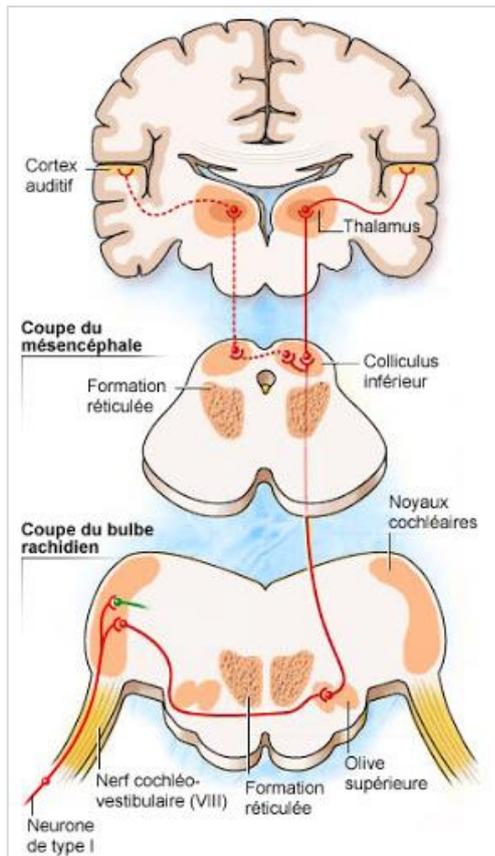
- La partie ventrale (ou lemniscale) qui est purement auditive. C'est dans cette zone que projettent les fibres venant du noyau central du colliculus inférieur et que les neurones sont disposés de façon tonotopique : les basses fréquences dans les couches superficielles (ventrale), les hautes fréquences dans les couches profondes (dorsale). Cette partie projette principalement vers la couche IV du cortex auditif primaire (AI) et, chez certaines espèces, le bas de la couche III.

- La partie médiane, magnocellulaire (ainsi dénommée du fait de la taille de soma des neurones). Elle reçoit des afférences du colliculus inférieur, mais aussi d'autres systèmes sensoriels et projette essentiellement dans les couches superficielles de toutes les aires auditives corticales (Linke & Schwegler, 2000 ; Steriade et al., 2007).

- La partie dorsale, qui n'a pas de structure laminaire ni d'organisation tonotopique. Ses neurones ont des projections vers les aires auditives secondaires.

Les deux parties médiane et dorsale du CGM, appelées aussi « non-lemniscales », reçoivent des fibres du cortex dorsal et externe du CI. Ce sont des zones de convergence multisensorielle qui intègrent des informations d'autres modalités sensorielles (somatosensoriel, visuel, vestibulaire). Ces neurones pourraient donc jouer un rôle dans l'intégration sensorielle multimodale. Du fait de leurs projections anatomiques vers des structures limbiques comme l'amygdale latérale (Doron & Ledoux, 1999, 2000) ces parties non-lemniscales feraient parties du circuit neuronal impliqué dans les réponses émotionnelles conditionnées à des stimuli auditifs lors des apprentissages aversifs.

Au niveau des voies efférentes atteignant le thalamus auditif, le cortex auditif envoie des fibres descendantes sur le corps genouillé médian à partir des neurones de la couche VI du cortex AI pour former des boucles thalamo-corticales auditives.



**Figure 2 : Voie auditive principale afférente**

Les neurones de type I du ganglion spiral (nerf VIII) vont projeter vers premier relai du tronc cérébral : les noyaux cochléaires (NC). Le deuxième relai part du NC pour arriver au niveau du complexe olivaire supérieur (SOC). Les neurones du SOC vont ensuite arriver au troisième relai, le colliculus inférieur (situé dans le mésencéphale). Le dernier relai est le corps genouillé médian du thalamus (situé dans le diencephale) avant d'arriver au niveau du cortex auditif primaire.

Image de [www.cochlea.eu](http://www.cochlea.eu), par Rémy Pujol.

## II. Le cortex auditif de la souris

Chez toutes les espèces, le cortex auditif est composé de plusieurs aires primaires tonotopiques et de plusieurs aires secondaires non-tonotopiques dont le nombre et l'agencement spatial varie d'une espèce à une autre (Figure 3). Comme, il existe d'importantes différences en termes de nombre et d'organisation des aires auditives corticales entre les espèces de mammifères, nous allons nous intéresser uniquement au cortex auditif de la souris.

Le cortex auditif (ACx) de la souris possède une organisation assez similaire aux autres mammifères. Au moins cinq aires différentes peuvent être distinguées généralement par leur type de réponses dans tous les aires qui ont été cartographiés chez la souris. Notons que, comme chez la plupart des autres espèces, ces aires ont été nommées selon la nomenclature utilisée pour le chat (Andersen et al., 1980). Comme chez toutes les autres espèces, les premières caractérisations des différentes aires auditives corticales ont été faite par électrophysiologie, la plupart du temps en collectant les réponses multi-unitaires en un grand nombre de site corticaux. Depuis quelques années d'autres techniques sont également utilisées pour mettre en évidence (ou pas) l'organisation tonotopique des aires auditives chez la souris : c'est le cas de l'imagerie calcique (Bandyopadhyay et al., 2010 ; Rothschild et al., 2010) et de l'imagerie par fluorescence des flavoprotéines (Tsukano et al., 2015).

### a. Caractérisation du cortex auditif par électrophysiologie de Stiebler et al. (1997)

La première description par électrophysiologie des aires du cortex auditif de la souris a été faite par le laboratoire de Günter Ehret sur des souris NMRI anesthésiées au mélange Kétamine-Rompun ou au pentobarbital (Stiebler et al., 1997). Ces auteurs ont, entre autres, décrit l'aire auditive primaire (AI) qui est positionnée dans la partie caudale de l'ACx de la souris. En général, chez toutes les espèces on appelle « aire auditive primaire » la zone corticale qui reçoit des projections directes de la partie ventrale, tonotopique, du thalamus auditif. Elle possède donc une tonotopie arrangée de façon ordonnée avec les basses fréquences situées caudalement et les plus hautes dans sa partie dorso-rostrale (gamme de fréquence entre 2 et 40 kHz). Les neurones de l'aire AI ont une fréquence caractéristique (fréquence qui donne une réponse au seuil le plus bas) facilement identifiable et des champs récepteurs étroits (Figure 3).

La deuxième aire, situé rostralement de AI, est l'aire auditive antérieure (AAF), qui possède elle aussi une représentation tonotopique régulière des fréquences. Cependant la position des fréquences dans AAF est inversée, en miroir de AI, c'est-à-dire que les fréquences les plus basses représentées sont situés rostro-ventralement et les plus hautes dans la partie dorso-caudale. Dans la région où les fréquences des neurones sont les plus élevées (entre 30 et 40kHz), les deux aires AI et AAF fusionnent comme chez la plupart des espèces. La gamme de fréquences des neurones et leurs propriétés dans AAF sont très proche de AI.

La souris est capable d'entendre des sons de fréquences pouvant aller jusqu'à 80-90 kHz (Ehret, 2006 chapitre 4 : Common Rules of Communication Sound Perception). Ces fréquences ultrasoniques élevées, généralement au-dessus de 45 kHz, sont représentées dans l'aire ultrasonique (UF), située dans la région dorso-rostrale de l'AC. Cette aire ne semble pas posséder un arrangement tonotopique régulier, c'est pour cela que cette zone ne fait pas partie de l'aire AI ou AAF mais qu'elle est considérée comme une aire à part entière. Les fréquences préférées des neurones de l'aire UF sont souvent difficiles à déterminer à cause - en particulier dans sa partie rostrale - de leur préférence à répondre en priorité aux sons modulés en fréquence. D'après Stiebler et al., les fréquences préférées des neurones qui ont été enregistrées dans l'aire UF peuvent aller 30 kHz à 72 kHz.

Dorso-caudalement à AI, une autre aire qui ne possède pas d'arrangement tonotopique, a été identifiée et dénommée aire dorso-postérieure (DP). Dans cette aire, les fréquences préférées des neurones sont difficiles à déterminer car leur gamme de fréquence est généralement large, avec une forte activité spontanée pulsée. Ils répondent aussi mieux aux modulations de fréquence qu'aux sons de fréquence constante. Dans cette aire, les fréquences enregistrées peuvent aller de 10 kHz à des fréquences ultrasonores élevées (jusqu'à 60 kHz).

Enfin, ventrale à l'aire AAF, se trouve l'aire auditive secondaire (AII). Les fréquences enregistrées représentent toute la gamme de fréquence perceptible chez la souris, y compris les fréquences élevée (de 2 à 60 kHz). Il n'existe pas d'ordre tonotopique évident mais une

tendance à ce que les fréquences élevées soient représentées au centre du champ avec une diminution des fréquences à la fois dans la direction caudale et rostrale. De façon générale, les neurones de AII ont une latence de réponse plus longue que ceux des cortex primaires.

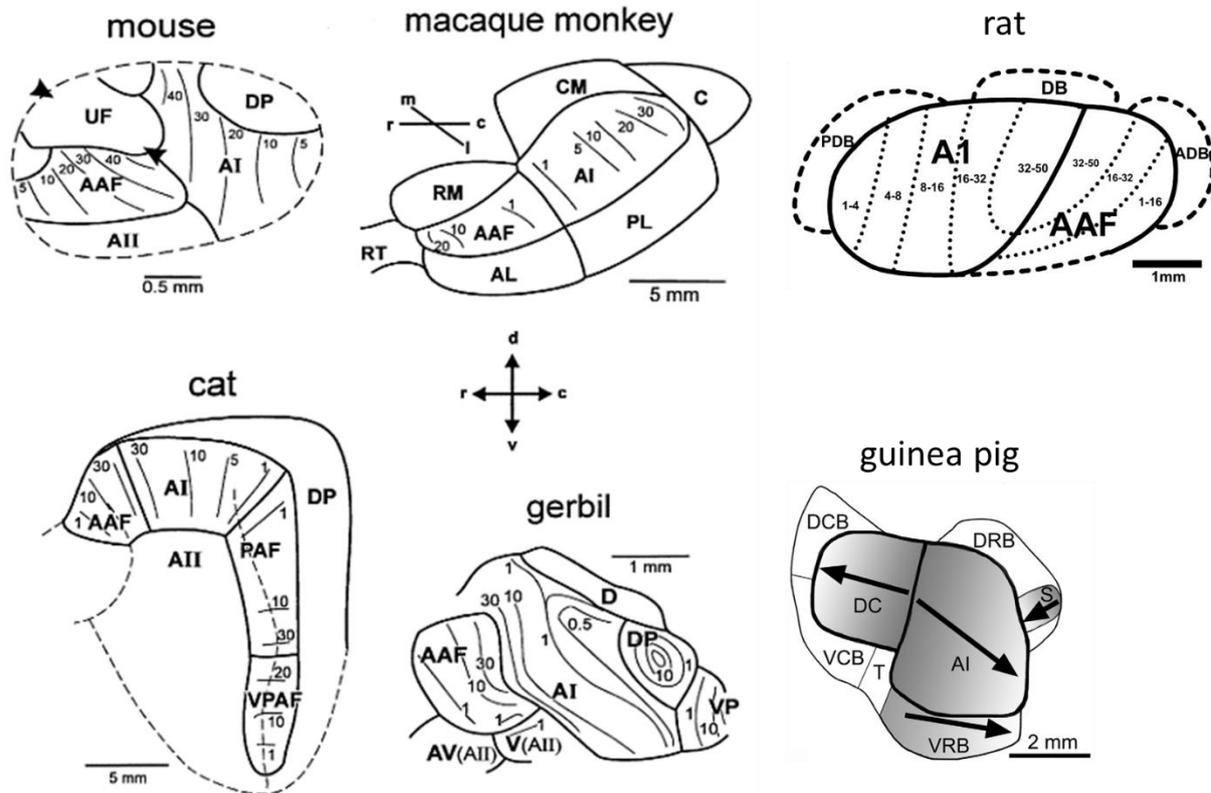
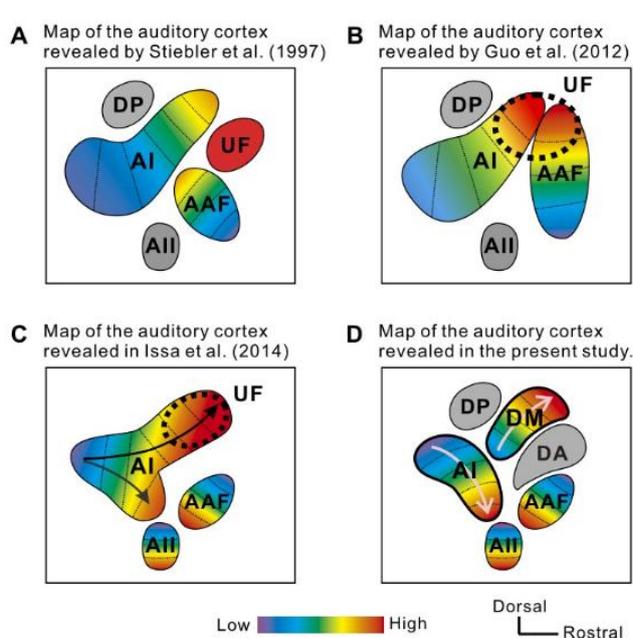


Figure 3 : Comparaison de l'organisation générale des aires corticales auditives de quatre mammifères (souris, macaque, chat, gerbille, rat et cobaye)

Les aires auditives primaire (AI) et antérieure (AAF) sont présentes chez toutes les espèces avec une représentation tonotopique régulière des fréquences. Ce sont cependant les autres aires non primaires ou secondaires qui diffèrent en nombre et en position par rapport à AI chez les différentes espèces. D'après Stiebler et al. (1997 : souris, macaque, chat et gerbille), Rutkowski et al. (2003 : rat), et Grimsley et al., (2012 : cobaye).

Cette description initiale de Stiebler et al., a été discutée et contestée, à la fois en termes d'organisation spatiale des différentes aires (Guo et al., 2012 ; Tsukano et al., 2015) ou d'orientation de l'axe tonotopique (Issa et al., 2014) (Figure 4), mais aussi en termes d'existence même d'une tonotopie des aires AI et AAF (Bandyopadhyay et al., 2010 ; Rothschild et al., 2010).



**Figure 4 : Cartes schématiques du cortex auditif de souris dans différentes études**

**A:** carte du cortex auditif de Stiebler et al., 1997.  
**B:** carte du cortex auditif de Guo et al., 2012. AAF et AI ont des bandes ultrasoniques supérieures à 50 kHz. UF a été interprété comme étant une sous-partie dans les zones à haute fréquence de l'AAF et de l'IA, mais pas une région distincte. **A et B:** ces cartes ont été dessinées en fonction de résultats obtenus par enregistrement unitaire.

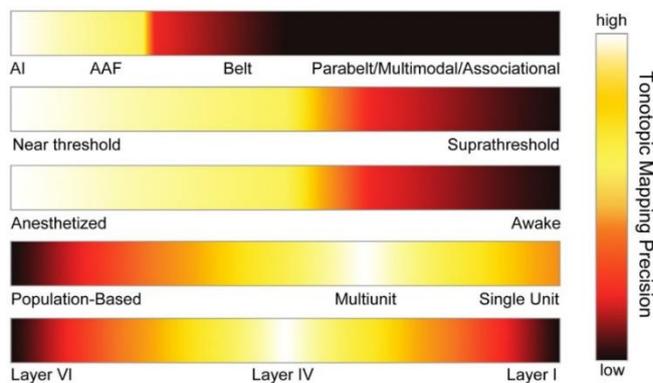
**C:** carte du cortex auditif de Issa et al., 2014, montrant deux gradients de fréquence à l'intérieur de AI. L'axe tonotopique de AAF est tracé selon un axe ventro-caudal, d'après les données rapportées par Horie et al. (2013).

**D:** carte du cortex auditif de Tsukano et al., 2015. Une aire dorsomédiale (DM)

nouvellement délimitée permet de séparer les deux gradients de fréquences de AI chez Issa et al. D'après Tsukano et al., 2015.

En 2010, deux papiers d'imagerie calcique biphotonique publiés côte-à-côte dans Nature Neuroscience ont remis en cause l'organisation tonotopique de l'aire auditive primaire chez la souris. Dans le premier, Rothschild, Nelken et Mizrahi affirment que des neurones très proches l'un de l'autre (<100µm de distance) peuvent avoir des fréquences préférées (BF) très différentes, ainsi qu'une aire de réponse aux fréquences en fonction de l'intensité (FRA) très différentes. Par exemple des neurones à moins de 100µm les uns des autres peuvent avoir des BF qui diffèrent de plus de 4 octaves. De ce fait, sur une dizaine de souris, ils affirment ne pas avoir de gradient tonotopique, c'est à dire ne pas avoir de corrélation entre la position d'un neurone selon l'axe rostro-caudal et la valeur de sa BF. Mais sur un animal où deux sites d'injection de la sonde calcique ont été étudiés, permettant ainsi de couvrir un territoire beaucoup plus vaste, un gradient tonotopique clair et significatif a été observé. Cela suggère que malgré cette apparente désorganisation locale, une organisation à plus large échelle (>250µm) semble exister dans l'aire auditive primaire de la souris. Les conclusions du second papier (Bandyopadhyay, Shamma et Kanold) à partir de données obtenues sous anesthésie à l'isoflurane chez des souris de moins de 1mois sont essentiellement les mêmes : la tonotopie semble ne pas être présente à l'échelle locale (<100µm) mais existe à une échelle beaucoup plus large. Enfin, Tischbirek et al., en 2019, ont aussi conclu à une hétérogénéité locale de la fréquence préférée des neurones malgré une tonotopie globale préservée dans chaque couche (II/III à VI) grâce à des micro-colonnes de neurones présentant la même fréquence à travers toutes les couches. Cette microarchitecture de représentation fréquentielle observée en imagerie calcique permettrait donc de maintenir la tonotopie dans chaque couche du cortex auditif.

Les deux études électrophysiologiques publiées en 2011 et 2012 par le laboratoire de Dan Polley ont amené des réponses à ces critiques, sur la tonotopie chez la souris. Elles ont été faites sur la souris C57BL/6 anesthésiée au pentobarbital (Hackett et al., 2011) et chez la souris CBA/CaJ anesthésié au pentobarbital ou au mélange Kétamine/Xylazine (Guo et al., 2012). Dans les deux cas, les auteurs ont enregistré l'activité neuronale en multi-unitaire, c'est-à-dire en enregistrant un petit groupe de neurones localisés sous chaque électrode d'enregistrement. Dans les deux articles un gradient tonotopique extrêmement lisse et progressif a été observé. Hackett et al., 2011 affirment même pouvoir détecter une topographie des connexions des tranches thalamo-corticales maintenues in vitro. Les auteurs y proposent un schéma de synthèse pour expliquer les conditions permettant de détecter plus ou moins bien la tonotopie (Figure 5) et nous expliquent les différences entre chaque méthodologie pour évaluer la tonotopie.



*Figure 5 : schéma de synthèse pour détecter une tonotopie dans le cortex auditif de la souris, selon Hackett et al., (2011)*

*La précision du signal de cartographie tonotopique dépend de l'endroit où les enregistrements sont effectués dans le cortex auditif, du niveau sonore utilisé pour caractériser la fréquence préférée (BF), de l'état de vigilance de la souris, de la résolution spatiale de la mesure, et de la couche corticale dans laquelle les enregistrements sont effectués (de haut en bas).*

Dans leur étude de 2012, ce laboratoire va même jusqu'à simuler des données calciques biphotonique pour reproduire une hétérogénéité locale et montrer que cette explication d'une « désorganisation locale vs organisation globale » n'est pas apte à réconcilier données électrophysiologiques et données d'imagerie calcique biphotonique (Guo et al., 2012). Selon eux, trois facteurs sont responsables des divergences de résultats : (1) l'imagerie calcique, notamment dans cette étude, échantillonne les couches II/III et non pas la couche IV, (2) l'imagerie calcique n'est pas uniquement sensible aux potentiels d'action mais aussi aux événements sous-laminaires, et (3) les réponses en imagerie calcique ont un décours temporel de plusieurs centaines de millisecondes (ms), alors que les analyses électrophysiologiques sont basées sur des réponses évoquées survenant dans une fenêtre de 50 ms après le début des stimuli. L'intégration d'une activité neuronale sur plusieurs centaines de ms revient à brouter les cartes tonotopiques avec l'activité spontanée.

Une tentative pour réconcilier les données électrophysiologiques et les données d'imagerie calcique biphotonique a été faite par Issa et al. en 2014. Ces auteurs ont utilisé une souris transgénique où l'expression neuronale de la sonde calcique GCaMP3 est contrôlée par le système Cre-Lox (Tian et al., 2009 ; Zariwala et al., 2012). Cela permet de faire de l'imagerie calcique transcrânienne à très large échelle sans avoir à faire des injections intracorticales, et

permet ensuite de faire de l'imagerie biphotonique à l'échelle du neurone. Avec l'utilisation de cette technique chez des souris non anesthésiées, les données d'imagerie calcique biphotonique de neurones individuels confortent l'organisation tonotopique dans le cortex auditif primaire de la souris, à la fois à l'échelle locale (<100  $\mu\text{m}$ ) et globale (à travers l'ensemble de AI). Mis à part la différence entre la tonotopie des couches IV et II/III (qui a déjà été remarqué dans l'étude de Winkowski & Kanold, 2013), Issa et al. suggèrent que les injections de certaines sondes calciques fluorescentes effectuées dans le cortex qui peuvent à la fois marquer les neurones et les astrocytes rendent les données d'imagerie moins précises de l'activité neuronale. De plus, le marquage indifférencié des cellules pyramidales et des interneurons GABAergiques par la sonde calcique, alors que les interneurons ne sont que peu ou pas échantillonnés dans les cartographies électrophysiologiques, peut être une explication des différences entre les travaux électrophysiologiques (Stiebler et al., 1997 ; Hackett et al., 2011 ; Guo et al., 2012 ; Joachimsthaler et al., 2014) et les travaux d'imagerie calcique biphotonique (Bandyopadhyay et al., 2010 ; Rothschild et al., 2010). Plus récemment, une étude a évalué si les gradients tonotopiques testés par imagerie biphotonique étaient fondamentalement différents chez la souris et une autre espèce, le furet (Gaucher et al, 2020). Ces auteurs ont rapporté que chez ces deux espèces il y a une certaine hétérogénéité locale des BF des neurones, mais une organisation tonotopique tout à fait comparable avec un gradient tonotopique plus rapide chez la souris (4.9 octave/mm) que chez le furet (2.9 octave/mm), du fait de la taille relative des cortex primaires de ces deux espèces. Selon ces auteurs, la prise en compte en imagerie biphotonique de neurones ayant des champs récepteurs dits « complexes » (en opposition aux champs récepteurs dits simple-pic ou double-pics, c'est-à-dire avec une réponse claire à une fréquence ou deux fréquences distinctes) tendrait à « brouiller » la tonotopie corticale alors qu'elle serait bien plus précise avec les neurones ayant des champs récepteurs simples. Dans cette étude, les données électrophysiologiques révèlent une proportion beaucoup plus importante de neurones simple-pic ce qui conduit à un gradient tonotopique plus facile à observer chez les 2 espèces.

Une autre technique d'imagerie a remis en cause l'organisation des différentes aires du cortex auditif chez la souris C57BL/6. Elle repose sur la fluorescence endogène dérivée des flavoprotéines mitochondriales qui reflète le métabolisme énergétique aérobie dépendant de l'activité cellulaire (Chance et al., 1962 ; Shuttleworth et al., 2003 ; Shibuki et al., 2007). Cette fluorescence endogène a été appliquée à l'imagerie corticale in vivo par le groupe de Katsuei Shibuki depuis plus d'une dizaine d'années (Takahashi et al, 2006), et elle a l'avantage de pouvoir étudier les réponses du cortex auditif à travers la boîte crânienne. En utilisant cette technique ils proposent que l'aire dorsale haute fréquence soit indépendante de l'aire AI mais qu'elle ne soit pas une aire traitant uniquement les ultrasons. Ils avancent donc l'idée que chez la souris C57BL/6 l'aire UF n'existerait pas et serait remplacée par une aire tonotopique présentant le même gradient que AI (Figure 4, Tsukano et al., 2015).

En réalité, cette proposition fait sens puisqu'à cause d'une perte auditive liée à l'âge particulièrement rapide chez la C57BL/6 (à partir de 3-5 mois), l'aire UF n'a pas été vraiment

caractérisée chez cette souris à l'âge adulte et la gamme de fréquence dans AI y est aussi plus restreinte. Il a été montré par des tests comportementaux (conditionnement opérant) que les seuils auditifs des souris C57BL/6 augmentaient rapidement avec l'âge (Mikaelian et al., 1974). Cela a été confirmé par des études quantifiant les seuils du nerf auditif qui augmentent avec l'âge chez la C57BL/6 (Henry & Chole, 1980). Une étude a aussi montré une absence de fréquence caractéristique supérieure à 30 kHz au niveau du nerf auditif de souris C57BL/6 âgées de 3-4 mois (Taberner & Liberman, 2005). Enfin, Stamatakis et al., en 2006, ont vu que l'augmentation du seuil auditif chez des souris C57BL/6 âgées (8-12 mois) s'accompagne d'une perte partielle des cellules ciliées externes (CCE) et d'une diminution du nombre de connexions afférentes synapses – CCI.

#### b. Différentes couches du cortex auditif

Comme tout cortex sensoriel et pour toutes les espèces de mammifères, le cortex auditif de la souris est organisé en six couches composées de types cellulaires différents et avec afférences et efférences propres à chaque couche. Ces couches ont été décrites très précisément chez le chat par Winer JA. (Winer, 1984, 1985 ; Huang & Winer, 2000), le rat (Beyerl, 1978 ; Games & Winer, 1988 ; Doucet et al., 2003), ou la souris (Anderson et al., 2009 ; Petrof et al., 2012 ; Ji et al., 2016 ; Chang & Kawai, 2018) :

- La couche I, qui est une couche superficielle très fine, a la plus faible densité cellulaire avec une quasi-absence de neurones pyramidaux et une majorité de neurones GABAergiques, dont les dendrites sont orientées parallèlement à la surface. Elle est surtout composée d'un grand nombre de fibres afférentes de neurones provenant des autres couches corticales et de divers systèmes neuromodulateurs. Il a été montré que ces neurones inhibiteurs reçoivent en partie des innervations thalamocorticales (Chang & Kawai, 2018). Cette couche reçoit des afférences de la partie médiale, non-tonotopique du thalamus auditif (Linke & Schwegler 2000 ; Edeline 2011).

- La couche II, dite granulaire externe, possède des neurones pyramidaux plus petits que ceux observés en couches inférieures et une majorité de neurones (en grain) granulaires. Elle reçoit des afférences d'autres aires corticales environnantes ainsi que de la couche I et ses neurones communiquent avec ceux des couches III à IV sur une même colonne corticale. Les couches II et III peuvent facilement être divisées en plusieurs sous-couches, en fonction de leurs connectivités intra-corticales et leur profondeur dans la couche. Par exemple, les neurones situés au niveau de la couche II superficielle (L2a) ont des connexions plus colonnaires, que les neurones de la couche L3 profonde (Meng et al., 2017).

- La couche III possède une grande diversité de types cellulaires. Les cellules pyramidales, présentes en majorité, peuvent avoir des tailles très diverses et ont des tiges dendritiques plus complexes que les cellules de la couche II (Winer, 1984 ; Ojima et al., 1991). L'arbre dendritique des cellules les plus grandes peut aller de la couche I au niveau apical à la couche IV au niveau basal. Les neurones de la couche III peuvent projeter vers des aires corticales associatives ou environnantes. Comme pour la couche II, une étude a montré qu'une

population de cellules situés sur la partie profonde de la couche III (L3b) recevait plutôt les entrées de la couche IV alors que les autres neurones de la couche II/III, qui reçoivent une plus petite fraction d'entrée de la couche IV, sont dominés par des entrées intercorticales (Chen et al., 2011).

- La couche IV, dite granulaire interne, se distingue nettement des couches III et V car elle possède peu de neurones pyramidaux mais beaucoup d'autres types cellulaires différents. Les fibres du corps genouillé médian (CGM) forment des terminaisons au niveau des neurones de la couche IV qui vont ensuite communiquer avec la couche III ou V. Il est généralement admis que les axones thalamocorticaux primaires projettent vers la couche profonde III mais surtout vers la couche IV (Romanski & LeDoux 1993 ; Huang and Winer 2000 ; Llano and Sherman 2008 ; Smith et al. 2012) Les neurones de la couche IV relaient ensuite les informations vers les couches supragranulaires (II/III) qui redescendent ensuite vers les couches infragranulaires (V/VI)(Gilbert & Wiesel, 1979 ; Feldmeyer, 2012). Notons qu'au contraire du cortex visuel, la majorité des neurones qui reçoivent les informations du thalamus auditif ne sont pas des cellules étoilées (« stellate cells ») mais sont des « spiny cells » (non-étoilées) et/ou des cellules pyramidales (Winer, 1984 ; Smith & Populin 2001).

- Dans la couche V, couche la plus épaisse (Chang & Kawai, 2018), on y retrouve un plus grand nombre de neurones pyramidaux (de différentes tailles) mais aussi d'autres types cellulaires non-pyramidaux. Certains neurones pyramidaux de très grande taille ont un arbre dendritique complexe qui peut s'étendre jusque dans la couche I et se terminer par une touffe de dendrites, courbées parallèlement à la surface corticale. Les neurones pyramidaux de la couche V ont des fibres efférentes particulièrement dirigées vers les structures sous-corticales, notamment la partie MGd du thalamus (Llano & Sherman, 2008).

- Enfin, la couche VI possède aussi une très grande diversité de types cellulaires. Les neurones pyramidaux de cette couche ont souvent des arbres dendritiques plus simples que ceux des couches III et V et ne communiquent qu'avec la couche IV ou V. Les autres types cellulaires ont des prolongements neuronaux efférents qui peuvent aller vers d'autres structures dont le thalamus auditif. Étant donné que la couche 6 contient à la fois des neurones corticothalamiques et corticocorticaux, l'identification de ces différents types cellulaires dans cette couche a ainsi permis d'identifier la frontière entre les couches V et VI (Kelly & Wong, 1981 ; Imig et al., 1982 ; Code & Winer, 1986 ; Rüttgers et al., 1990 ; Llano & Sherman, 2008 ; Petrof et al. 2012). La majorité des neurones projetant vers la partie MGv (centrale) du thalamus sont répartis dans la couche VI (Llano & Sherman, 2008 ; Smith et al., 2012).

### c. Quelques propriétés fonctionnelles des neurones du cortex auditif

Les neurones du cortex auditif ont tout d'abord une sélectivité aux fréquences sonores. Cette sélectivité est visible au niveau cortical dans AI et AAF grâce au gradient tonotopique présent dès la cochlée et préservée à tous les étages du système auditif : Les projections anatomiques vont déterminer ce à quoi un neurone va répondre. Classiquement, on quantifie la sélectivité d'un neurone cortical à une fréquence (ou plutôt une bande de fréquences) en mesurant son champ récepteur. Pour cela, à une intensité donnée, des sons purs (dont la fréquence ne varie

pas au cours du temps) sont présentés dans les fréquences audibles pour la souris (souvent de 2 à 80 kHz). Le champ récepteur correspond à la bande de fréquences entre la fréquence la plus basse et la fréquence la plus élevée auquel le neurone répond (avec une activité évoquée supérieure à l'activité spontanée). On détermine aussi la fréquence préférée du neurone (BF), c'est-à-dire la fréquence à laquelle il répond le plus fortement (taux de décharge du neurone le plus élevé) à cette intensité donnée.

Les neurones corticaux sont aussi, bien sûr, sensibles à l'intensité sonore. Elle est importante pour connaître la localisation des sources sonores. En plus de s'appuyer sur la latence d'arrivée d'un son entre les deux oreilles, le calcul de la localisation d'un son se fait aussi sur la différence d'intensité sonore entre les deux oreilles. Ce calcul se fait au niveau du COS grâce à l'arrivée des informations ipsi- et contra-latérales provenant des deux noyaux cochléaires. Au niveau cortical, chaque neurone a une sensibilité à l'intensité sonore, qui peut être déterminée en quantifiant de la fréquence caractéristique (CF) du neurone. La CF d'un neurone est la fréquence pour laquelle le neurone répond avec le seuil d'intensité acoustique le plus bas.

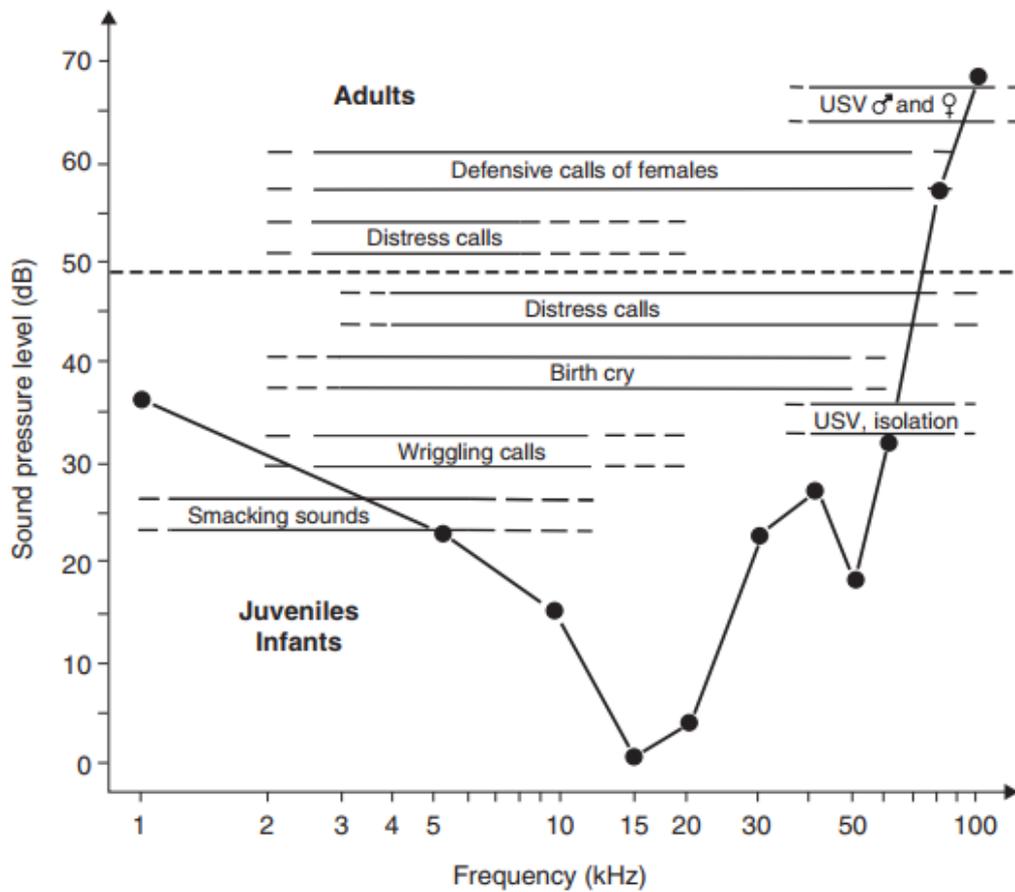
Les neurones du cortex auditif sont également sélectifs à la modulation de fréquence (FM) d'un son. Cette propriété semble émerger au niveau du CI : les neurones de cette structure seraient sélectifs à la vitesse de modulation de fréquence, aux sons de modulations ascendantes ou descendantes grâce à l'organisation temporelle des entrées excitatrices et inhibitrices qui arrivent au niveau du CI. Au niveau du cortex auditif du chat, il a été montré que la majorité des neurones de AI avaient une sélectivité pour les FM descendantes avec une vitesse de modulation assez rapide (0.4-0.8 kHz/ms ; Mendelson & Cynader, 1985). Une topographie de la sélectivité à la FM dans AI a même été suggéré, avec des neurones à sélectivité en FM descendante dans la partie centrale et des neurones à sélectivité en FM ascendante en périphérie dans les régions plus dorsales et ventrales de AI (Mendelson et al., 1993). Cette sélectivité a bien été retrouvée dans le cortex auditif de la souris C57BL/6 (GCaMP3-Cre ; Issa et al., 2014), mais elle semble assez altérée chez des animaux de 6-8 mois (Trujillo & Razak, 2013) et même parfois chez des animaux de 4 mois en utilisant la technique d'imagerie par fluorescence de la Flavoprotéine (Tsukano et al., 2013).

Enfin, les neurones du cortex auditif sont sensibles à la modulation d'amplitude (AM) d'un son. On définit la sensibilité à l'AM par la capacité d'un neurone discriminer la plus petite modification d'amplitude un son (de quelques Hz à plusieurs dizaines de Hz). Cette sélectivité a aussi été décrite à tous les étages du système auditif, en mesurant le seuil de détection d'AM (ou fonction de transfert de modulation, MTF) des neurones de chaque relai auditif, lors de la présentation de stimuli à une cadence donnée et dont l'amplitude est modulée (Joris et al., 2004).

#### d. Réponses aux signaux de communication acoustiques

Les signaux de communication acoustiques sont, bien sûr, les stimuli les plus importants que le système auditif doit traiter pour qu'un sujet interagisse avec son environnement, que ce soit des signaux de communication provenant de congénères (communication entre fratrie, cris de cour, cris de défense de territoire) ou provenant d'autres espèces (les proies ou les prédateurs).

Chez la souris, les cris de communication acoustique s'étendent sur toute la gamme de fréquence audible chez la souris (de 1 à 100 kHz).



*Figure 6 : Comparaison entre l'audiogramme comportemental (trait épais, d'après Ehret, 1974) et la fréquence/intensité des cris émis par les souris*

*Les lignes horizontales montrent les principales gammes de fréquences couvertes par les vocalisations indiquées de la souris (Ehret, 1975 ; Haack et al., 1983 ; Whitney & Nyby, 1983). Les vocalisations des adultes (partie supérieure) sont séparées par une ligne pointillée des vocalisations des nourrissons et des juvéniles (partie inférieure). D'après Ehret (2006), chapitre 4 : « Common rules on communication sound perception ».*

Ces cris de communication contiennent énormément d'informations qui doivent toutes être prises en compte par le système nerveux central pour élaborer la réponse comportementale la plus adaptée. Chacun de ces cris semble émis dans des situations particulières : par exemple les « Wriggling calls » sont émis quand que le nouveau-né cherche à s'allaiter, le « Distress

call » quand l'animal est en danger ou apeuré, les « pup USV » lorsque le nouveau-né est en hypothermie. Ensuite, ils sont émis dans une gamme de fréquence plus ou moins restreinte (fréquences basses, moyennes ou très hautes) et à différentes intensités. Enfin ces cris sont complexes c'est à dire ils sont émis à un rythme particulier, contiennent plusieurs composantes qui possèdent des variations spectrales, qui peuvent être répétés plusieurs fois, en série. Toutes ces caractéristiques spectrales, temporelles, rythmiques permettent au système auditif central d'analyser précisément le cri de communication et de déterminer grâce aux connexions avec le reste du système nerveux central s'il a été entendu auparavant.

Un exemple particulier chez les animaux, et chez les humains, sur l'importance de l'analyse des cris de communication acoustique est celui de la réponse des mères aux cris de nouveau-nés. Ces cris émis par les nouveau-nés pour des raisons souvent vitales ont une incidence comportementale chez la mère qui a été étudié chez les animaux et notamment chez la souris (*mus musculus*). Un test très connu (Noirot, 1972), appelé test de comportement maternel, consiste à sortir un nouveau-né du nid (construit par la mère, d'où les petits ne sont pas censés sortir avant qu'ils ne soient autonomes) et de le placer assez loin du nid. La mère va instinctivement rechercher son petit qui émettra des vocalisations ultra-haute fréquence (USVs, car il est en hypothermie) et lorsqu'il sera retrouvé grâce, entre autres, aux USVs émis, la mère le ramènera directement au nid. Ces USVs sont donc importants pour la mère, dont le but est de s'occuper de ses petits jusqu'à ce qu'ils soient autonomes. Mais qu'en est-il pour des souris vierges, qui n'ont jamais eu de nouveau-nés, ou des souris mâles (l'animal est connu pour être solitaire et polygame). Sont-ils aussi sensibles aux cris de nouveau-nés que les souris mères ?

En 1987, lors d'un test binaire effectué dans un labyrinthe en T, Ehret a montré que la souris mère a une préférence à se diriger dans le couloir où le stimulus artificiel de haute fréquence (son pur de 50kHz ou bruit passe-bande entre 40 et 60 kHz) est présenté par rapport à un son pur de 20 kHz. Selon lui, l'hémisphère gauche semble plus impliqué dans la reconnaissance des USVs que l'hémisphère droit chez la souris mère (meilleurs résultats lorsque l'oreille gauche est bouchée que lorsque c'est la droite), mais pas chez la souris vierge, inexpérimentée. Dans les tests de choix binaire, des souris mères se dirigent donc préférentiellement vers des ultrasons de type « nouveau-né » par rapport à un son neutre, et peuvent même discriminer les ultrasons en fonction de la fréquence, de la durée et de la bande de fréquence (Ehret & Haack, 1981 ; Smith, 1976). Ces appels ont donc une signification comportementale pour les mères, qui ne sont pas reconnus par des souris vierges (qui n'ont pas de préférence).

Qu'en est-il au niveau cortical ? A-t-on détecté des différences dans l'activité des neurones du cortex auditif en réponses aux cris de communication acoustique, et notamment aux USVs, entre les souris vierges et les souris mères ?

Les premières études corticales chez la souris ont été faites par Fichtel & Ehret en 1999, puis par Geissler & Ehret en 2004, en utilisant la technique de l'immunocytochimie c-Fos. Fichtel

et Ehret en 1999 ont déterminé si un son haute fréquence (de fréquence de 50 kHz, d'une durée de 70 ms, et un intervalle inter-stimuli de 270 ms), qui peut correspondre à un USV, induisait un marquage c-fos dans la zone UF décrite par Stiebler (1997). Geissler et Ehret ont ensuite regardé au niveau du cortex auditif, les zones activées lorsqu'on présentait des pseudo-cris (bandes de sons de 4, 8 et 11 kHz) qui peuvent correspondre à des « wriggling calls » naturels (Geissler & Ehret, PNAS 2002). Ils ont observé des marquages c-fos dans les aires AI, AAF, et BF et aussi dans All, mais n'ont pas observé de discrimination entre les sons.

La première étude électrophysiologique sur l'analyse des réponses aux vocalisations de souris nouveau-nés au niveau du cortex auditif a été réalisée en 2006 par Liu et collègues, chez la souris (de souche CBA/CaJ). Ils n'ont pas observé de différence entre les vierges et les mères en termes de réponse aux sons purs de hautes fréquences (>60 kHz), ni de différence de réponse entre un son pur de 64kHz et une vocalisation de 64kHz à la fois chez les vierges et les mères. En calculant le rapport entre la réponse au son pur et celle à la vocalisation, le cortex auditif de souris ne semble pas, en moyenne, sensible à aux faibles modulations de fréquence contenues des vocalisations de nouveau-nés. Par contre, la capacité des neurones à suivre la cadence des cris répétés de nouveau-nés montre de meilleurs résultats chez les souris mères par rapport aux souris vierges: Comparé aux femelles naïves, les neurones des souris mères sont capables de répondre à des stimuli répétés allant jusqu'à la cadence naturelle de répétition des appels de petits (5Hz), et sont moins sensible aux variations naturelles significatives des vocalisations. Chez les souris vierges, les neurones suivent des stimuli répétés à des cadences de répétition plus lentes, et sont plus sensibles à la variabilité naturelle des cris des nouveau-nés. En conclusion, les résultats montrent que les neurones des souris mères ont développé un meilleur suivi temporel pour la cadence naturelle des vocalisations. Ce meilleur suivi pourrait s'expliquer, d'ailleurs, par l'action de neuromodulateurs dans le cortex auditif. Par exemple, l'activation régulière du système cholinergique peut aussi induire un meilleur suivi temporel à des cadences plus élevées (Kilgard & Merzenich, 1998).

Une analyse plus détaillée des capacités de codage des neurones corticaux est proposée dans l'article de Liu et Schreiner (2007). Ils montrent la diversité des réponses évoquées à la fois en multi-unitaire et unitaire dans le cortex auditif des mères et des vierges et quantifient l'information portée par les décharges neuronales pour détecter et discriminer les cris des nouveau-nés. L'étude des réponses évoquées de ces neurones commence d'abord par l'analyse du nombre de potentiels d'actions (PA) émis par chaque neurone en réponse à une vocalisation, ou le taux de décharge (potentiels d'actions par seconde) de chaque neurone, mais aussi par l'analyse du « timing » précis d'apparition du ou des PA à chaque présentation de la vocalisation. On va donc quantifier la latence de la réponse, sa durée, ainsi que la reproductibilité temporelle de la réponse au stimulus auditif. Ce « timing » peut être quantifié par un index qui mesure la précision du neurone à émettre un PA exactement au même moment pour chaque essai, appelé le coefficient de reproductibilité temporelle (CorrCoef ; Gaucher et al., 2013). Pour Liu et Schreiner, ces deux paramètres de réponse neuronale

semblent avoir un aspect crucial dans le codage neuronal des cris de communication. Une question importante posée dans l'article de Liu & Schreiner consiste à déterminer les capacités de codage des neurones corticaux en quantifiant l'information portée par les neurones sur l'identité des différentes vocalisations. En 2006, Schnupp et al. ont développé une méthode qui permet de quantifier, grâce à l'analyse de l'ensemble de la réponse, la capacité d'un neurone à discriminer des vocalisations selon les motifs temporels des réponses évoquées : l'information Mutuelle (MI) est alors calculée non plus sur la base du taux de décharge mais sur la base de motifs temporels. Plus les motifs de réponse sont différents entre plusieurs stimuli, plus il y a d'information dans les réponses, et donc plus le neurone est capable de discriminer chacun des différents stimuli (Schnupp et al., 2006). Dans l'étude de Liu & Schreiner (2007), les réponses des neurones chez souris les mères portent plus d'informations pour détecter et discriminer les cris des nouveau-nés, en particulier pendant les 20 premières millisecondes de réponse. Notons qu'il n'y a pas de relation entre la valeur de fréquence caractéristique des neurones et la quantité d'information portée par les neurones.

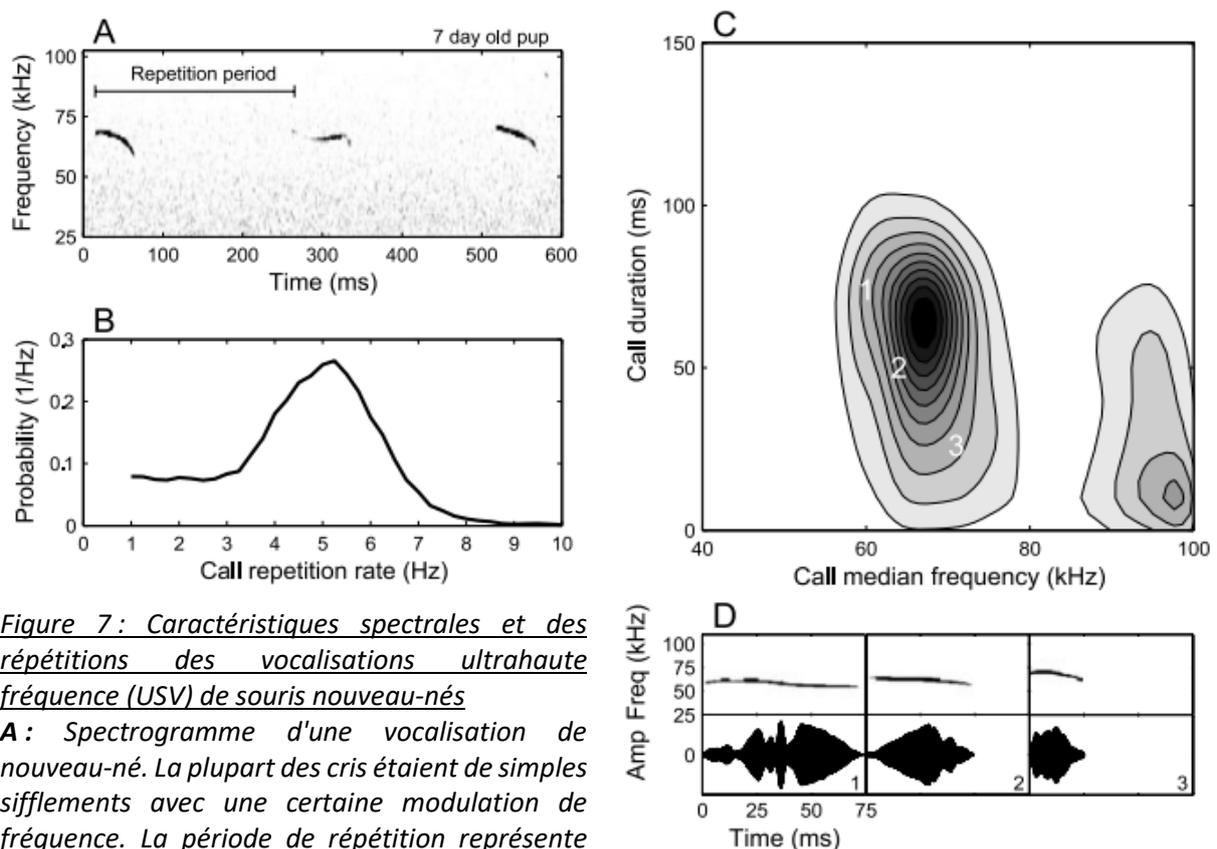


Figure 7: Caractéristiques spectrales et des répétitions des vocalisations ultrahaute fréquence (USV) de souris nouveau-nés

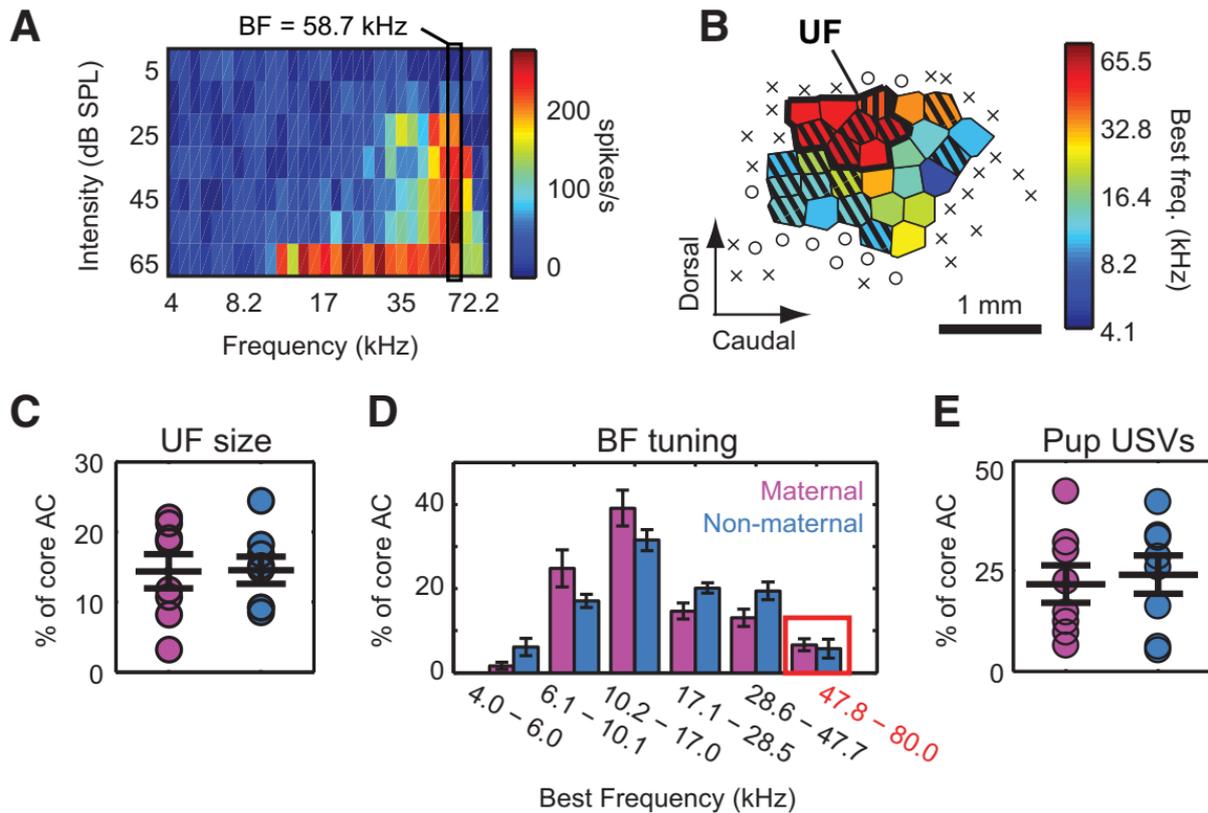
**A :** Spectrogramme d'une vocalisation de nouveau-né. La plupart des cris étaient de simples sifflements avec une certaine modulation de fréquence. La période de répétition représente l'intervalle entre les débuts de 2 cris consécutifs.

**B :** Répartition des taux de répétition des cris des petits ( $1/\text{période de répétition}$ ). Les cris sont le plus souvent émis à une fréquence d'environ 5 Hz.

**C :** Graphique de contour de la fenêtre de fréquence et de durée médianes des vocalisations de nouveau-nés. Ces vocalisations ont formé deux groupes autour de 67 kHz/59 ms et 94 kHz/30 ms. Les chiffres (1,2,3) indiquent l'emplacement des exemples de cris utilisés pour tester les réponses neuronales.

**D :** Fréquence et enveloppes d'amplitude de 3 vocalisations (1,2,3 figure C) de nouveau-nés en fonction du temps. Globalement, ces cris présentaient une grande variété de modulations d'amplitude et de subtiles modulations de fréquence.

Cette étude de Liu & Schreiner (2007) n'a pas indiqué de différence entre les souris mères et vierges sur le taux de décharge des réponses aux vocalisations de nouveau-nés, mais uniquement des différences sur la latence de réponse. Cependant, Shepard et al., en 2015, ont étudié plus précisément deux catégories de neurones du cortex auditif primaire, en les distinguant par la forme de leurs potentiels d'actions (d'après l'article de Lin & Liu, 2010 : les *thin-spiking cells* (potentiels interneurons) et les *thick-spiking cells* (potentiels neurones pyramidaux)). Ils ont remarqué que seuls les neurones pyramidaux potentiels chez les souris mères ont montré un rapport signal sur bruit (SNR calculé par la valeur du taux de décharge Evoqué/Spontané) plus grand en réponse aux vocalisations de nouveau-nés par rapport aux vocalisations de mâles d'adultes, différence que l'on ne voit pas chez les souris vierges. Pour les neurones pyramidaux potentiels, la discrimination entre les vocalisations de nouveau-nés et d'adultes serait donc meilleure qu'entre les vocalisations d'adultes eux-mêmes. Puisque les USVs de nouveau-nés et d'adultes sont spectralement similaires mais sémantiquement différents (les vocalisations de souris adultes sont plus riches « phonétiquement »), la plasticité du contenu spectral seule ne peut pas suffire à différencier ces appels. Ces résultats renforcent l'hypothèse selon laquelle AI aurait plutôt un rôle dans le codage des caractéristiques d'ordre élevé du stimulus auditif, plutôt que de son contenu spectral. Ainsi, la plasticité liée à la maternité de AI pourrait affecter des processus concernant l'analyse fine des caractéristiques de stimulus d'ordre élevé plutôt que de simples changements dans le contenu spectral des champs récepteurs. D'ailleurs, dans toutes ces études, la maternité ne semble pas induire de changements dans la représentation tonotopique. Une étude multi-unitaire (Shepard et al., 2016) a révélé que les souris avec une expérience maternelle ne montrent aucune expansion de l'aire corticale de haute fréquence (UF) mais uniquement une suppression plus importante des réponses USVs dans les zones corticales de basse fréquence (AI et AAF).



**Figure 8 : Représentation des ultrasons dans la carte corticale de souris anesthésiées**

**A :** Exemple de réponse neuronale à des sons purs sur une électrode multi-unitaire d'une souris mère. En abscisse les fréquences présentées, en ordonnée l'intensité du son pur présenté. La couleur représente le taux de décharge enregistré.

**B :** Exemple de la carte corticale des BF des neurones enregistrés d'une souris non maternelle. Les polygones représentent la BF moyenne des sites d'enregistrement individuels dans ACx. La zone UF est encadrée en noir. Les zones hachurées représentent les sites où les neurones répondent aux USVs (les croix représentent les sites non auditifs).

**C :** Taille (en pourcentage) de l'aire UF chez les souris vierges et mères. Elle ne semble pas différente entre les deux groupes.

**D :** Pourcentage de l'aire de chaque gamme de fréquences chez les souris mères et vierges. Il ne semble pas y avoir de différence entre les souris vierges et mères de l'aire des neurones ayant une BF entre 47 et 80 kHz (encadrés en rouge).

**E :** Pourcentage de l'aire corticale des neurones qui répondent aux USVs chez les souris vierges et mères. Il ne semble pas y avoir de différence entre les souris vierges et mères. D'après Shepard et al., 2015.

Ces 10 dernières années, des études du laboratoire d'Adi Mizrahi sont venues compléter ces données. Dans une première expérience effectuée en imagerie calcique bi-photonique, Rothschild et collègues en 2013 ont montré une augmentation des corrélations d'activité (Noise Correlation) des neurones chez les souris NMRI mères par rapport aux vierges, alors qu'il n'y a pas de différences en termes de réponse des neurones individuellement en imagerie calcique biphotonique. Cela signifierait que le passage de vierge à mère induirait plutôt des changements globaux de l'activité du réseau cortical que des changements localisés à l'échelle du neurone.

L'ensemble de ces études ont été réalisées chez la souris CBA/CaJ ou la souris NMRI, où il a été possible d'enregistrer des neurones avec des fréquences préférées élevées (<40 kHz) et où une aire UF a été caractérisée. Chez la C57BL/6, Cohen et Mizrahi en 2015 ont enregistré des neurones avec des BF entre 10 et 20 kHz, à la fois chez les souris mères et vierges. Ils ont montré qu'il n'y avait aucune différence de taux de décharge aux sons purs entre les mères allaitantes et les vierges naïves à la fois pour les cellules pyramidales et pour les cellules positives à la parvalbumine (des interneurons inhibiteurs) en réponse à ces sons purs, même si l'activité spontanée est augmentée au niveau des neurones pyramidaux des souris mères. De façon surprenante, lorsqu'ils ont présenté des USVs aux souris naïves et allaitantes, très peu de cellules ont répondu aux appels des petits : 0/77 cellules chez les vierges naïves et 3/70 chez les mères allaitantes. En fait, le principal résultat de cette étude est de montrer que lors du passage de vierge à mère, les effets au niveau du cortex auditif peuvent être une synergie entre plusieurs (ici deux) modalités sensorielles comme l'association son + odeur. Plus récemment, une étude réalisée chez des souris C57BL/6, utilisant une nouvelle souche de souris génétiquement modifiée qui cible spécifiquement les neurones activés par des sons naturels, a montré le recrutement transitoire de neurones sensibles aux USVs (Tasaka et al., 2018). Ici aussi, il est important de noter que la grande majorité des neurones répondant aux USVs ont une BF inférieure ou égale à 20 kHz.

Toutes ces études corticales sur la C57BL/6, ou l'étude Shepard et al. (2016) qui montre que les neurones de l'aire AI et AAF avec des fréquences préférées moyennes (entre 8 et 20 kHz) répondent aussi aux USVs, confirment que les neurones du cortex auditif primaire ne seraient pas uniquement sensibles au contenu spectral des vocalisations quand ils y répondent. Cela a d'ailleurs été montré chez d'autres espèces (Chez le rat et la souris : Sahani & Linden, 2003 ; Machens et al., 2004 ; chez l'oiseau : Woolley et al., 2006 ; chez le cobaye : Laudanski et al., 2012).

En fait, on peut se poser la question de savoir si les réponses du cortex auditif aux vocalisations de souris sont représentatives des traitements du signal acoustique fait par l'ensemble du système auditif. En étudiant les réponses des fibres du nerf auditif, et l'activité multi-unitaire dans le noyau cochléaire et le colliculus inférieur trois étages sous-corticaux, l'équipe de Robert Liu a évalué si des changements dans les réponses aux sons purs et aux vocalisations se produisaient aux différents étages sous-corticaux (Garcia-Lazaro et al., 2015). Leurs données suggèrent qu'il y a un pourcentage de neurones répondant aux sons purs >40kHz et aux vocalisations bien plus important dans le colliculus inférieur (CI) que dans le noyau cochléaire et dans le nerf auditif. Ce résultat fait écho à ceux publiés par l'équipe de C. Portfors en 2009, qui a observé que selon leur fréquence caractéristique (basse, moyenne ou haute) entre 60 et 90% des neurones du CI répondaient aux vocalisations de souris de type USV (Portfors et al., 2009). En revanche, l'équipe de Portfors ne confirme pas la surreprésentation des neurones du CI répondant aux sons purs >40kHz. Dans cette étude, les neurones du CI répondent aux USV alors qu'ils ne répondent pas à des sons purs dans cette gamme de fréquence. Selon eux, les neurones répondraient à la composante cubique ou quadratique de la distorsion produite

dans la cochlée par ces vocalisations. Les neurones dans le CI des souris répondent fortement aux vocalisations conspécifiques même si l'énergie dans les vocalisations est au-dessus des courbes d'accord de fréquence des neurones. Il en résulte une surreprésentation des vocalisations spécifiques à l'espèce dans le CI.

#### e. Au-delà du cortex auditif primaire

Le traitement des signaux de communication acoustique ne s'arrête pas au cortex auditif primaire. Des réponses très robustes aux vocalisations conspécifiques ont été observées dans toutes les aires auditives secondaires chez le cobaye (Grimsley et al., 2012), ainsi que chez le rat (Carruthers et al., 2015) dans le cortex suprarhinal (SRAF), une aire ventrale où projette entre autres AI. Chez la souris, une aire auditive qui pourrait correspondre à SRAF chez le rat, le cortex temporal associatif (TeA), a été étudié par Tasaka et collègues en 2020. Ils ont montré que cette aire associative, adjacent à AI, était activé lorsqu'on présentait des vocalisations de nouveau-nés grâce à de robustes connections fonctionnelles avec AI. Chez les souris mères, les neurones de cette aire TeA répondent d'ailleurs préférentiellement aux vocalisations de nouveau-nés par rapport à d'autres stimuli auditifs, ce qui montrerait une implication importante de cette aire dans la plasticité liée à la maternité et au comportement maternel (Tasaka et al., 2020). Enfin, l'équipe de Robert Liu en 2020, a montré que les neurones du cortex auditif secondaire (AII) étaient sensibles aux paramètres FM des vocalisations de souris (ce qui générerait des réponses Off), et que cette sensibilité était différente chez les souris mères par rapport à des souris naïves (Chong et al., 2020). Chez le primate, des réponses aux vocalisations conspécifiques ont été enregistrées dans de nombreuses aires non primaires (Rauschecker et al., 1995 ; Tian et al., 2001 ; Ghazanfar et al., 2008). Toujours, chez le primate des réponses aux vocalisations ont été aussi très étudiées dans des sous-régions du cortex préfrontal (les aires 12 et 45 du primate) appelée globalement le cortex Préfrontal ventro-latéral (VLPCF : Romanski et al., 2005 ; Romanski & Averbeck, 2009). Cela suggère que tous les traitements réalisés par les aires primaires et non primaires du cortex auditif se poursuivent et s'affinent, peut-être pour former des représentations multimodales ou des représentations moins dépendantes des bruits environnementaux (Romanski & Averbeck, 2009).

### **III. Modulation de l'activité du cortex auditif primaire**

Différents types de modulations peuvent s'exercer sur les aires auditives corticales. On peut distinguer (1) les informations venant d'autres modalités sensorielles (2) des interactions top-down avec des aires corticales non-sensorielles comme le cortex préfrontal (3) des phénomènes de plasticité à court terme ou à long terme lorsque des animaux vigiles sont engagés dans des tâches d'apprentissage ou d'attention.

(1) Les études anatomiques ont décrit des afférences non auditives venant d'autres modalités sensorielles. Cela a été montré soit par des projections directes d'autres aires corticales (Cappe & Barone, 2005 ; Bizley et al., 2007) ou des projections indirectes venant du thalamus (Henschke et al., 2015 ; Kimura, 2020). Ces projections sont suffisamment importantes pour moduler les réponses auditives, voire même pour générer des réponses visuelles dans les aires auditives primaires (Bizley et al., 2007) ou des réponses somesthésiques dans les aires auditives (Brosch et al., 2005).

(2) Les aires auditives primaires reçoivent des informations des cortex associatifs notamment du cortex préfrontal. Chez la souris des projections issues du cortex orbitofrontal (OFC) sont capables de moduler l'activité du cortex auditif primaire (Winkowski et al., 2013). L'activation optogénétique des terminaisons issues de l'OFC dans le cortex auditif primaire, évoque des réponses à la fois dans les cellules pyramidales et les interneurons de AI (Winkowski et al., 2018). Ces données indiquent que le cortex auditif, comme probablement les autres cortex sensoriels primaires sont soumis à l'influence des cortex non-sensoriels, notamment lorsqu'un animal est engagé dans une tâche cognitive.

(3) Dans le cortex auditif, il a été décrit des phénomènes de plasticité assez différents au cours du développement et chez l'adulte. Au cours du développement, lorsqu'un stimulus auditif est présenté de manière continue pendant la période critique des réorganisations massives de la carte tonotopique ont été observées (Zhang et al., 2001, Chang & Merzenich, 2003). Les mécanismes cellulaires et moléculaires de cette plasticité développementale commencent à être disséqués (Barkat et al., 2011, Takesian et al., 2018) et l'implication des systèmes neuromodulateurs dans cette plasticité est souvent envisagée (Takesian et al., 2018).

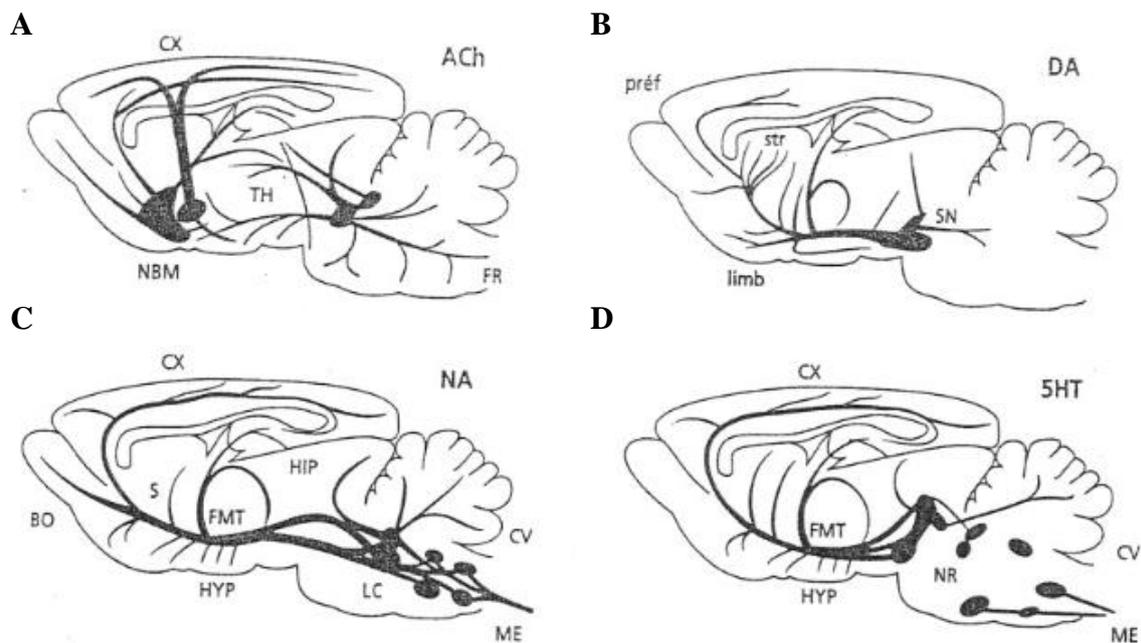
Chez l'animal adulte, des tâches de conditionnement classique ou de discrimination peuvent induire une plasticité du codage fréquentiel (Weinberger, 2004 ; Fritz et al., 2005, 2007a). Des tâches attentionnelles (Otazu et al., 2009 ; Jaramillo & Zador, 2011) entraînent aussi des modulations considérables des réponses neuronales dans les aires auditives primaires (Fritz et al., 2007b). Que ce soit dans des tâches de conditionnement classique, de discrimination et d'attention, le rôle exercé par les systèmes neuromodulateurs est souvent invoqué pour expliquer tout ou partie des effets observés dans le cortex auditif (Weinberger, 2004 ; Edeline 2003, 2012).

### **Les neuromodulateurs (modulateurs des réponses neuronales)**

La neuromodulation est le processus par lequel des systèmes neuromodulateurs bien définis régulent de vastes populations de neurones. Dans le cerveau, ces systèmes ont une organisation anatomique précise (figure 9) : ce sont des noyaux composés d'un petit nombre de neurones qui possèdent des ramifications (axones) parfois très longues pour pouvoir agir simultanément sur un grand nombre de structures. Ce sont donc des neurones différents de

ceux qui libèrent les neurotransmetteurs classiques soit excitateurs (Glutamate) soit inhibiteurs (GABA et Glycine) qui eux représentent la majorité des neurones du cerveau.

De façon générale, la neuromodulation, à la différence de la neurotransmission, modifie localement les propriétés cellulaires ou synaptiques de certains neurones pour que leur excitabilité et/ou la neurotransmission entre eux soit changée : ils influencent ainsi la libération, la dégradation ou la recapture des neurotransmetteurs. Les neuromodulateurs et les neurotransmetteurs agissent chacun sur différents types de récepteurs, mais tandis que les neurotransmetteurs ne visent que les récepteurs ionotropes à action rapide, qui contrôlent l'émission des potentiels d'actions, les neuromodulateurs visent aussi les récepteurs (parfois extra-synaptiques) métabotropes à protéine-G, à action plus lente et prolongée. De plus, si les neurotransmetteurs sont directement libérés dans la fente synaptique pour se lier aux récepteurs post-synaptiques du neurone visé, la libération des neuromodulateurs peut aussi se produire de façon diffuse pour agir sur certaines structures, parfois très éloignées, voire le cerveau entier.



ACh : système acétylcholinergique; DA : système dopaminergique; NA : système noradrénergique; 5HT : système sérotoninergique.  
 BO : bulbe olfactif; CX : cortex cérébral; CV : cervelet; FMT : faisceau médian du télencéphale; FR : formation réticulée; HIP : hippocampe; HYP : hypothalamus; LC : locus caeruleus; limb : structures limbiques; ME : moelle épinière; NMB : noyau médio-basal de Meynert; NR : noyau du raphé; préf : aire préfrontale; S : septum; SN : substance noire; str : striatum; TH : thalamus.

**Figure 9 : Schéma des principaux systèmes neuromodulateurs sur système nerveux central (Coupe sagittale du cerveau du rat) A : Système acétylcholinergique (ACh), B : système dopaminergique (DA), C : système noradrénergique (NA), D : système sérotoninergique (5-HT)**

Dans les paragraphes qui suivent, je décrirai l'action de quatre grands systèmes neuromodulateurs (Noradrénergique, Cholinergique, Dopaminergique et Sérotoninergique) au niveau des cortex sensoriels et en particulier du cortex auditif.

### a. Noradrénaline (système noradrénergique)

La noradrénaline (NA) est principalement synthétisée par les neurones noradrénergiques du locus coeruleus (LC). Ce petit noyau situé dans le tronc cérébral est composé d'un faible nombre de neurones (environ 1500 chez le rat, entre 10000 et 15000 chez l'Homme (Berridge & Waterhouse, 2003)) qui ont la particularité de posséder des axones extrêmement ramifiés pour pouvoir projeter dans un nombre considérable de régions du cerveau : la voie ascendante dorsale projette vers les noyaux du raphé, le thalamus, l'amygdale, l'hypothalamus, le néocortex, l'hippocampe et le cervelet ; la voie descendante innerve plutôt les neurones préganglionnaires sympathiques. Au niveau du système auditif, des études ont montré que les projections du LC atteignent le noyau cochléaire, le colliculus inférieur (Klepper & Herbert, 1991), le corps genouillé médian (Jones, 1991) et le cortex auditif (Papadopoulos & Parnavelas, 1991). Les axones du LC projettent au niveau sous-cortical et cortical, en général au niveau de la couche IV et III et aussi au niveau de la couche I du cortex. Au vu des structures qu'elle vise, la noradrénaline est connue pour jouer au niveau central un rôle sur l'attention, les émotions, le sommeil, et l'apprentissage entre autres.

La noradrénaline agit sur de nombreux récepteurs, divisés en deux familles,  $\alpha$  et  $\beta$ , du fait de leurs affinités relatives à différents agents pharmacologiques (Minneman, 1988 ; Minneman et al., 1981). Quatre sous-types ont été caractérisés : les récepteurs  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$  et  $\beta_2$ . Ces récepteurs noradrénergiques sont tous métabotropes (associés à une protéine G) et sont divisés en deux familles,  $\alpha$  et  $\beta$ , du fait de leurs affinités relatives à différents agents pharmacologiques (Minneman, 1988 ; Minneman et al., 1981). Ces récepteurs peuvent être à la fois post- et pré-synaptiques. Seul le récepteur  $\beta_1$  est considéré comme un récepteur neuronal classique, le récepteur  $\beta_2$  étant considéré comme un récepteur lié aux cellules gliales (Aoki et al., 1994 ; Minneman et al., 1981).

Les récepteurs  $\alpha_1$  sont couplés à une protéine Gq qui régule la phospholipase C. Au niveau du cortex auditif, l'activation seule de ces récepteurs diminue la réponse évoquée des neurones (Manuta and Edeline, 1997). Ils sont capables de réguler la transmission glutamatergique (thalamo-corticale ou cortico-corticale) en agissant au niveau pré-synaptique. Ils peuvent aussi contrôler l'excitabilité des interneurons inhibiteurs au niveau de la couche I du cortex auditif (Salgado et al., 2011).

Les récepteurs  $\alpha_2$  sont couplés à une protéine Gi qui inhibent l'adénylate cyclase. Leur activation au niveau post-synaptique conduit à une hyperpolarisation des neurones du LC, et à une diminution de la synthèse et de la libération de NA (Esteban et al., 1996 ; Sarazan et al., 1989). Au niveau du cortex auditif, ces récepteurs sont également présents sur interneurons inhibiteurs au niveau de la couche II/III et augmentent leur excitabilité (Salgado et al., 2011).

Les récepteurs  $\beta$  (1 et 2) sont couplés à une protéine Gs qui stimule l'adénylate cyclase. Au niveau du cortex auditif, ces récepteurs, une fois activés, ont montré qu'ils facilitaient la réponse évoquée des cellules corticales au niveau post-synaptique (Manuta & Edeline, 1997).

Les effets opposés des récepteurs  $\alpha_1$  et  $\beta$  permettrait ainsi une régulation fine de l'excitabilité des neurones corticaux qui permettrait in fine de diminuer la réponse globale évoquée des neurones du cortex auditif.

Du point de vue fonctionnel, il a été montré que l'application iontophorétique de NA à proximité des neurones du cortex auditif augmente la sélectivité aux fréquences et le seuil acoustique des neurones, à la fois chez les animaux anesthésiés et vigiles. (Manunta & Edeline, 1997, 1999). Cependant, un protocole d'appariement entre un son pur et une stimulation électrique du LC a montré autant de facilitation que de diminutions des réponses évoquées corticale (Edeline et al., 2011), alors qu'une majorité de diminutions avait été observé lors d'un appariement entre un son et un bref pulse de NA (Manunta & Edeline, 2004). Ces effets différents au niveau cortical entre l'application de NA et la stimulation du LC pourrait être expliqués par le fait que la stimulation du LC active aussi d'autres systèmes neuromodulateurs ce qui peut entraîner la libération d'autres neuromodulateurs que la NA au niveau cortical.

Il est connu depuis longtemps (Klepper & Herbert 1991, Behrens et al., 2002) que les premiers étages du système auditif reçoivent une innervation noradrénergique, mais fort peu de travaux ont décrits les effets physiologiques de cette innervation. L'étude de Kössl et Vater 1990 a clairement montré que l'application iontophorétique de NA induit des diminutions de réponses évoquées dans le noyau cochléaire antéro-ventral, souvent accompagnées d'un raccourcissement des latences des réponses générées par une réduction de la variabilité de la latence du 1er PA évoqué (Kössl & Vater, 1990). Du fait de ces actions combinées, les réponses évoquées deviennent plus phasiques en présence de la NA.

#### b. Acétylcholine (système cholinergique)

Chez les mammifères, l'acétylcholine (ACh) est synthétisée par des neurones localisés principalement dans deux régions du cerveau (Mesulam et al., 1983a, 1983b, 1984a, 1984b). La première région, située dans le prosencéphale basal, est composée du noyau septal médian et de la bande diagonale, qui projettent respectivement vers l'hippocampe (Amaral and Kurz, 1985) et le bulbe olfactif (Senut et al., 1989), ainsi que du noyau magnocellulaire basal (NBM) qui projette vers le néocortex et l'amygdale (Wenk et al., 1980 ; Mesulam and Geula, 1988 ; Mesulam et al., 1983b). La seconde région, se trouve dans le mésencéphale rostral, plus précisément au niveau du noyau tegmental pedunculopontin (PPT) et du noyau tegmental latérodorsal (LDT), qui projettent vers le thalamus (Parent et al., 1988 ; Mesulam et al., 1984a, 1984b, 1983b), l'aire tegmentale ventrale, la substance noire, la formation réticulée et le prosencéphale basal (Bolam et al., 1991 ; Gould et al., 1989 ; Woolf, 1991). Du fait du nombre important de structures synthétisant l'ACh présents dans le prosencéphale et le mésencéphale, les projections des neurones cholinergiques sont plus courtes et moins nombreuses. Il a été montré que la libération d'ACh au niveau cortical peut se faire à la fois de façon diffuse, « non synaptique », mais aussi par les synapses cholinergiques (Houser et al., 1985). Au niveau central, l'acétylcholine est surtout connue pour jouer un rôle sur la

mémorisation, l'apprentissage, les états de vigilance et la réponse au stress.

L'acétylcholine agit principalement sur deux types de récepteurs: nicotiques (nAChR) et muscariniques (mAChR). Les récepteurs nicotiques (N1 et N2) sont des canaux ioniques ligand-dépendants, perméables au  $Ca^{2+}$ . D'après l'étude de Disney et al. en 2007, ces récepteurs peuvent réguler la transmission thalamo-corticale au niveau pré-synaptique, et augmenter l'excitabilité d'interneurones GABAergiques au niveau post-synaptique.

Les récepteurs muscariniques sont des récepteurs métabotropes, couplés à une protéine G, qui peuvent induire des réponses excitatrices (M1, M3 et M5) ou inhibitrices (M2 et M4). Les récepteurs muscariniques M1, M3 et M4 sont exprimés au niveau cortical, principalement dans les couches II, III et VI (Buckley et al., 1988). Ils sont présents à la fois au niveau pré- et post-synaptique et sont impliqués dans un certain nombre de processus cognitif (Barak, 2009). L'activation des récepteurs muscariniques semble augmenter la réponse évoquée des neurones corticaux en inhibant la libération de GABA des interneurones de la couche III (Salgado et al., 2007) et V (Kruglikov & Rudy, 2008).

Au niveau du cortex auditif, l'application iontophorétique d'ACh facilite la réponse des neurones à leur fréquence préférée et les fréquences adjacentes (Ashe et al., 1989 ; McKenna et al., 1989) et diminue le seuil acoustique des neurones (Metherate et al., 1990). Toujours dans le cortex auditif, de nombreuses études ont montré l'effet facilitateur produit par l'association d'un stimulus auditif avec l'activation du NBM au cours d'un protocole d'appariement que ce soit chez un animal anesthésié ou vigile (Metherate & Ashe, 1991 ; Hars et al., 1993 ; Edeline et al., 1994). Les réponses au stimulus présenté pendant l'appariement se retrouvaient augmentées. Enfin, d'autres études ont montré que l'activation phasique du NBM associé à la présentation d'un son induisait une réorganisation de la carte corticale (Bakin & Weinberger, 1996 ; Bjordahl et al., 1998) avec une impressionnante sur-représentation de la fréquence présentée lorsque des appariements sont réalisés sur des durées prolongées, par exemple au-delà de 20-25 jours (Kilgard & Merzenich, 1998a), et une facilitation des réponses pour la cadence sonore qui a été utilisée pendant l'appariement (5, 7 ou 15 Hz : Kilgard & Merzenich, 1998b).

Peu d'études se sont intéressées aux effets de l'ACh au niveau sous-cortical. Quelques études ont cependant examiné les effets de l'ACh sur les réponses des cellules du colliculus inférieur (CI) aux stimuli acoustiques, et ont observé une modification des réponses de la majorité (60 à 85%) des cellules IC après application iontophorétique d'agonistes de l'ACh (Farley et al., 1983 ; Habbicht & Vater, 1996). Il a donc été suggéré que l'ACh améliore le rapport signal sur bruit des réponses unitaires à des stimuli spécifiques et peut altérer de façon transitoire l'excitabilité post-synaptique des neurones du CI en général ou en association avec des stimuli particuliers (Miko & Sanes, 2009).

### c. Dopamine (système dopaminergique)

La dopamine (DA) est principalement synthétisée et libérée par une population de neurones très restreinte située dans la substance noire (SN) et dans l'aire tegmentale ventrale (ATV) qui projettent selon trois grandes voies de projections ascendantes du mésencéphale :

- la voie nigro-striée : part de la substance noire vers le striatum (noyau caudé et putamen). Cette voie est impliquée dans le contrôle moteur.
- la voie mésolimbique : part de l'aire tegmentale ventrale vers plusieurs structures du système limbique (hippocampe, amygdale, hypothalamus). Cette voie est principalement impliquée dans mémoire, la motivation et les émotions.
- la voie mésocorticale : part de l'aire tegmentale ventrale vers différentes aires corticales (frontal, olfactif, auditif). Elle joue un rôle dans la cognition (sociale entre autres) et les fonctions exécutives (attention, mémoire de travail, contrôle inhibiteur, etc.).

La dopamine agit sur des récepteurs métabotropes, classés suivant la nature de la protéine G à laquelle ils sont couplés : D'abord la famille des récepteurs de type D1 (D1 et D5) couplés à une protéine Gs qui stimule l'adénylate cyclase et induit souvent une augmentation de l'excitabilité cellulaire. Ces récepteurs ont plutôt une localisation somato-dendritique. Il existe aussi la famille des récepteurs de type D2 (D2, D3, D4) couplés à une protéine Gi qui inhibent l'adénylate cyclase et mène souvent à une hyperpolarisation au niveau postsynaptique, et donc conduit à une baisse de l'excitabilité cellulaire puis à une diminution de la libération de neurotransmetteurs au niveau présynaptique (ou une autorégulation de la libération de la dopamine au niveau des neurones dopaminergiques) (Missale et al., 1998). Les deux familles de récepteurs existent au niveau cortical.

Une étude a montré que dans le cortex auditif, tout comme avec la stimulation du NBM, la stimulation de l'ATV couplé à la présentation d'un son pur augmente la sélectivité et l'activité des neurones à la fréquence de ce stimulus, avec une diminution de la réponse aux fréquences adjacentes (Bao et al., 2001, 2003) Cette même équipe a aussi observé des réponses fortes pour la fréquence du son apparié émergeant également dans une seconde aire corticale, alors que ce stimulus n'évoque au départ pas de réponses fortes et sélectives dans cette seconde aire corticale chez des animaux naïfs.

Par analyse des potentiels de champs locaux, l'équipe de Frank W. Ohl a aussi mis évidence une augmentation des courants intra-corticaux (intra colonne corticale) suite à l'appariement entre la présentation d'un son et l'activation de l'ATV chez la gerbille anesthésiée. Cette augmentation de l'activité corticale persiste même jusqu'à 50 ms après la stimulation de l'ATV et est plus importante dans la zone où la fréquence préférée des neurones est celle du son présenté. Cette modulation du traitement spectral par l'ATV a été observé au niveau des couches infragranulaires Vb/Vla et relayées jusqu'aux couches supragranulaires I/II du cortex auditif (Brunk et al., 2019). Cette même équipe a cherché à comprendre plus particulièrement l'effet d'un agoniste des récepteurs D1/D5 sur l'activité évoquée et spontanée du cortex

auditif, toujours chez la gerbille. En appliquant cet agoniste puis un antagoniste des récepteurs D1/D5, l'étude a montré une augmentation de l'activité évoquée du cortex auditif au niveau des couches II/IV en présence de l'agoniste, effet qui a été ensuite annulé par l'antagoniste. L'équipe suppose que des changements dans la phase du potentiel de champ local (en particulier dans la bande du haut-gamma) sont issues de la neuromodulation dopaminergique des interactions thalamo-corticales (Deliano et al., 2020).

Deux études réalisées par l'équipe de Christine V. Portfors, ont quantifiée les effets de la dopamine au niveau du colliculus inférieur. Dans la première, l'application iontophorétique de DA, a mis en évidence une diminution du taux de décharge évoqué et spontané ainsi qu'une altération de la latence de réponse pour la majorité des neurones enregistrés. De plus, pour 11% des neurones, la DA a significativement altéré la probabilité de déclenchement de décharge en bouffées de potentiels d'action (Gittleman et al., 2013). Dans la deuxième étude, l'activation par optogénétique de l'ATV produit également des changements hétérogènes des réponses neuronales dans le CI. Ces changements seraient ici modulés par des récepteurs de type D2 et non par des récepteurs D1 (Hoyt et al., 2019).

#### d. Sérotonine (système sérotoninergique)

Au niveau du système nerveux central, la sérotonine (5-HT) est principalement synthétisée par un petit nombre de neurones situés dans les noyaux du raphé (dans le tronc cérébral) où ils projettent dans l'ensemble du cerveau et de la moelle épinière. On peut distinguer trois noyaux de neurones : les neurones sérotoninergiques du mésencéphale qui projettent rostralement dans les hémisphères cérébraux, ceux du pont qui se ramifient dans le tronc cérébral et le cervelet ; et enfin ceux de la moelle épinière qui projettent vers toute la moelle. En plus de ses effets (principaux) au niveau périphérique, la sérotonine est connue pour jouer, entre autres, un rôle dans le sommeil (permet la synthèse de mélatonine), l'état émotionnel (les troubles maniaque-dépressifs, la dépression), la mémoire (Buhot, 1997), le comportement social (Keesom and Hurley, 2016).

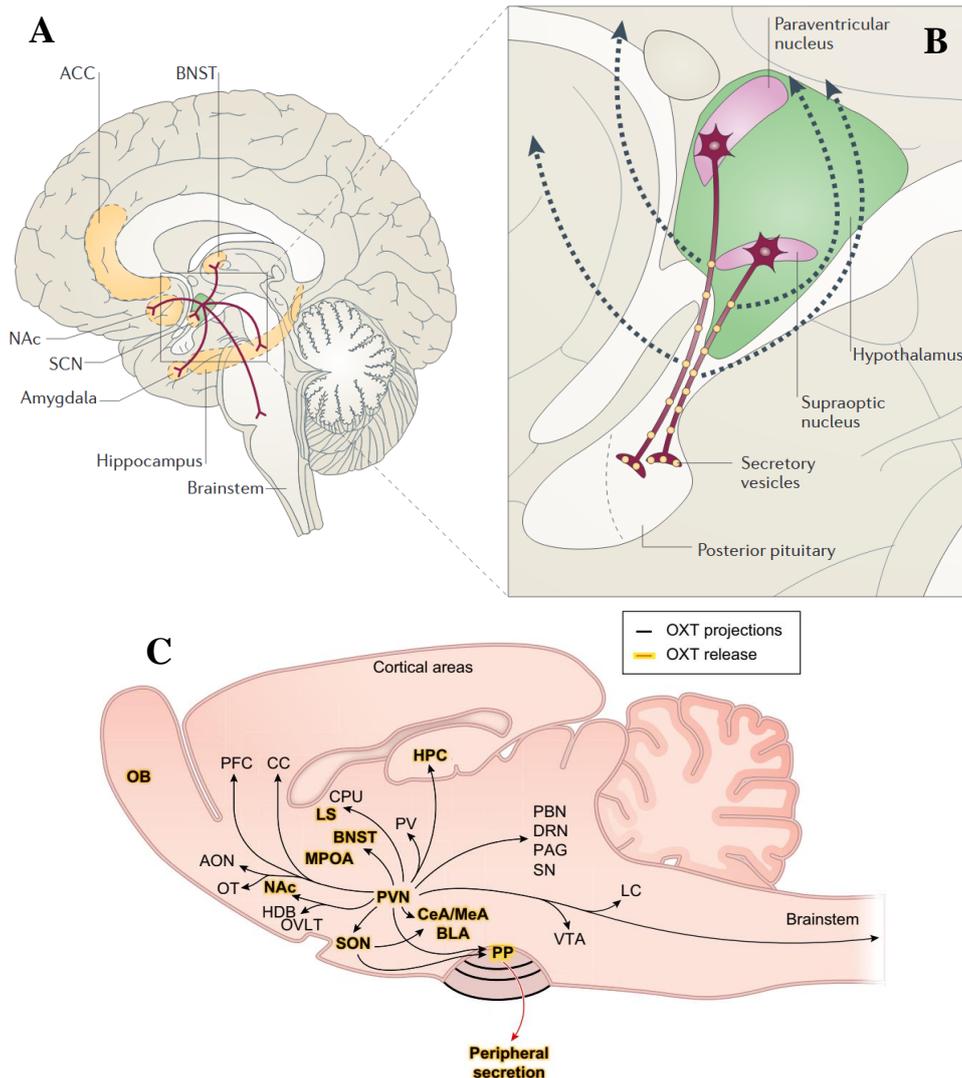
Les récepteurs sérotoninergiques ont été répartis en sept groupes différents, notés 5-HT<sub>1</sub>R à 5-HT<sub>7</sub>R, en fonction des analogies de structure entre les gènes. Hormis le récepteur 5-HT<sub>3</sub>R qui est un récepteur ionotrope, les autres groupes sont des récepteurs métabotropes : La famille des récepteurs 5-HT<sub>1</sub>R et 5-HT<sub>5</sub>R est couplée à une protéine Gi qui inhibe l'adénylate cyclase. Celle des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>R, 5-HT<sub>6</sub>R, 5-HT<sub>7</sub>R est couplée à une protéine Gs qui active l'adénylate cyclase. Et la famille 5-HT<sub>2</sub>R est couplée à une protéine Gq qui régule la phospholipase C. Si tous les récepteurs sérotoninergiques dans le cerveau sont présents sur les neurones post-synaptiques (Pytliak et al., 2011), les sous-types 5-HT<sub>1RA</sub> et 5-HT<sub>1RB/D</sub> sont aussi localisés au niveau des corps cellulaires ou au niveau présynaptique des neurones sérotoninergiques, et exercent donc un rétrocontrôle inhibiteur sur l'activité électrique des neurones sérotoninergiques, qui a pour conséquence de diminuer la synthèse et la libération de 5-HT dans les terminaisons neuronales (Pazos & Palacios, 1985 ; Pazos et al., 1985).

De nombreuses études ont montré que la sérotonine agit à tous les niveaux du système auditif, de la cochlée (Tadros et al., 2007 ; Thompson et al., 1994 ; Hall et al., 2011) au cortex auditif : Une étude a montré que la sérotonine facilitait l'induction de la LTP au niveau des synapses du cortex auditif de rats, particulièrement lorsque ce sont les récepteurs 5-HT<sub>2</sub>R and 5-HT<sub>3</sub>R qui étaient activés (contrairement aux récepteurs 5-HT<sub>1</sub>R) (Lee et al., 2018). Enfin, García-Oscos et al, ont montré in vitro que l'application de 5HT réduisait l'amplitude des courants post-synaptiques inhibiteurs (IPSCs) évoqués ainsi que l'amplitude et la fréquence des courants spontanés et miniatures, ce qui permettrait de conclure que la 5-HT induit une inhibition pré-synaptique et une réduction de la transmission GABAergique post-synaptique médié par les récepteurs 5-HT<sub>1</sub>R et 5-HT<sub>2</sub>R au niveau de la couche II/III du cortex auditif (García-Oscos et al., 2015).

Les effets sous-corticaux de la sérotonine ont été principalement décrit au niveau du colliculus inférieur. L'application iontophoretique de sérotonine conduit la plupart du temps à des diminutions de réponses évoquées par des sons purs (Hurley & Pollak, 1999, 2001) bien que des effets facilitateurs aient aussi été observés (Hurley & Pollak 2001). Les réponses évoquées par des « FM sweeps » sont aussi souvent diminuées, de même que les réponses à des vocalisations de chauve-souris (Hurley & Pollak 2001, 2005a). La latence des réponses évoquées est souvent modifiée mais elle peut être soit augmentée soit diminuée (Hurley & Pollak, 2005b). L'effet de l'application iontophoretique de la sérotonine a aussi été étudié dans les neurones du noyau cochléaire chez le rat (Ebert & Ostwald, 1992). La 5-HT a aussi produit une diminution de l'activité spontanée dans la majorité des neurones enregistrés. Un effet excitateur a également été observé, avec une latence plus longue que celle de l'inhibition, dans 40% des neurones, et parfois les deux effets (inhibition pendant la phase d'application, et excitation (supérieure à la phase contrôle) pendant la phase de récupération) sur un même neurone. Cela montre qu'au niveau du noyau cochléaire les neurones semblent avoir des réactivités différentes à la 5-HT.

#### **IV. L'Ocytocine (OT)**

Un autre neuromodulateur qui est central par rapport au sujet de ma thèse, est l'Ocytocine. Principalement synthétisée et sécrétée par les noyaux paraventriculaire (PVN) et supraoptique (SON) de l'hypothalamus, elle est souvent appelée hormone post-hypophysaire car elle est excrétée aussi par l'hypophyse postérieure (Lee et al., 2009), bien qu'elle agisse à la fois au niveau central et périphérique, comme la plupart des neuromodulateur. Classiquement, on appelle hormones les molécules sécrétées par des glandes endocrines (hypophyse, glandes surrénales, pancréas, systèmes reproducteurs, etc.) qui sont donc libérées dans le sang pour agir dans tout le corps. Ces mêmes molécules sont appelées neuromodulateurs lorsqu'elles sont libérées par des (noyaux de) neurones pour agir sur le système nerveux.



**Figure 10 : Projections du système ocytoninergique**

**A :** Neurones de l'hypothalamus projetant (en rouge) vers différentes structures du cerveau (Tronc cérébral, hippocampe, amygdale, noyau suprachiasmatique (SCN), noyau accubens (Nac), cortex cingulaire antérieur (ACC), strie terminale (BNST))

**B :** Les neurones du noyau paraventriculaire (PVN) et du noyau supraoptique (SON) (en rose) projettent vers l'hypophyse postérieure (neurones rouge) pour libérer l'OT dans le réseau sanguin. Ces mêmes neurones libèrent aussi l'OT de façon diffuse vers des structures plus éloignées. D'après Meyer-Lindenberg et al., 2011

**C :** Schéma des structures cibles de l'OT représenté chez le rat après observation d'expression de récepteurs à ocytocine sur ces structures (« OXT release ») ou observation des prolongements neuronaux du PVN par infection virale (« OTX projections ») D'après Jurek & Neumann, 2018

### a. Rôle périphérique

Les effets de l'OT ont été observés pour la première fois par Henry Dale il y a plus de 100 ans lors d'une étude sur son action dans la contraction utérine (Dale, 1906). Elle principalement connue pour être libérée en grande quantité, après la distension du col de l'utérus, au niveau des muscles lisses de l'utérus pendant le travail pour faciliter la naissance du nouveau-

né, mais aussi au niveau des glandes mammaires pour provoquer l'éjection de lait, après stimulation des mamelles. Une étude a montré qu'elle n'était cependant pas indispensable à la réalisation d'un accouchement (Douglas et al., 2002), mais qu'elle pouvait jouer un rôle dans la durée de l'accouchement et, chez le rat, du délai entre l'arrivée des nouveau-nés (Antonijevic et al., 1995). Récemment, il a été montré que l'OT joue également un rôle dans la douleur en favorisant les effets analgésiques survenant au niveau de la moelle épinière (Tracy et al., 2015). Des neurones parvocellulaires de l'hypothalamus semblent agir sur les neurones sensoriels de la moelle épinière en inhibant les informations nociceptives remontant vers celle-ci (Eliava et al., 2016). Par exemple, l'étude de Nishimura et collègues montre que la ligature partielle du nerf sciatique induit une augmentation de la synthèse d'OT dans l'hypothalamus, et de son activité dans l'hypophyse postérieure et la moelle épinière (Nishimura et al., 2019).

### b. Rôle central

L'Ocytocine est synthétisée dans les neurones de l'hypothalamus avec la vasopressine (AVP). Ces deux peptides composés de 9 acides aminés sont très proches puisqu'ils ont 7 acides aminés en commun (Gimpl & Fahrenholz, 2001). Après leur synthèse, ils sont stockés dans de grandes vésicules à noyau dense (LDCV) répartis dans le soma, les dendrites et les axones des neurones PVN et SON libérant soit l'OT soit l'AVP. Ces grandes vésicules à cœur dense (LDCV) d'OT ou d'AVP sont exocytées en réponse à des concentrations fortes de  $Ca^{2+}$  intracellulaire (Stoop, 2012). Dans le PVN, deux populations de neurones ont été identifiées : les neurones magnocellulaires qui projettent surtout vers l'hypophyse postérieure et les neurones parvocellulaires qui innervent plutôt le SNC. Cependant, il a été montré que des neurones magnocellulaires chez les poissons, les oiseaux et les mammifères projettent également vers des cibles du cerveau antérieur.

Dans le cerveau, les neurones OT projettent dans de nombreuses régions différentes. La cartographie des fibres OT révèle la grande étendue de l'action de l'ocytocine dans le cerveau, ainsi que dans la moelle épinière. En marquant les neurones OT par une injection virale couplée à un fluorochrome (Venus) dans le PVN et le SON chez le rat, d'importantes projections dans le cerveau ont été relevées (Knobloch et al., 2012) : plusieurs noyaux thalamiques paraventriculaires, l'hippocampe dorsal et ventral, le système limbique (subiculum, noyaux septaux latéraux, amygdale), de nombreux cortex (entorhinal, frontal associatif, préfrontal, ...), les bulbes olfactifs, les ganglions de la base, le noyau gris central mésencéphalique, la substance noire, le locus coeruleus, le noyau du raphé, etc. La même analyse réalisée chez des souris *Oxt-IRE5-Cre* (YFP) a montré aussi des projections vers les cortex auditif, visuel, somatosensoriel, et l'hippocampe (Mitre et al., 2016).

Le mécanisme de libération d'OT dans le cerveau n'est pas bien connu. Il pourrait se produire par une libération non synaptique à partir de terminaisons axonales (Grinevich et al., 2015 ; Chini et al., 2017) ou à partir des dendrites et soma neuronaux (Ludwig & Leng, 2006), en

atteignant les régions cérébrales voisines par diffusion paracrine ou par diffusion volumique à travers les tissus, ou via le liquide céphalo-rachidien (LCR) (Carter 2014). Dans le LCR, l'OT est naturellement présent à des concentrations de 10–50 pmol/L, et sa durée de demi-vie y est plus longue (28 min) que dans le sang (1–2 min) (Jones & Robinson, 1982 ; Meyer et al., 1987). Récemment, deux études ont montré que l'OT pouvait se fixer à une protéine de transport (membre de la superfamille des immunoglobulines des récepteurs de reconnaissance de formes) appelée RAGE (Yamamoto et al., 2019). Cette protéine existe sous différentes formes : elle peut être liée à la membrane (mRAGE) des cellules endothéliales des capillaires de la barrière hémato-encéphalique (BHE) et permet donc le passage de l'OT des vaisseaux vers le milieu extracellulaire du cerveau (Higashida et al., 2019) ; ou elle peut être sous forme soluble (esRAGE) pour qu'une fois l'OT fixée, la protéine transporte l'OT dans tout le système vasculaire. En administrant de l'OT à des souris KO pour RAGE, Yamamoto et collègues n'ont observé aucune augmentation de la concentration d'OT dans le cerveau ainsi qu'un déficit en comportement social, notamment le comportement maternel (Yamamoto et al., 2019). Munesue et al., en 2021, ont aussi montré qu'après administration intranasale d'OT, la concentration d'OT avait sensiblement augmenté (non significatif) dans l'espace extracellulaire du cortex préfrontal (mPFC) grâce à RAGE, et que la voie nasale et les voies plasmiques sont toutes deux dépendantes de RAGE. Ils ont aussi montré, *in vitro*, que mRAGE et esRAGE avaient toutes deux des fonctions complémentaires et essentielles dans le transport de l'OT (Munesue et al., 2021). La même équipe a montré ensuite que la délétion du gène codant pour RAGE induisait une hyperactivité chez les souris mâles, et un comportement maternel altéré chez les souris mères surtout après exposition à un stress externe ou endogène (contrainte corporelle ou l'exposition à un nouvel environnement) pendant les premiers jours de la période post-partum (Gerasimenko et al., 2021).

Le récepteur à OT (OTR) est un récepteur RCPG, couplé à une protéine G de type Gq ou Go/Gi. Chez les mammifères, au niveau périphérique, il est situé aux niveaux des appareils génitaux masculins et féminins, du tissu mammaire, du rein, du cœur et du système cardio-vasculaire, du thymus, du pancréas, des glandes surrénales ou encore du tissu adipeux (Gimpl & Fahrenholz, 2001). Au niveau central, les OTRs semblent présents dans de très nombreuses structures, comme récemment résumé par Mitre et collègues chez la souris mâle, femelle vierge et mère (Mitre et al., 2016). Une expression dimorphique du nombre de récepteurs à l'OT et de la liaison entre l'OT et son récepteur sont observées dans certaines régions du cerveau où l'OT est connue pour avoir des effets comportementaux. Globalement, l'expression des OTRs est plus élevée chez les femelles (Carter, 2007 ; Insel et al., 1991 ; Tribollet et al., 1997 ; Zingg & Laporte, 2003), et leur action dépend fortement des hormones stéroïdes et du sexe. Par exemple, des études ont montré que les récepteurs à l'œstrogène étaient présents sur les neurones magnocellulaires du PVN et du SON (Forsling et al., 2003 ; Hrabovszky et al., 2004) et que l'œstrogène régulait l'expression de l'OT au niveau du promoteur du gène de l'OT (Mohr & Schmitz, 1991 ; Richard & Zingg, 1990). Du fait de la présence de ces récepteurs en très grand nombre dans le système limbique (hippocampe,

amygdale, etc.), les cortex préfrontal, auditif, et pyriforme, ainsi que dans le bulbe olfactif, l'OT a suscité un grand intérêt dans les recherches visant à établir son implication en tant que modulateur de comportements sociaux et des liens sociaux. Chez le rongeur, de nombreuses études sur l'OT et son récepteur ont montré leur rôle dans la mémoire sociale (Ferguson et al., 2000, 2001 ; Macbeth et al., 2009 ; Oettl et al., 2016), les comportements sexuels (Caldwell, 1992 ; Nakajima et al., 2014 ; Ackerman et al., 1997), le comportement parental (Keebaugh et al., 2015, Yoshihara et al., 2018), la monogamie chez le campagnol (Insel & Shapiro, 1992 ; Winslow et al., 1993, Duchemin et al., 2017), ou encore la réponse au stress (Jezova et al., 1995 ; Gibbs 1984 ; Williams et al., 1985). Gimpl et Fahrenholz, en 2001, avaient résumé des études sur les effets comportementaux de l'OT chez 4 mammifères et chez l'Homme (voir Table 5 dans l'étude de Gimpl & Fahrenholz, 2001), mais d'autres revues et études ont depuis complété ou validé les effets de l'OT chez les mammifères, dont l'Homme (Lee et al., 2009 ; Jurek & Neumann, 2018 ; Kendrick et al., 2018)

Certains effets observés chez le rongeur et résultant d'une action de l'OT ont aussi été retrouvés chez l'Homme, comme son rôle dans la mémoire sociale (reconnaissance des visages : Guastella et al., 2008 ; Savaskan et al., 2008), la réponse au stress (l'anxiété : Legros, 2001 ; Heinrichs et al., 2003), mais aussi dans certains troubles comportementaux. Les liens entre l'OT et deux troubles du développement amenant à un dysfonctionnement social profond, l'autisme et la schizophrénie (Bakermans-Kranenburg & Van I Jzendoorn 2013 ; Cochran et al., 2013; Guastella & Hickie, 2016 ; Meyer-Lindenberg et al., 2011 ; Striepens et al., 2011) ont particulièrement été étudiés. Tout d'abord, un certain nombre d'études ont rapporté des concentrations d'ocytocine anormales dans des échantillons de sang ou de LCR chez des enfants ayant des troubles du spectre autistique (Modahl et al., 1998 ; Yrigollen et al., 2008 ; Andari et al., 2010 ; Husarova et al., 2016 ; Zhang et al., 2016) et des sujets schizophrènes (Beckmann et al. 1985; Goldman et al., 2008), bien que certaines études aient montré qu'il n'y avait pas forcément de différences de concentration en OT dans le LCR (Glovinsky et al., 1994 ; Sasayama et al., 2012). Hollander et collègues ont ensuite été les premiers à utiliser l'ocytocine comme thérapeutique pour traiter les problèmes sociaux chez des adultes autistes (ASD) : Lorsque des doses intraveineuses d'ocytocine ont été administrées chez des patients ASD lors de certaines tâches comportementales, une réduction des comportements répétitifs (Hollander et al., 2003) et une amélioration de l'apprentissage de la parole ont été observés chez ces patients par rapport à ceux auxquels on avait administré d'un placebo (Hollander et al. 2007). L'administration d'OT intranasale a ensuite été utilisée en grande partie en raison de sa tolérance et de sa facilité d'utilisation. Il a été démontré à plusieurs reprises que des doses uniques d'OT intranasales amélioreraient les mécanismes jugés importants pour la cognition et les comportements sociaux. Andari et al., en 2010, ont montré qu'une dose unique d'ocytocine intranasale administrée à des adultes ASD entraînait une augmentation du temps passé à regarder les yeux de visages présentés, et une amélioration de la prise de décision sociale dans un jeu informatique coopératif et social par rapport à un placebo. D'autres études ont montré le même effet sur la reconnaissance des émotions

(Guastella et al., 2010) ou la perception et la motivation sociale (Gordon et al., 2016) chez des enfants autistes. De même, pour la schizophrénie, un certain nombre d'études ont mis en évidence comment des doses uniques d'OT intranasales peuvent améliorer les performances socio-cognitives (Brambilla et al., 2016 ; Guastella et al., 2015b ; Shilling & Feifel, 2016) de ces patients.

De plus, certaines études chez le rongeur ont montré que l'utilisation d'antipsychotiques tels qu'un antagoniste de la sérotonine (Amperozide) ou un agoniste partiel de la sérotonine (Clozapine) augmentent considérablement les taux plasmatiques d'OT (Uvnas-Moberg et al., 1992), ce qui pourrait indiquer de l'OT agit comme un antipsychotique naturel. D'ailleurs, des études chez l'animal ont démontré que des liens anatomiques spécifiques existent entre l'OT et la sérotonine (5-HT). Les fibres sérotoninergiques provenant des noyaux raphé dorsal et médial du tronc cérébral projettent vers les neurones magnocellulaires dans les noyaux paraventriculaires et supraoptiques de l'hypothalamus, où l'OT est libérée (Sawchenko & Swanson, 1983). Dans cette région, les fibres 5-HT se chevauchent et suivent la distribution des cellules OT (Emiliano et al., 2007). De plus, dans les noyaux du raphé, zone centrale de la synthèse de la 5-HT, les neurones sérotoninergiques possèdent des récepteurs OT qui modulent la libération de la 5-HT (Yoshida et al., 2009). L'OT semble avoir un rôle important dans la régulation inhibitrice des voies sérotoninergiques (Mottolese et al., 2014).

### c. OT et comportement maternel chez le rongeur

Un des effets connus et très étudiés de l'ocytocine est son rôle dans le comportement maternel. Chez le rongeur, le comportement maternel le plus connu (et le plus facilement quantifiable) est celui qui consiste à ramener les nouveau-nés lorsqu'ils sont sortis du nid. Cependant, d'autres comportements peuvent s'observer comme toiletter les nouveau-nés (« grooming »), les couvrir et les protéger (« crouching »), ou encore la fabrication d'un nid (comportement pre-partum).

De nombreuses études qui étudient le lien entre la parturition et le comportement maternel concluent que la présence en très grande concentration d'OT lors de la parturition et post-partum induit directement un comportement maternel (Pedersen et al., 1982; Pedersen & Boccia, 2003), bien qu'on ne puisse pas faire de lien direct entre la libération d'OT au niveau périphérique permettant la contraction utérine ou l'allaitement, et la sécrétion d'OT dans le cerveau. En 1979, Pedersen et Prange ont d'abord démontré que l'injection d'OT dans les ventricules latéraux de rates ovariectomisées (et vierges) induisait, de façon surprenante, un comportement maternel (Pedersen & Prange, 1979). Cependant l'absence totale d'OT chez des souris mères, n'a pas donné de résultats concluants au niveau du comportement maternel. Tout d'abord, l'équipe de Thomas Insel ont observé que les nouveau-nés des souris mères *Oxt*<sup>-/-</sup> ne survivaient pas au bout de 24h à cause de l'absence d'éjection de lait chez ces souris knock-out (KO), mais ils ont néanmoins observé un comportement maternel normal par rapport aux souris contrôles, durant les quelques heures post-partum ou après injection

intrapéritonéale d'OT (Nishimori et al., 1996 ; Young et al., 1997). À la suite de ces observations, des souris KO conditionnelles ont été créées, mais là encore aucun déficit notable de comportement maternel n'a été observé comparé à des souris contrôles (Lee et al., 2008 ; Macbeth, Stepp and al., 2010). Enfin, seuls des déficits de comportement maternel mineurs ont été observés chez des souris KO pour le récepteur à l'OT (Oxtr-/-) avec des latences plus longues à ramener les petits au nid, une augmentation de la latence pour les couvrir (« crouching ») et une durée plus courte de « crouching » par rapport à des souris contrôles (Takayanagi et al., 2005).

Dans des conditions normales, l'OT a donc plutôt un rôle facilitateur du comportement maternel chez les souris mère, comportement qui semble exister même avant la parturition (Pedersen et al., 1994). Cela se traduit aussi par une augmentation du nombre de OTRs dans de nombreuses structures chez mères par rapport aux vierges (chez le campagnol : Insel, 1986 et 1992 ; chez la souris : Mitre et al. 2016) et une augmentation de la libération d'OT notamment au niveau du septum ventral (Landgraf & Ludwig, 1991), du SON (Caldwell et al., 1987 ; Landgraf et al., 1992 ; Mezey & Kiss, 1991), et du PVN (chez la souris : Caldwell et al., 1987 ; chez le campagnol : Wang et al., 2000). Pour terminer, si Pedersen et Prange avaient montré en premier que l'injection d'OT au niveau des ventricules latéraux induisait un comportement maternel chez le rat, d'autres études ont été faites par la suite chez la souris pour montrer ce rôle. D'abord McCarty et al. ont montré une suppression de la réaction d'infanticide chez les souris femelles vierges (comportement connu) après injection systémique ou intraveineuse d'OT (McCarthy et al., 1986 ; McCarthy, 1990), puis d'autres études ont montré un meilleur apprentissage du comportement de ramener les nouveau-nés sortis du nid lorsqu'on administrait de l'OT à des femelles vierges. En 2017, une étude a mesuré le taux d'OT dans l'aire pré-optique (POA) de souris vierges et a montré que le taux d'OT était plus élevé chez des souris vierges qui avaient été exposées à des nouveau-nés plusieurs jours et qui les ramenaient au nid plus rapidement, que des souris vierges qui n'avaient été en présence de nouveau-nés qu'une seule fois (Okabe et al., 2017). Enfin, en 2015, une étude a montré que des souris vierges à qui on a administré de l'OT dans le cortex auditif gauche ou stimulé optogénétiquement les neurones PVN dans le cerveau, avaient un pourcentage de rassemblement des nouveau-nés plus rapide (tests sur 3 jours) et plus grand comparé à des souris à qui on avait administré du sérum physiologique (Marlin et al., 2015). De plus, l'administration d'un antagoniste du récepteur de l'ocytocine dans le cortex auditif gauche de souris expérimentées (ayant déjà réalisées la tâche) n'a pas altéré les performances, ce qui indiquerait que l'OT dans le cortex auditif facilite l'apprentissage initial de la détection des vocalisations des nouveau-nés mais lorsque cette plasticité est installée dans le cortex auditif son rôle serait moins important. Pour finir, Marlin et ses collègues ont analysé les réponses des neurones du cortex auditif et ont montré que l'OT associé à la présentation de vocalisations de nouveau-nés est capable de modifier la balance excitation/inhibition des neurones corticaux. Ils ont aussi remarqué que le taux de décharge des neurones des souris vierges « naïves » était moins élevé que celui des vierges

expérimentées ou des mères en réponse aux vocalisations de nouveau-nés. D'après leur étude, ce taux de décharge peut être augmenté en appliquant de l'OT dans le cortex auditif qui agirait comme un modulateur qui faciliterait la réponse excitatrice des neurones, potentiellement par une désinhibition des neurones corticaux excitateurs.

#### d. Mécanisme d'action de l'OT

L'équipe de Robert Froemke a ensuite étudié le mécanisme d'action de l'OT au niveau de trois structures (*in vitro*, sur des tranches de SNC) : le PVN de l'hypothalamus, le cortex auditif et le cortex piriforme. Ils ont montré encore une fois que l'OT a un effet désinhibiteur dans les trois structures ce qui facilite des réponses évoquées (Mitre et al., 2016). Ils ont aussi démontré dans cette étude que ce mécanisme d'action de l'ocytocine joue un rôle dans la potentialisation à long terme (LTP) dépendante des récepteurs NMDA.

Une autre étude s'intéressant au rôle de l'OT au niveau des systèmes sensoriels a montré que les animaux privés d'informations dans une modalité sensorielle (souris nées et élevées dans le noir ou sans vibrisses) ont une synthèse et une libération réduite d'OT par les neurones PVN de l'hypothalamus, ainsi qu'un taux de décharge des neurones plus faible dans au niveau du cortex sensoriel correspondant à la privation (cortex visuel primaire (V1) ou cortex somatosensoriel (S1)), mais aussi dans les autres cortex où il n'y a pas eu de privation (Zheng et al., 2014). Cependant, lorsqu'ils ont appliqué *in vivo* ou *in vitro* de l'OT sur S1 l'équipe a pu retrouver un taux de décharge (une augmentation de la fréquence des mEPSC) plus élevé dans S1 par rapport aux souris sans vibrisses mais aussi par rapport aux souris contrôles. Ils ont ainsi conclu que l'ocytocine interviendrait dans la plasticité synaptique corticale dans des situations comportementales comme la découverte d'un nouveau partenaire (Choe et al., 2015) ou la présence de nouveau-nés.

Oettl et ses collègues, en 2016, ont d'ailleurs montré que la libération endogène d'OT par les neurones du PVN, augmentait l'exploration olfactive puis la reconnaissance de deux rats de même sexe, ainsi que le taux de décharge des neurones du noyau antérieur olfactif (AON) qui projettent vers les cellules inhibitrices granulaires du bulbe olfactif (Oettl et al., 2016). Le taux de décharge des neurones AON a d'ailleurs été augmenté lorsqu'ils ont appliqué un agoniste des récepteurs à l'OT (TGOT) avec une augmentation du rapport signal sur bruit des cellules granulaires, ce qui suggère que les OTRs agissent sur les neurones AON pour moduler finement les informations olfactives nouvelles impliquées dans la mémoire sociale.

Le cortex préfrontal (PFC) est impliqué dans un large éventail de comportements sociaux, y compris la mémoire sociale (Bicks et al., 2015), la motivation sociale (Moy et al., 2004), la reconnaissance sociale (Thor & Holloway, 1982), ou encore les interactions sociales (Kim et al., 2015). Des études ont aussi évalué son lien avec l'OT. Tout d'abord, il a été montré que le cortex préfrontal médian (mPFC), particulièrement impliqué dans la mémoire sociale, reçoit une contribution directe des neurones libérant de l'ocytocine (Knobloch et al., 2012). Ensuite, bien que des études antérieures aient rapporté que le récepteur à l'OT est principalement

exprimé dans les interneurons positifs pour la famille des hormones corticotropine (CRH) ou pour la somatostatine dans le mPFC (Nakajima et al., 2014 ; Li et al., 2016), Tan et collègues, dans une étude récente, ont utilisé l'électrophysiologie, l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf), l'optogénétique in vivo, et des tests comportementaux pour examiner le rôle d'une population de cellules exprimant l'OTR dans le mPFC (Tan et al., 2019). Ils ont constaté que l'OTR est exprimé dans une population mixte d'interneurons GABAergiques (32,6%) mais aussi de neurones pyramidaux glutamatergiques (46,5%). Des expériences électrophysiologiques complémentaires ont confirmé ces résultats en démontrant que les neurones exprimant l'OTR qui avaient un taux de décharge plus élevé lors de l'application d'ocytocine, présentaient les propriétés morphologiques et électrophysiologiques de neurones pyramidaux. Si l'activation optogénétique in vitro de leurs axones dirigés vers des cibles mésolimbiques (l'amygdale basolatérale (BLA)) avait déclenché des EPSC, l'application d'un antagoniste de glutamate les inhibait ensuite, ce qui prouve que ces neurones étaient bien glutamatergiques. Enfin, les expériences en optogénétiques in vivo ont montré qu'une dépolarisation sélective des neurones du PFC connectés au BLA et sensibles à l'OT diminuait la capacité à distinguer les congénères nouveaux des congénères familiers sans affecter la préférence pour les nouveaux objets ou induire un comportement anxieux (Tan et al., 2019). Cette étude a permis de révéler une nouvelle population distincte de neurones dans le PFC qui sont sensibles à l'OT et envoient des projections glutamatergiques directes aux noyaux de l'amygdale (connus, entre autres, pour médier le comportement social), ce qui montre ici, que l'OT joue bien un rôle dans les comportements sociaux qui mettent en jeu le système cortico- limbique.

Pour terminer, de nombreuses études se sont intéressées aux mécanismes d'action de l'OT au niveau de l'hippocampe puisque que des données suggèrent que l'OT est impliqué dans la mémoire (revue de Lee et al., 2009) notamment spatiale (Tomizawa et al., 2003) et la reconnaissance sociale à long terme (Raam et al., 2017 ; Kogan et al., 2020) et que la concentration en OTRs surtout au niveau de CA2 y est très importante chez les souris mères (Mitre et al., 2016). Initialement, Mühlethaler et ses collègues avaient montré en 1984, que l'OT augmentait le taux de décharge des interneurons inhibiteurs de l'hippocampe (Mühlethaler et al., 1984). En 2013, Owen et al, ont ensuite démontré que l'ocytocine réduisait l'activité spontanée des neurones pyramidaux du CA1 mais augmentait leur taux de décharge évoqué (mEPSP), lorsque les fibres collatérales de Schaffer (SC), responsables des connexions CA3-CA1, étaient stimulées. En appliquant de la bicuculine (antagoniste compétitif des récepteurs GABA<sub>A</sub>), l'équipe a prouvé que l'OT agissait sur les interneurons « fast-spiking ». Cela conduirait à une diminution du taux de décharge spontané et un meilleur rapport signal sur bruit (évoqué/spontané) ainsi qu'à une meilleure reproductibilité temporelle des potentiels d'actions à chaque essai de stimulation d'un même neurone (Owen et al., 2013). L'action de l'OT permettrait alors une amélioration du transfert d'informations transmises dans l'hippocampe ce qui améliorerait le circuit neuronal de la mémoire. Enfin, une étude a montré que l'absence de l'OTR (OTR<sup>-/-</sup>) dans l'hippocampe, induit un déficit dans le

développement de la reconnaissance et la mémoire sociale (Raam et al., 2017) et un déficit dans le mécanisme d'induction de potentialisation à long terme (LTP). Grinevich & Stoop ont résumé, en 2018, les études sur l'effet de la modulation de l'OT au niveau de l'hippocampe et des systèmes sensoriel et, inversement, les effets de l'entrée sensorielle sur la signalisation OT endogène. La contribution du système ocytoninergique endogène est vraisemblablement cruciale dans la modulation de nombreux comportements sociaux qui dépendent des informations sensorielles (Grinevich & Stoop, 2018). Il a aussi été montré que le comportement social chez les mammifères peut activer les neurones à OT de l'hypothalamus (Hung et al., 2017 ; Resendez et al 2020).

Plus généralement, Busnelli et Chini en 2018 ont montré que la protéines G couplé à l'OTR, et finalement la cascade intracellulaire des événements provoqués par l'activation d'OTR, dépendait des niveaux d'expression d'OTR, de la concentration d'OT présente et de l'expression de sous-unités spécifiques de la protéine G. Il serait donc possible d'observer une grande variété d'effets en aval de l'activation des OTRs au niveau de différentes structures du cerveau, en fonction des protéines G et des sous-unités qui y sont exprimées (Busnelli & Chini, 2018).

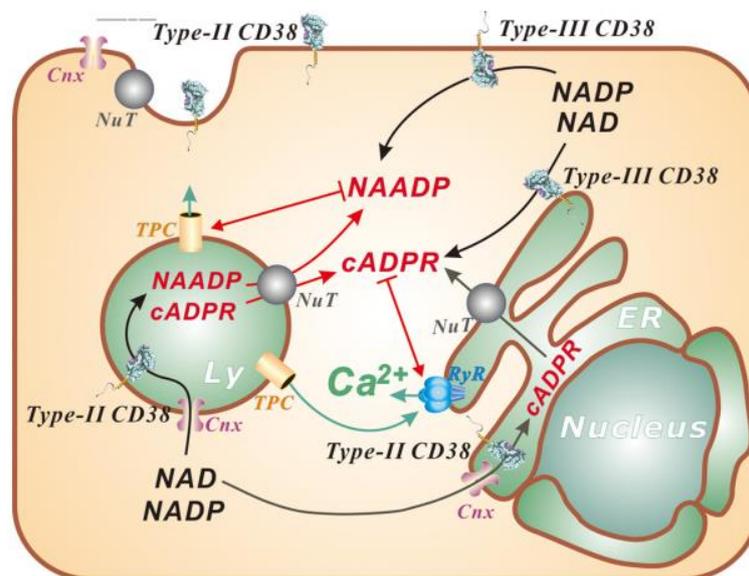
## **V. Dérèglement de la signalisation calcique intracellulaire induisant des défauts de libération d'OT ou des problèmes de comportements sociaux : Exemple de la souris KO CD38 et KO TPC**

### a. Lien entre la protéine CD38 et la sécrétion d'OT

Comme il a été dit précédemment, les grandes vésicules à cœur dense (LDCV) (situées dans le soma, les dendrites ou les axones) des neurones PVN et SON possèdent les réserves d'OT et sont dépendantes d'une grande concentration de calcium intracellulaire des neurones pour pouvoir libérer l'OT (Stoop, 2012). La mobilisation du  $Ca^{2+}$  à partir des réserves intracellulaires représente un important processus de signalisation cellulaire qui est régulé par de nombreuses voies de signalisation. Depuis quelques années, l'enzyme transmembranaire CD38 a été identifié comme un des composants essentiels de l'augmentation intracellulaire de  $Ca^{2+}$  et de la sécrétion d'OT (Jin et al., 2007 ; Higashida et al., 2012a, 2012b).

Bien que la protéine CD38 ait été décrit pour la première fois comme un antigène de surface des lymphocytes (CD signifie Cluster de Différenciation, ou « antigène de différenciation » des cellules sanguines qui est reconnu par des anticorps), il a depuis été retrouvé dans de nombreux tissus, notamment le pancréas (Koguma et al., 1994), les yeux (Khoo & Chang, 1999), ou le cerveau (Fernandez et al., 1998 ; Lee, 1999, 2001 ; Lee et al., 1999). CD38 a été identifié notamment dans les dendrites de nombreux neurones, comme dans les cellules cérébelleuses de Purkinje, ce qui indique que CD38 est impliqué dans la transduction du signal des neurones du système nerveux central (Mizuguchi et al., 1995). Au niveau cellulaire, il est

présent non seulement à la surface des cellules mais également dans les organites intracellulaires (Mizuguchi et al., 1995), et même le noyau (Adebanjo et al., 2000 ; Khoo et al., 2000). CD38 a pour rôle de catalyser la formation de deux seconds messagers essentiels pour l'activation des réserves intracellulaires de  $\text{Ca}^{2+}$  (Lee, 2012). Sous la forme CD38 de type III, l'enzyme hydrolyse le  $\text{NAD}^+$ , également appelé vitamine B3, en ADPribose et/ou le cyclise en ADP-ribose cyclique (cADPR) qui va ensuite agir sur des canaux de type Ryanodine (RyR) situés principalement à la surface des réticuli sarcoplasmique et endoplasmique (Empson & Galione, 1997 ; Higashida et al., 2001 ; Nam et al., 2020). Et sous la forme CD38 de type II (avec une orientation à la membrane inversée à celle du type III), l'enzyme transforme le  $\text{NADP}$  en acide nicotinique adénine di-nucléotide phosphate (NAADP) qui va ensuite agir sur les canaux de type Two-Pore Channels (TPC) situés principalement à la surface des endolysosomes (Cosker et al., 2010 ; Chini et al., 2002 ; Lee, 2012 ; Liu et al., 2017 ; Lin et al., 2017 ; Fang et al., 2018 ; Park et al., 2019 ; Lee & Zhao, 2019).



**Figure 11 : Mécanismes de régulation du  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire par la voie de signalisation CD38**

Le NAADP active les TPCs situés sur les endolysosomes, tandis que le cADPR cible les récepteurs de la ryanodine (RyR) dans le réticulum endoplasmique (RE). Le  $\text{Ca}^{2+}$  libéré par le NAADP à partir des réserves endolysosomales peut amplifier la libération de  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire induite à partir des réserves RE. Ce processus est potentialisé par le cADPR grâce à son action sur récepteurs de la ryanodine. CD38 peut être coexprimé dans la cellule suivant son orientation à la membrane (type II ou III). D'après Lee, 2012.

Par conséquent, ces voies de signalisation du cADPR ou du NAADP dépendants de CD38 jouent un rôle essentiel dans la régulation du calcium intracellulaire (Lee, 2005 ; Cosker et al., 2010) et même nucléaire (Bezin et al., 2008). Cancela et collègues avaient caractérisé pour la première fois le NAADP comme un messager intracellulaire en réponse à une hormone dans les cellules pancréatiques de mammifères permettant d'induire une mobilisation forte de  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire (Cancela et al., 1999). Depuis dans d'autres études, différents types de cellules isolées à partir de souris dépourvues du récepteur CD38 (KO CD38  $-/-$ ) ont montré une altération de l'élévation du NAADP intracellulaire et de la signalisation du  $\text{Ca}^{2+}$  médiée par le

NAADP (Rah et al., 2010 ; Kim et al., 2010 ; Cosker et al., 2010). Une plus faible activité du cADPR a aussi été observé dans les neurones de l'hypothalamus et de neurohypophyse des souris KO CD38<sup>-/-</sup> (Salmina et al., 2010 ; Jin et al., 2007).

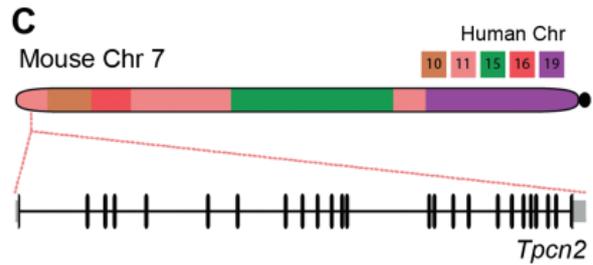
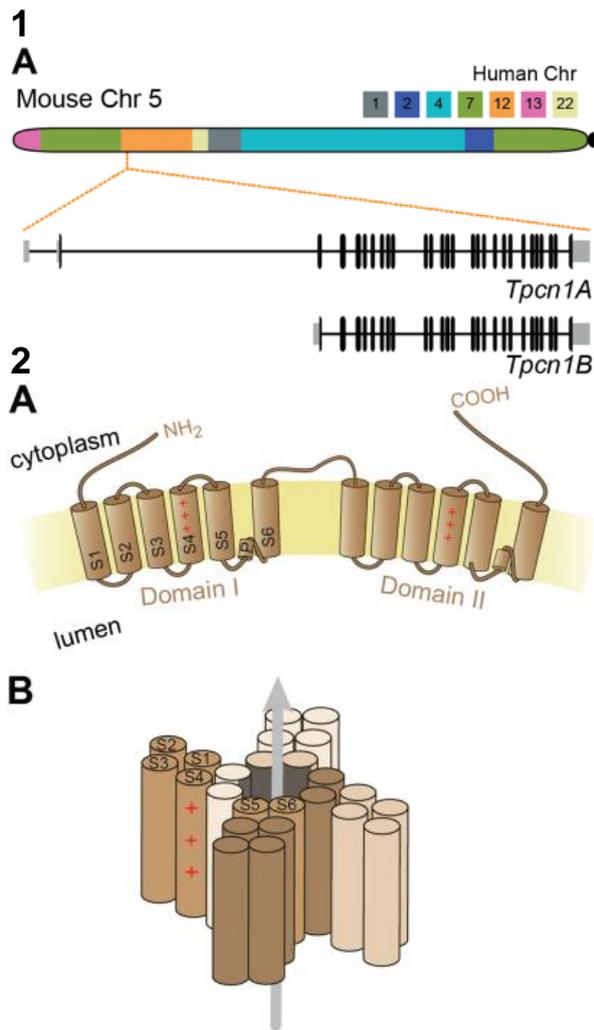
C'est à partir des résultats selon lesquels chez les souris KO CD38<sup>-/-</sup> la sécrétion d'OT dans le sang était réduite et les capacités de comportement social telles que la mémoire sociale étaient altérées, que Jin et ses collègues, en 2007, ont émis l'hypothèse que CD38 joue également un rôle important dans la libération intracérébrale d'OT (Jin et al., 2007 ; Salmina et al., 2010 ; Higashida et al., 2012a, 2012b). Cette hypothèse a été confirmée par des études humaines associant des polymorphismes nucléotidiques uniques (SNP) du gène CD38 humain aux troubles du spectre autistique (Munesue et al., 2010), même si les taux plasmatiques d'OT n'ont pas été forcément retrouvés diminués chez les sujets avec la mutation. A la suite de leurs expériences chez la souris, l'équipe d'Haruhiro Higashida a caractérisé un mécanisme possible induisant la libération d'OT par les neurones de l'hypothalamus : à la suite d'un stress social ou par l'OT elle-même, le messenger cADPR via CD38 et le canal cationique TRPM2 (sensible au cADPR produit par CD38 et aussi à la chaleur) co-régulent la libération d'OT en augmentant le taux de Ca<sup>2+</sup> intracellulaire à partir de réserves calciques (réticuli sarcoplasmiques) possédant des récepteurs à la Ryanodine (RyR) dans les neurones de l'hypothalamus (Zhong et al., 2016 ; Higashida et al., 2019). Cette libération d'OT permet alors de répondre à ce stress social en induisant un comportement social adapté (Shabalova et al., 2020).

Récemment, notre équipe s'est aussi intéressée à la souris KO CD38<sup>-/-</sup> et aux dysfonctionnements observés à la fois au niveau comportemental et au niveau du cortex préfrontal (PFC). Un article, publié en 2019, résume les observations à plusieurs niveaux (physiologique, cellulaire, anatomique et comportemental) concernant les différences entre la souris mâles CD38<sup>-/-</sup> et une souris WT, ayant principalement un fond génétique C57BL/6 (Martucci et al. 2019). Notre équipe a montré tout d'abord des altérations du volume du cerveau chez la souris CD38<sup>-/-</sup>, avec un développement anormal du cortex préfrontal associé à un déséquilibre de la balance Excitation-Inhibition des neurones qui penche en faveur d'une excitation plus élevée, accompagnée d'une plasticité synaptique altérée dans le PFC. De plus, la concentration d'OT et de plusieurs monoamines sont significativement différentes d'une souris WT : le taux d'OT était significativement plus bas dans le sang et la concentration de la norépinéphrine (NE), de la 5-HT, et de deux dérivés de la dopamine, l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC), et l'acide homovanillique (HVA) étaient significativement plus élevés dans le PFC. Pour finir, la souris mâle CD38<sup>-/-</sup> montrait des altérations comportementales dans lesquelles le cortex préfrontal est connu pour jouer un rôle : Lorsque des tests d'interactions sociales ont été effectués, la souris KO adulte avait des temps de contact avec une souris dite « nouvelle » qui diminuent avec le temps, mais une agressivité accrue et une communication acoustique nettement diminuée (mesurée par la quantité d'USV). Pour les tests mesurant l'anxiété (mesure de la latence d'entrée entre une zone éclairée et une zone sombre ; mesure sur un labyrinthe sur-élevé du temps passé dans les bras ouverts ; mesure de la distance parcourue et du temps passé au centre d'un « open-field ») et

le conditionnement de la peur (mesure du «freezing» en conditionnement de peur contextuel), la souris CD38<sup>-/-</sup> avait une réactivité émotionnelle plus élevée qu'une souris WT, mais cependant l'apprentissage de peur conditionnée et sa mémorisation (mesure du «freezing» en conditionnement de peur testée 24h plus tard) n'était pas altérés. L'étude de Martucci et collègues a donc permis de mettre en évidence l'implication de CD38 au niveau de la plasticité synaptique des neurones du cortex préfrontal, mais il a aussi montré son impact sur la concentration en OT et monoamines qui modulent le PFC et donc les comportements sociaux contrôlés, entre autres, par le PFC.

#### b. Les canaux de type Two-Pore Channel (TPC)

Par la suite, notre équipe s'est intéressée plus particulièrement à un canal en aval de la voie CD38, le canal endolysosomal Two-Pore Channel (TPC), qui est connu depuis que les équipes d'Antony Galione et Michael X. Zhu l'ont caractérisé comme cible du NAADP en 2009 (Calcraft et al., 2009 ; Galione et al., 2009). Cette protéine ubiquitaire possède 12 segments transmembranaires putatifs (TM) qui sont séparés en deux domaines homologues de six segments TM, chacun avec une boucle hydrophobe intermédiaire entre le cinquième et le sixième segments (Figure 12). Ils fonctionnent comme des dimères avec chacune des deux sous-unités de protéine TPC contenant deux domaines formant des pores. Cette organisation 6-TM ressemble à celle de tous les membres de la famille de canaux cationiques voltage-dépendants 4-TM et 6-TM (Yu et al., 2005), la séquence des domaines TM du canal TPC étant plus proche de celle des canaux Ca<sup>2+</sup> et Na<sup>+</sup> voltage-dépendants que de celle des canaux K<sup>+</sup>. Trois gènes TPCN ont été identifiés chez les animaux et chez les plantes (seulement TPC1). Le fait que les canaux TPC apparentés soient largement exprimés dans les plantes suggère qu'il s'agit d'une ancienne famille de canaux ioniques qui existait avant la divergence des plantes et des animaux. En revanche, une recherche du génome humain et du chimpanzé n'a révélé qu'environ un tiers de la séquence du gène TPCN3, et chez le rat et la souris le gène TPCN3 est complètement absent, ce qui suggère que TPCN3 n'est pas présent chez toutes les espèces de mammifères. D'autre part, les gènes TPCN sont inexistantes chez certaines espèces animales, telles que les mouches et les nématodes, ce qui indique que ces canaux ne seraient pas essentiels à la survie cellulaire de tous les organismes vivants (Galione et al., 2009 ; Brailoiu et al., 2010).



**Figure 12 : structure génétique et protéique de TPC 1 : Localisation chromosomique et structure des gènes TPC1 (A) et TPC2 (C) de la souris. (haut) Les localisations chromosomiques principales des mêmes gènes chez l'Homme (Chinwalla et al., 2002) par rapport à la souris sont indiquées par les couleurs. (bas) Les gènes zoomés (Tpcn1A, Tpcn1B, Tpcn2) représentent par des barres l'organisation des séquences d'exons des gènes et par la ligne horizontale les introns. Les rectangles gris correspondent aux régions UTR.**

**2 : Topologie et structure des protéines TPC.**

(A) Organisations des deux domaines transmembranaires. S1-S6 représentent les 6 hélices de chaque domaine, et P représente l'hélice pore. S4 possède les résidus de charges positives permettant de faire passer les cations par le pore.

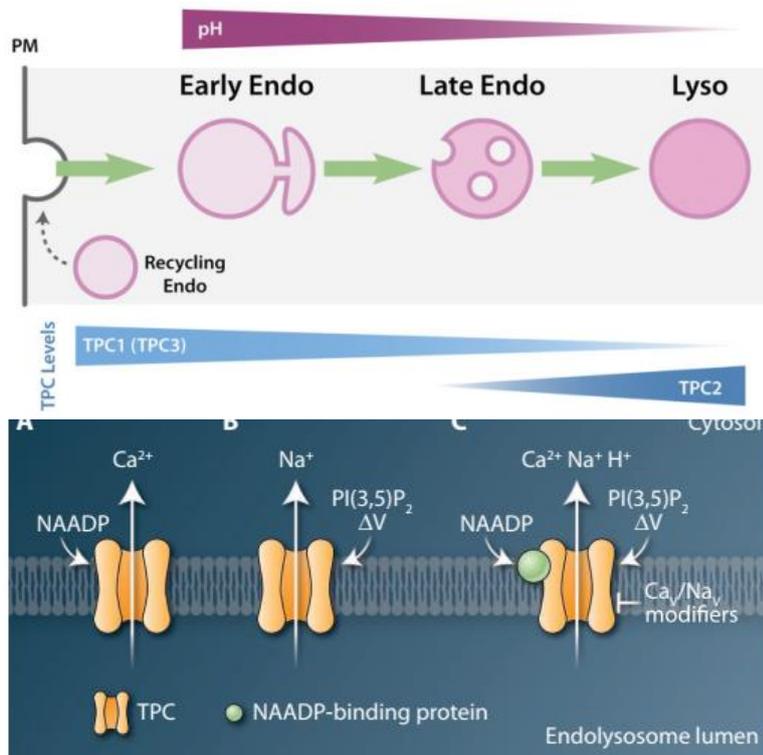
(B) Structure du canal TPC dimérique. Les

monomères (hélices) de chacune des deux protéines sont colorées en marron ou en beige. La région du pore est en gris. La flèche représente le flux ionique de la lumière du canal vers le cytoplasme. D'après Ruas, Galione & Parrington (2015).

Les canaux TPC ont été identifiés comme une famille de canaux cationiques exprimés à la surface de la membrane des endo-lysosomes (Calcraft et al., 2009). Plus précisément, le canal TPC2 est localisé principalement à la membrane des lysosomes, tandis que TPC1 (et TPC3) montre une distribution plus large au niveau des endosomes et tout le système endolysosomal (Calcraft et al., 2009 ; Ruas et al., 2014 ; voir Figure 13). De nombreuses études sont d'accord sur le fait que les canaux TPC sont les principales cibles de l'acide nicotinique adénine dinucléotide phosphate (NAADP). La mobilisation du  $\text{Ca}^{2+}$  à partir des réserves intracellulaires représente un important processus de signalisation cellulaire qui est régulé, dans les cellules de mammifères, par l'inositol-1,4,5-trisphosphate ( $\text{InsP}_3$ ), le cADPR et le NAADP. L' $\text{InsP}_3$  et cADPR provoquent surtout la libération de  $\text{Ca}^{2+}$  à partir des réserves du réticulum sarcoplasmique/endoplasmique par l'activation des récepteurs  $\text{InsP}_3$  et Ryanodine ( $\text{InsP}_3\text{Rs}$  et  $\text{RyRs}$ ). En revanche, la nature des réserves intracellulaires ciblées par le NAADP et l'identité moléculaire des récepteurs du NAADP n'étaient pas encore certaines (Cancela et al., 2003 ; Galione & Churchill, 2002), bien que d'autres études indiquent que le NAADP mobilise le  $\text{Ca}^{2+}$

à partir des compartiments acides liés aux endosomes et lysosomes (Churchill et al 2002 ; Menteyne et al., 2006 ; Cosker et al., 2010). Le NAADP régule donc le stockage et la libération de  $\text{Ca}^{2+}$  endolysosomal via les TPC qui peuvent ainsi déclencher une nouvelle libération de  $\text{Ca}^{2+}$  plus importante des réserves du réticulum sarcoplasmique/endoplasmique (RS/RE), induite par l'activation des  $\text{IP}_3\text{Rs}$  et  $\text{RyRs}$  (Cancela 2001 ; Calcraft et al., 2009, Ruas et al., 2010), par le mécanisme de libération du calcium induite par le calcium (CICR) (Bardo et al., 2006). Zhu et collègues ont démontré que la phase initiale des modifications transitoires intracellulaires de  $\text{Ca}^{2+}$  représente la mobilisation du  $\text{Ca}^{2+}$  à partir des réserves acides (endo-lysosomes) tandis que la phase secondaire résultait de la libération de  $\text{Ca}^{2+}$  à partir des réserves RE via  $\text{IP}_3\text{R}$  (Zhu et al., 2010). A noter que deux études ont essayé de remettre en cause les affirmations avancées par la majorité des études en affirmant que les canaux TPC ne sont ni des canaux  $\text{Ca}^{2+}$ , ni régulés par le NAADP (Wang et al., 2012 ; Cang et al., 2013). Dans ces études, les canaux TPC sont activés par le phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate ( $\text{PI}(3,5)\text{P}_2$ ) et bloqués par l'ATP sensor, et libèrent principalement du  $\text{Na}^+$  : les canaux TPC seraient donc selon eux des « canaux cationiques non sélectifs » plutôt que des canaux sélectifs au  $\text{Ca}^{2+}$  (Morgan & Galione, 2014).

Cependant les études de Margarida Ruas ont montré que la perte des canaux TPC1 et TPC2 endogènes abolissent les réponses  $\text{Ca}^{2+}$  dépendantes du NAADP et qu'en revanche, les courants stimulés par  $\text{PI}(3,5)\text{P}_2$  n'étaient dépendants qu'en partie des TPC, confirmant que les TPC sont bien des canaux perméables au  $\text{Ca}^{2+}$  indispensables pour la signalisation NAADP (Ruas et al., 2015)(Figure 13). L'étude de Gerndt et collègues s'est intéressée uniquement à TPC2, et a conclu que la sélectivité de TPC2 n'est pas fixe mais dépend plutôt de son activateur (agoniste). Il peut être perméable à différents ions en réponse à différents ligands activateurs (Gerndt et al., 2020). De plus, deux études en 2010 et 2014 indiquent que les canaux TPC1 et TPC2 ont des rôles importants mais distincts dans la voie endolysosomale (dans des fibroblastes embryonnaires ou des cellules de rein embryonnaires). Les résultats suggèrent le canal TPC1 joue un rôle dans les voies de transport rétrograde ou de trafic endolysosomal (Ruas et al., 2010 ; Ruas et al., 2014), car il est plus souvent localisé au niveau des endosomes de recyclage et endosomes précoces, tandis que TPC2 qui est principalement localisé au niveau des endosomes/lysosomes tardifs (Ruas et al., 2014, 2015).



**Figure 13 : Localisation des TPC dans le système endolysosomal et son activation**

**A :** Schéma du système endolysosomal où l'acidité de l'organite et la distribution graduées des différents isoformes de canaux TPC détermine les différentes phases endolysosomales. PM : Membrane plasmique ; Endo : Endosome ; Lyso : Lysosome. D'après Morgan & Galione (2014)

**B :** Modèles d'activation et de perméabilité du canal TPC : Gauche (A) Modèle original où le canal est activé par le NAADP et perméable au  $Ca^{2+}$ . Milieu (B) Modèle alternatif où le canal est activé par le  $PI(3,5)P_2$  et perméable au  $Na^+$ . Droite (C) Modèle « hybride » où le canal est corégulé par  $PI(3,5)P_2$  et NAADP,

perméable au  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  (et  $H^+$ ), et est bloqué par des «  $Ca_v/Na_v$  modificateurs ». D'après Patel (2015).

Dans toutes les cellules, le système endolysosomal sert de portail d'entrée et de sortie cellulaire qui équilibre les flux de trafic impliqués dans l'internalisation et l'exportation, la biosynthèse ou encore la dégradation. Le canal TPC est situé sur la membrane des endolysosomes et joue donc un rôle fondamental à la régulation de ces différents flux de transport (Marchant & Patel, 2015). Des rôles supplémentaires pour les TPC ont été identifiés dans le trafic membranaire (Ruas et al., 2010 ; Ruas et al., 2014), l'autophagie (Lu et al., 2013 ; Lin et al., 2015), la détection des nutriments (Cang et al., 2013), l'exocytose (Davis et al., 2012), l'angiogenèse (Favia et al., 2014), la fécondation et l'embryogenèse (Ramos et al., 2014) et la cytokinèse (Horton et al., 2015). Surtout, des travaux récents montrent que les TPC sont également impliqués dans certaines pathologies, y compris la maladie de Parkinson (Hockey et al., 2015), la stéatose hépatique (Grimm et al., 2014) et l'infection à Ebola (Sakurai et al., 2015). Bien que ces maladies aient des pathologies assez distinctes, il existe une convergence mécanistique sur les événements de trafic au sein du système endolysosomal. Les TPC pourraient également se localiser sur les sites de contact membranaire entre les endolysosomes et le RE, étendant potentiellement les rôles des flux locaux de  $Ca^{2+}$  à la régulation des événements de trafic non vésiculaires (Burgoyne et al., 2015).

Au niveau des cellules neuronales, de plus en plus d'études montrent aussi l'importance des réserves acides (endosomes, lysosomes, ...) dans la plasticité synaptique, la signalisation calcium dépendante dans les épines dendritiques ou encore la libération vésiculaire. Goo et collègues en 2017, ont montré que les lysosomes circulent de manière bidirectionnelle dans

les dendrites et sont présents dans les épines dendritiques. Ils peuvent être recrutés sur des épines individuelles en réponse à une activation locale, leur distribution et leur trafic sont donc corrélés avec les protéines membranaires internalisées à proximité des synapses. Enfin, ils ont montré qu'une inhibition de l'activité lysosomale altère leur mobilité et diminue également le nombre d'épines dendritiques (Goo et al., 2017).

Une étude sur les neurones de l'hippocampe a montré que la rétro-propagation des potentiels d'action (bpAP) pouvait provoquer la libération de  $Ca^{2+}$  par les lysosomes des dendrites via le NAADP. Cette libération de  $Ca^{2+}$  permet la sécrétion de cathepsine lysosomale qui à son tour augmente l'activité de la métalloprotéinase matricielle 9 (MMP-9), une enzyme impliquée dans le remodelage de la matrice extracellulaire (ECM) et la plasticité synaptique (Padamsey et al., 2017). De plus, le récepteur métabotropique du glutamate 1 (mGluR1) couplé à la signalisation NAADP provoque la libération de  $Ca^{2+}$  à partir des réserves acides via le recrutement des TPCs (Foster et al., 2018). La signalisation NAADP et le  $Ca^{2+}$  contribuent donc à la plasticité synaptique, à travers le phénomène de potentialisation à long terme (LTP) (ou, alternativement, la dépression à long terme (LTD)), de la force synaptique et de la transmission neuronale (Foster et al., 2018).

### c. Etudes de l'équipe démarrées avant mon stage de Master 2

Notre équipe a donc travaillé sur la souris double mutante (DKO TPC) pour le canal TPC1 et TPC2 (Ruas, Galione & Parrington, 2015) pour mieux connaître le rôle de ce canal au niveau des neurones, au niveau des systèmes cérébraux (hypothalamus et cortex), et son impact au niveau comportemental. En réalisant des tests de comportements sociaux, notre équipe a observé chez les souris mâles DKO TPC une baisse de la motivation sociale et une baisse de l'attrait à la nouveauté lors du test à 3 chambres (Martucci et al., soumis) : les souris DKO TPC passaient en moyenne moins de temps auprès d'un nouveau congénère que les souris WT lorsqu'elles avaient la possibilité de passer du temps soit dans la chambre où était le nouveau congénère soit dans la chambre en présence d'un objet non social ou en présence d'un congénère familial. Et lorsqu'ils ont administré en intranasal de l'OT à ces souris, les souris DKO TPC retrouvaient cette motivation sociale, avec un temps équivalent à celui des souris WT. En effectuant aussi un test de comportement maternel à des souris mère DKO TPC (test de rassemblement de petits), l'équipe a observé un taux de rassemblement des nouveau-nés plus faible ainsi qu'une plus forte latence pour ramener le premier nouveau-né chez les souris mère DKO TPC par rapport aux souris mères WT. Là encore, en leur administrant en intranasal de l'OT les souris mères DKO TPC retrouvaient des résultats équivalents aux souris mère WT.

Le taux d'OT dans le sang de ces souris a été quantifié, et il a été observé un taux d'OT plasmatique significativement très bas chez les souris mâles et femelles DKO TPC par rapport aux souris WT. Pour savoir si le canal TPC jouait un rôle dans la sécrétion ou la libération d'OT, l'équipe a mesuré le taux d'OT endogène de l'hypothalamus ainsi que la concentration d'OT libéré après stimulation des neurones de l'hypothalamus par du KCl (qui induit une libération

immédiate des vésicules contenues dans la cellule). Si le taux endogène d'OT de l'hypothalamus ainsi que nombre de neurones du PVN et du SON positifs à l'OT (par immunomarquage) ne sont pas différents entre les souris DKO TPC et WT, le taux d'OT libérés après stimulation au KCl est significativement plus bas chez les souris DKO TPC par rapport aux souris WT, ce qui confirme bien que le canal TPC n'est pas impliqué dans la synthèse mais dans la libération des vésicules d'OT. Comme les neurones SON et PVN peuvent aussi libérer de la vasopressine (AVP), l'équipe a réalisé les mêmes analyses et a observé les mêmes résultats qu'avec l'OT.

En observant par microscopie électronique la morphologie et l'état autophagique des vésicules de libération d'OT au niveau des terminaisons des neurones de l'hypophyse, l'équipe a observé que les neurones des souris DKO TPC avaient une proportion plus grande de vésicules plus âgées et non libérées que les neurones des souris WT, ce qui prouve encore le défaut des étapes de libération des vésicules d'OT ou d'AVP des neurones où le canal TPC est absent. De plus, grâce à des expériences d'immunomarquage et d'utilisations d'antagonistes des deux isoformes TPC1 et TPC2, l'équipe a montré que les lysosomes étaient les réservoirs calciques intracellulaires privilégiés présents au niveau des sites de libération vésiculaire somato-dendritique, et que la mobilisation du  $Ca^{2+}$  lysosomal via les canaux TPC (particulièrement TPC2) sont importants pour augmenter le « pool » de vésicules à OT et AVP prêtes à être libérées.

A partir de cette étude, notre équipe a proposé un nouveau modèle de sécrétion d'OT et d'AVP par les neurones du SON et du PVN de l'hypothalamus où le glutamate active le récepteur mGluR1, qui est couplé à CD38 et la voie NAADP pour permettre la libération de  $Ca^{2+}$  par les endolysosomes en activant les TPC. Cette libération calcique va, à son tour, déclencher une nouvelle libération de  $Ca^{2+}$  plus importante du RE, ou participer directement aux mécanismes de libération des neuropeptides par le biais de la signalisation locale du  $Ca^{2+}$  lysosomal. L'article en cours de publication montre aussi l'importance de la signalisation lysosomale dans la libération vésiculaire de l'OT et de l'AVP. En cas d'absence du canal TPC, cette voie de signalisation est altérée et n'induit plus la libération suffisante d'OT, ce qui ne permet plus la neuromodulation des circuits impliqués dans le comportement social qui reposent, entre autres, sur des structures comme le cortex préfrontal, l'hippocampe, le bulbe olfactif ou le cortex auditif (Martucci et al., soumis).

## **VI. Objectif de ma thèse**

Sur la base de ces observations, notre équipe s'est intéressée plus particulièrement à l'implication du cortex auditif dans le comportement social, et s'est demandée si ces altérations comportementales chez la souris KO TPC sont en partie dues à un déficit de traitement cortical des sons de communication et si les altérations sont aggravées lors du passage de vierge à mère. En effet, l'OT plasmatique en plus faible quantité chez ces souris KO

TPC pourrait ne plus jouer suffisamment son rôle de neuromodulateur au niveau du cortex auditif. Cela pourrait conduire à un traitement altéré des sons de communication, qui ne permettrait plus d'induire un comportement adapté en réponse à une situation donnée : Par exemple, traiter efficacement les informations sensorielles provenant des nouveau-nés (cris, odeur, etc.) est primordiale à la souris mère pour s'occuper au mieux de sa portée. Nous avons aussi voulu savoir si ces déficits de traitement cortical et de comportement maternel pouvaient être restaurés par l'administration chronique d'OT intranasale pendant les premiers jours post-partum de la souris mère KO TPC. Durant cette thèse, j'ai essayé de répondre à ces questions en analysant les réponses des neurones du cortex auditif primaire de souris WT (vierges et mères) et KO TPC (vierges et mères) à des vocalisations de souris (nouveau-nés et mâles adultes) ainsi que des vocalisations de cobayes (hétérospécifiques). J'ai aussi administré chroniquement (pendant les 9-10 premiers jours post-partum de l'OT intranasale (ou du sérum physiologique) chez les souris mères KO TPC, puis je leur ai fait passer un test de comportement maternel avant d'enregistrer en électrophysiologie les réponses corticales de ces souris mères.

Dans un premier temps, j'ai commencé par comparer les réponses du cortex auditif primaire à des sons purs et des signaux de communication entre des souris vierges WT et des souris vierges KO TPC, pour déterminer s'il n'existait pas déjà des différences chez les souris vierges, avant d'étudier les souris mères. En effet, dans l'étude de Martucci et al., (soumis), en plus des souris mères KO TPC, les souris mâles KO TPC ont aussi des problèmes de comportement social. Les altérations du traitement cortical à ces sons de communication pourraient donc exister chez les mâles comme chez les femelles, chez les vierges comme les mères. Pour cette étude, j'ai utilisé deux techniques d'analyses des réponses des neurones du cortex auditif : l'électrophysiologie extracellulaire sur souris anesthésiée, pour avoir la meilleure analyse temporelle des réponses corticales, et l'imagerie calcique sur souris vigile, pour évaluer au niveau populationnel les possibles différences de réponses corticales aux vocalisations entre les deux groupes. Comme le canal TPC est impliqué dans la régulation intracellulaire en  $Ca^{2+}$ , nous espérons aussi avec l'imagerie calcique, observer des différences liées à la concentration intracellulaire en calcium dans le soma des neurones du cortex auditif chez les souris KO TPC. Ces différences pourraient s'observer sur la concentration basale en  $Ca^{2+}$  mais aussi pendant les réponses évoquées, avec un taux de calcium mobilisé plus faible (fluorescence plus faible) ou une réponse plus courte (fluorescence revenant à son niveau de base plus rapidement).

J'ai ensuite étudié les réponses corticales à des sons purs et des sons de communication entre des souris vierges WT et mères WT en électrophysiologie, ce afin de déterminer les changements qui s'opèrent lors du passage vierge à mère. Décrire des différences de réponses corticales entre les souris vierges à mères existe déjà dans la littérature (Liu et al., 2006 ; Liu & Schreiner, 2007 ; Shepard et al., 2016 ; Rothschild et al. 2013) mais très peu d'études ont travaillé sur la maternité chez la souris C57BL/6 (le fond génétique principal de notre souche), hormis celles utilisant des souris génétiquement modifiées (Tasaka et al., 2018, 2020). Pourtant cette souris est utilisée dans presque toutes les études de comportement social alors

qu'il a été montré qu'une perte auditive liée à l'âge survient tôt (vers 3-5 mois) chez la souris C57BL/6, en commençant par les fréquences les plus élevées (Mikaelian et al. 1974; Henry et Chole, 1980). Avec cette étude, nous voulions vérifier que les neurones du cortex auditif des souris WT, vierge et mère, répondaient bien aux sons de communication acoustique et notamment aux USVs de souris.

Enfin, j'ai comparé les différences corticales observées dans le traitement des signaux de communication observées chez les souris WT lors du passage vierge à mères avec celles du passage vierge-mère des souris KO TPC, toujours en électrophysiologie. Notre hypothèse est que l'OT joue un rôle crucial dans le traitement cortical des sons de communication chez les souris mères. Or, les souris KO TPC ont un taux OT plasmatique plus faible que les souris WT. Donc, si nous observons des différences entre les souris vierges WT et vierges KO TPC, nous devrions nous attendre à une aggravation des altérations corticales liées au traitement des signaux de communications chez les souris mères KO TPC (par rapport aux vierges) à cause du faible taux en OT. De plus, pour savoir si l'OT joue bien un rôle au niveau du traitement cortical des sons de communication, j'ai aussi administré de l'OT chroniquement (pendant 9-10 jours) à des souris mère KO TPC pour restaurer un « phénotype WT » dans les réponses du cortex auditif mais aussi dans le comportement social. Des études ont rapporté les effets dus à l'administration aigue d'OT sur les réponses corticales et comportementales (Marlin et al, 2015 ; Oettl et al., 2016 ; Martucci et al., soumis), par rapport à celles qui réalisent une administration chronique d'OT. Nous pensons que les modifications corticales liées à l'OT peuvent aussi se mettre en place progressivement durant toute la maternité : La co-occurrence du pic d'OT à la parturition, puis aux pics survenant pendant les périodes d'allaitement (au-delà de P15) avec les cris des nouveau-nés pourraient déclencher des phénomènes de plasticité dans le système auditif mais aussi potentiellement aux étages sous-corticaux. C'est donc cette neuromodulation liée à l'OT que nous cherchons à étudier.

## Résultats



Les résultats de ma thèse sont divisés en trois parties, chacune étant présentée sous forme d'article :

Le premier article compare les réponses du cortex auditif primaire à des sons purs et à des signaux de communication entre des souris vierges WT et des souris vierges KO TPC pour établir des différences potentiellement déjà existantes chez les souris vierges, avant d'étudier les souris mères. Dans cette étude, j'ai utilisé deux techniques pour étudier les réponses des neurones du cortex auditif : l'électrophysiologie extracellulaire sur souris anesthésiée et l'imagerie calcique sur souris vigile :

#### Article 1 :

Royer J, Renard A, Huetz C, Callebert J, Edeline JM, Bathellier B, Cancela JM. **Altered cortical discrimination between communication sounds in a mouse lacking two-pore channels: a two-photon and electrophysiological study.**

Le deuxième article, publié en 2021 (Royer et al., Neuroscience 2021), étudie les réponses corticales à des sons purs et à des signaux de communication entre des souris vierges WT et mères WT en électrophysiologie pour déterminer les changements qui s'opèrent lors du passage vierge à mère. Cette étude sert de socle pour décrire les modifications corticales liées à la maternité chez la souris WT (de fond génétique C57BL/6) qui a été définie pendant ma thèse comme la situation contrôle :

#### Article 2 :

Royer J, Huetz C, Occelli F, Cancela JM, Edeline JM. **Enhanced Discriminative Abilities of Auditory Cortex Neurons for Pup Calls Despite Reduced Evoked Responses in C57BL/6 Mother Mice.** Neuroscience. 2021 Jan 15;453:1-16.

Le troisième article, écrit en français, compare dans un premier temps les différences de réponses corticales aux signaux de communication observées en électrophysiologie chez les souris WT lors du passage vierge à mères avec celles observée lors de ce passage vierge-mère des souris KO TPC. Dans un deuxième temps, cette étude évalue les réponses comportementales et corticales de mères KO TPC qui ont reçu de l'OT ou du sérum physiologique par injection intranasale, ce de façon chronique (durant 9-10 jours post-partum) :

#### Article 3 :

Royer J, Huetz C, Cancela JM, Edeline JM. **Modifications liées à la maternité dans le traitement cortical des signaux de communication : Altérations chez la souris n'exprimant pas de canal TPC et restauration partielle par un traitement chronique d'Ocytocine.**



## **Altered cortical discrimination between communication sounds in a mouse lacking two-pore channels: a two-photon and electrophysiological study.**

*Juliette Royer<sup>1</sup>, Anthony Renard<sup>2</sup>, Chloé Huetz<sup>1</sup>, Jacques Callebert<sup>3</sup>, Jean-Marc Edeline<sup>1\*</sup>, Brice Bathellie<sup>2\*</sup>, José-Manuel Cancela<sup>1\*</sup>*

<sup>1</sup>Université Paris-Saclay, CNRS, Institut des Neurosciences Paris-Saclay, 91190, Gif-sur-Yvette, France.

<sup>2</sup>Institut Pasteur, INSERM, Institut de l'Audition, 63 rue de Charenton, 75012 Paris, France.

<sup>3</sup>Service de Biochimie, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, and INSERM UMR942, Hôpital Lariboisière, Paris, France.

**Running title:** Cortical processing of communication sounds in TPC KO mice.

\* These authors equally contributed to the work.

***Corresponding Author:***

Jean-Marc Edeline, Université Paris-Saclay, CNRS, Institut des Neurosciences Paris-Saclay, 91190, Gif-sur-Yvette, France.

Number of pages: 31

Number of Figures: 4

Supplementary figures: 4

Number of words in the abstract: 247

## Abstract

Abnormal integration and processing of sensory stimuli have been suggested to play an important role in social behavior of patients with autism spectrum disorder (ASD), which could be explained by an altered activity in cortical networks. Among the signaling pathways involved in ASD,  $\text{Ca}^{2+}$  store dysregulations have been pointed out although the molecular components remain to be identified. Here, we explored the role of the lysosomal calcium store in auditory cortical processing by using a mouse lacking endolysosomal two-pore channels (TPC KO), whose coding chromosomal regions in humans have been associated with ASD. We investigated the functional role of TPCs in the evoked responses of primary auditory cortex neurons to the presentation of communication sounds in TPC KO mice and in WT mice using two different techniques. In two-photon calcium imaging, cortical neurons of TPC KO mice were less selective for mouse calls and tended to respond to more categories of stimuli compared to WT mice. In electrophysiological recordings, cortical neurons of TPC KO mice had lower temporal reliability to communication sounds and showed reduced responses to mouse calls. Both calcium imaging and electrophysiological data pointed out that neurons of TPC KO mice have a lower signal-to-noise ratio and a degraded encoding of pup calls compared to WT neurons. Together, these results reveal that TPC KO channels have an important role in cortical processing of communication sounds, and those alterations in the intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  regulation is fundamental for understanding the cortical deficits leading to abnormal social behaviors.

## Introduction

Strong and reliable neuronal responses to environmental stimuli are required to generate appropriate behaviours. When responses in sensory systems are altered, behavioural disorders can emerge. Indeed, sensory features are frequently considered in the clinical symptoms observed in people diagnosed with autism spectrum disorder (ASD) (Tillmann et al., 2020). As sensory deficits have also been recognized as an integral part of the diagnostic criteria for ASD (DSM-5; American Psychiatric Association 2013) determining the neural mechanisms that generate these sensory alterations will be essential to better understand autism. In addition to human research in patients, animal models, and in particular murine models, allow us to study alterations in sensory systems and their mechanisms, which can provide insight into the functioning of the circuits involved in ASD.

In the auditory modality, human studies recording mismatch negativity (MMN) while presenting emotionally spoken syllables and acoustically matched nonvocal sounds found no MMN response to emotional syllables and reduced MMN to nonvocal sounds in people with ASD compared to healthy matched controls (Fan & Cheng, 2014). In addition, weaker angry MMN amplitudes were associated with more autistic traits. Researchers have also reported delayed latencies of event-related potentials (ERPs) in ASD in response to auditory stimuli using EEG and MEG (Roberts et al., 2010; Whitehouse & Bishop, 2008), and this pattern of auditory processing is associated with language functioning (Oram Cardy et al., 2008). Another MEG study has shown impairments in vocal affect recognition with ASD patients, which suggests that deficits in auditory processing compromise the extraction of socially relevant cues from the auditory environment (Demopoulos et al., 2015).

In the animal literature, the cortical processing of communication sounds is essential for normal social behaviour (Ehret, 2006, chapter4; Marlin et al., 2015; Dunlap et al., 2020). In addition, in animal models exhibiting deficiency in social behaviour, alterations in sensory processing have been reported (Geramita et al., 2020; Mei et al., 2016; Chen et al., 2020; Scott et al., 2018, 2020; Thye et al., 2018). At the neuronal level, the mechanisms underlying these alterations in sensory processing have been rarely investigated.

Several lines of evidence suggest that alterations in the regulation of intracellular calcium stores can have an important impact on the way neurons process synaptic inputs and have been involved in ASD (Nguyen et al., 2018). Amongst the signalling pathways involved, the enzyme CD38 is recognized as an important regulator of the endoplasmic reticulum (ER) and the lysosomal calcium stores (Lee 2006; Cosker et al., 2010). CD38 modulates these  $Ca^{2+}$  stores by producing second messengers that modulate ryanodine receptors (RyR) activity, such as by ADPribose cyclic (cADPR) and the endo-lysosomal two-pore channel (TPC) by nicotinic acid adenine di-nucleotide 2'-phosphate (NAADP) (Calcraft et al., 2009; Brailoiu et al., 2009; Zong et al., 2009). In recent years accumulating evidences have been published showing that CD38 is involved in ASD. For instance, a common single-nucleotide polymorphism (SNP) has been associated with a familial form of autism (CD38 rs3796863, Higashida, 2016; Higashida et al., 2019; Krol et al., 2021). Additionally, people who have the

risk allele (CC) have a lower expression of CD38, lower plasma levels of OT and have more severe symptoms than ASD patient with the AA allele (Higashida, 2016).

In line with these results, a recent study (Martucci et al., 2019) has shown that mice with a deficit in CD38 expression show alterations in the excitation-inhibition balance of the pyramidal neurons of the prefrontal cortex (PCF), a structure involved in social behaviour. Mice lacking CD38 also display alterations in social behaviour and emotional responses. However, since the enzyme CD38 is important in regulating several  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent pathways, it is of primary importance to evaluate whether the endolysosomal TPCs, one of its main signalling components, could also be linked to alteration in neuronal functioning. Indeed, the functional role of all the intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  stores involved in neuronal integration is not fully understood. Lysosomes are recognized as important organelles in protein degradation, membrane repair and as a source of  $\text{Ca}^{2+}$  for cell signalling (Churchill et al., 2002; Cosker et al., 2010; Patel, 2015; Foster et al., 2018). In various cell types, the endosomes and lysosomes release  $\text{Ca}^{2+}$  through the activation of the endolysosomal TPCs, modulated by NAADP (Cancela et al., 1999; Menteyne et al., 2006; Calcraft et al., 2009; Brailoiu et al., 2009; Zong et al., 2009). The TPCs are present in numerous species with three known isoforms (TPC1, TPC2, and TPC3). In human and rodents only TPC1 and TPC2 are expressed, displaying different ionic selectivity in part depending on how they are activated either with NAADP ( $\text{Ca}^{2+}$  selectivity) (Galione, 2019; Gerndt et al., 2020) or  $\text{PI}(3,5)\text{P}_2$  ( $\text{Na}^+$  selectivity) (Gerndt et al., 2020; Wang et al., 2012; Cang et al., 2013). The role of these channels in the central nervous system remains largely unknown, but one can suspect that they alter the activity of cortical networks and social behaviour. For instance, with regards to TPCs, the two chromosomal regions coding for the isoforms of TPC (TPC1, Chr. 12 q24.13 and TPC2, Chr. 11q13.3) expressed in humans have been identified as regions of the human genome linked to copy number variation (CNV) in autism and in children with language development delay or hearing loss (Khan et al., 2007, Shink et al., 2005, Chilian et al., 2013).

To investigate the functional role of TPC channels in the cortical processing of communication sounds, we took advantage of a double KO mutant mouse lacking TPC1 and TPC2 channels. These mice have a normal phenotype but show deficits in social behaviors. In addition, plasmatic levels in oxytocin (OT) are particularly low (Martucci et al., submitted) and the compromise release of this neuropeptide by hypothalamic neurons might also have consequences on the functioning of cortical neurons.

In the present study, we compared the sound evoked responses of primary auditory cortex neurons in TPC KO mice and in WT mice using, two different techniques: two-photon calcium imaging and electrophysiological extracellular recordings. Calcium imaging results indicated that cortical neurons in TPC KO mice are less selective for mice calls and respond to more stimuli than neurons from WT mice. Electrophysiological recordings revealed that TPC KO neurons express weaker responses, with lower spike timing reliability and lower abilities to discriminate mice calls. These results constitute another step toward proposing a functional role in the CNS in relationships with the neural mechanisms of ASD.

## Methods

### Subjects and audiogram

These experiments were performed under the national license A-91-557 (project 2017-31 and 2018-02) and using the procedures N° 32-2011 and 34-2012 validated by the Ethic committee N°59 (CEEA Paris Centre et Sud). All surgical procedures were performed in accordance with the guidelines established by the European Communities Council Directive (2010/63/EU Council Directive Decree).

Data are from 16 WT female (C57BL/6 background mice) and 18 TPC KO female mice (9 to 24 weeks old; mean = 14.3; median = 11.7) weighting from 21 to 31g (WT median 22g; TPC KO median 23g). TPC1/2<sup>-/-</sup> (TPC KO) mice were generated by crossing mutants homozygous for the TPC1 isoform (Tpcn1<sup>T159</sup>) (Ruas et al., 2015) obtained by the European Mouse Mutant Archive (EMMA) and mutants homozygous for the TPC2 isoform (Tpcn2<sup>YHD437</sup>) (Calcraft et al., 2009). The TPC KO mice and WT mice came from our own colony housed in a humidity (50-55%) and temperature (22-24°C)-controlled facility on a 12h/12h light/dark cycle (light on at 7:30 A.M.) with free access to food and water. The day of extracellular electrophysiology experiments, the animal's pure-tone audiogram was determined by testing auditory brainstem responses (ABR) under Ketamine/Xylazine anesthesia as previously described (Chausseot et al., 2015, Royer et al., 2021). A software (RTLab, Echodia, Clermont-Ferrand, France) allowed averaging 500 responses during the presentation of five pure-tone frequencies (between 4 and 32 kHz) delivered by a speaker (Knowles Electronics) placed in the animal right ear. The auditory threshold for each frequency was the lowest intensity where a small ABR wave could still be detected (usually waves II and III). For each frequency, the threshold was determined by gradually decreasing the sound intensity (from 80 dB down to -10 dB SPL). For their age (2-5 months), all the animals used had normal pure-tone audiograms for the C57BL/6 genetic background (Chausseot et al., 2015).

### Acoustic stimuli

In extracellular electrophysiology, acoustic stimuli were generated using MATLAB, transferred to a RP2.1-based sound delivery system (TDT, sampling rate 195 kHz) and sent to an electrostatic speaker driver (ED1) and electrostatic speaker (EC1, Tucker Davis Technologies, Alachua, FL). The polyethylene tube at the output of the speaker was inserted in the mouse's right ear. Calibration of the speaker was made using pure tones recorded by a Bruel & Kjaer microphone 4138 coupled to a preamplifier B&K 2670 and a digital recorder (Marantz) on the Avisoft software.

Spectro-temporal receptive fields (STRFs) were first determined using 129 pure-tones frequencies scaled with a gamma function presented at 75 dB SPL covering more than 5 octaves (2 to 80 kHz). Each frequency was repeated 20 times at a rate of 4Hz in pseudorandom order. The duration of these tones over half-peak amplitude was 15 ms and the total duration of the tone was 50 ms, so there was no overlap between tones.

We played a set of 18 pup and 18 adult male mice calls extracted from a large library of pup and adult calls initially described by Liu and colleagues (2003). These calls were already used in several electrophysiological studies performed on CBA/CaJ mice (Liu & Schreiner, 2007; Lin & Liu, 2010; Shepard et al. 2015, 2016) and on C57BL/6 mice (Royer et al., 2021). Both the pup and adult calls were 12-65 ms in duration and were in the 60-80 kHz range (see figure 9 in Liu et al. 2003). They differ in terms of their degree of frequency modulation at onset and in terms of their rise-fall time. We also used a set of heterospecific vocalizations consisting in four guinea pig whistles. The maximal energy of these four whistles was in the same frequency range (typically between 4 and 26 kHz), they only displayed slight differences in their spectrograms, but their temporal envelopes clearly differed as shown by their waveforms (see figure 1 from Aushana et al., 2018). These stimuli have been used in previous electrophysiological studies (Aushana et al., 2018; Souffi et al., 2020; Royer et al., 2021). In calcium imaging, all sounds were delivered at 192 kHz with a NI-PCI-6221 card (National Instrument) driven by Elphy (G. Sadoc, UNIC, France) through an amplifier and electrostatic speaker (ES1, Tucker Davis Technologies, Alachua, FL). Sounds were calibrated in intensity at the location of 2 cm of the mouse ear using a probe microphone (Bruel & Kjaer). Pure tones at 2, 4, 8, 16, 24, 32, 48 and 64 kHz with a gamma function presented at different intensity (55, 65, 75 and 85 dB SPL for each tones), the 18 pup calls, 18 adult calls and 4 guinea pig calls (as described above) were played in pseudorandom blocks and repeated 20 times.

### **Two-photon calcium imaging in awake mice**

5 weeks before imaging, mice were anaesthetized under a mix of ketamine (Ketasol, 80 mg/kg) and medetomidine (Domitor, 1mg/kg). After injection of lidocaine under the skin, the left masseter was removed, and a large craniotomy (5 mm diameter) was performed above the auditory cortex with body temperature maintained constant at 37°C using a thermal blanket. Three injections of 150 nl of AAV1.Syn.GCaMP6s.WPRE virus obtained from Vector Core (Philadelphia, PA, USA) and diluted x10 were performed with glass micropipettes and a programmable pump (Micro 4; World Precision Instruments) at 30 nl.min<sup>-1</sup>. The craniotomy was sealed with a glass window, a metal post was glued in place using cyanoacrylate, and then the exposed skull and base of the post were covered with Super-Bond (C&B, Sun Medical Co., Ltd.). Two weeks before imaging, mice were trained every two days to stand still, head-fixed from 15 min to 1h per day. Then mice were imaged 1–2 h per day with a total of 1 to 5 sessions per mouse. Imaging was performed using a two-photon microscope (Femtonics, Budapest, Hungary) equipped with an 8 kHz resonant scanner combined with a pulsed laser (MaiTai-DS, SpectraPhysics, Santa Clara, CA, USA) tuned at 900 nm. Images were acquired at 31.5 Hz during blocks of 1 min during which 500 ms pseudorandomly chosen sounds were presented with 1.5 s intervals. Blocks were interleaved with an 18 s pause repeated until all sounds were played 20 times.

## **Extracellular electrophysiology in anesthetized mice**

Cortical extracellular recordings were obtained from arrays of 16 tungsten electrodes ( $\phi$ : 33  $\mu\text{m}$ ,  $<1\text{ M}\Omega$ ) composed of two rows of 8 electrodes separated by 1000  $\mu\text{m}$  (350  $\mu\text{m}$  between electrodes of the same row). A silver wire, used as ground, was inserted between the temporal bone and the dura matter on the contralateral side. A large craniotomy was performed based on stereotaxic coordinates (Anteriority: 0 to -5 mm from Bregma; Laterality: -1 to -7 mm from Bregma) then the location of the left primary auditory cortex was estimated from the pattern of vasculature reported in previous studies (Hackett et al. 2011, Willott and Aitkins 1993; Barkat et al. 2011; Joachimsthaler et al. 2014). The raw signal was amplified 10,000 times (TDT Medusa). It was then processed by an RX5 multichannel data acquisition system (TDT). The signal collected from each electrode was band-pass filtered (610-10000 Hz) to extract multi-unit activity (MUA). The trigger level was set for each electrode to select the largest action potentials from the signal. On-line and off-line examination of the action potential waveforms indicate that the MUA collected here consisted in 2-6 shapes of action potentials generated by neurons in the close vicinity of the electrode.

All data were collected under ketamine/xylazine anesthesia (initial dose: 150 mg/kg and 5 mg/kg, supplemented every hour by 20mg/kg of the mixture). After inserting the array in the cortex, a 10-minutes recovering time lapse was allowed for the cortex to return to its initial shape, then the array was slowly lowered. Quantifications of spectro-temporal receptive fields (STRFs) were used to assess the quality of the recordings and to adjust electrodes' depth. We looked for the inversion of the local field potential polarity (as in Christianson et al., 2011) and recorded at depths between 400-600  $\mu\text{m}$  below pia, which corresponds to layers III and IV according to Anderson et al. (2009).

When a clear frequency tuning was obtained for at least 4 of the 16 electrodes, the stability of the tuning was assessed: we required that recorded neurons displayed at least three successive similar STRFs (each lasting 240s) before starting the protocol. Similarity was based on the BF value, as well as the breadth of tuning and the duration of the response. When stability was satisfactory, the protocol was started by presenting the acoustic stimuli in the following order: first with pure tones at 75dB, then the pup and adult calls at 85dB, then the 4 guinea pig calls at 75 dB SPL. Each vocalization was repeated 20 times with an inter-stimulus interval of 500ms. Presentation of this entire stimulus set lasted 25 minutes. The protocol was re-started after moving the electrode array on the cortical map. Two to six electrode array positions were set in such a way that the two rows of eight electrodes sample neurons from the more dorsal to the more ventral portion of AI/AAF. At the end of each recording session, the animal was euthanized with an overdose of pentobarbital (Exagon, 200mg/kg).

## **Calcium imaging data analysis**

Data analysis was performed using MATLAB and Python scripts. All images acquired during a session were registered and motion artifacts corrected frame by frame, using a rigid body

registration algorithm. Regions of interest were then automatically selected and human checked as the cell bodies of neurons with visually identifiable activity and the mean fluorescence signal  $F_{\text{measured}}(t)$  was extracted for each neuron. We estimated the local neuropil signal  $F_{\text{neuropil}}(t)$  from the immediate surroundings (Gaussian smoothing kernel, excluding the ROIs (Deneux et al., 2016),  $\sigma = 170$  nm). Neuropil contamination was subtracted by applying the following equation:

$$F_{\text{corrected}}(t) = F_{\text{measured}}(t) - 0.7 F_{\text{neuropil}}(t)$$

Then the change in fluorescence  $F = \Delta F / F_0$  was computed as  $(F_{\text{corrected}}(t) - F_0) / F_0$ , where  $F_0$  is estimated as the minimum of a Gaussian-filtered trace over each of the 1 min imaging block. Analyses were performed on estimation of the firing rate obtained by temporal deconvolution as  $r(t) = \Delta F(t) + \Delta F / \tau$ , where  $F'(t)$  is the first-order derivative and  $\tau = 2$ , as estimated from the decays of GCaMP6s fluorescent transients (Chen et al., 2013). In total, 11972 neurons were recorded from 18 TP KO mice in 60 sessions, and 10079 neurons from 16 WT mice in 55 sessions. Among those populations, 2203 (17.9%) and 1501 (14.1%) neurons from TPC KO and WT, respectively, met a responsiveness criterion of 1.5 standard deviations above the baseline for the average response of at least one sound, and were kept for analysis. Single cell  $\Delta F / F_0$  average responses were computed over a 500 ms epoch starting at stimulus onset and baselines were computed over a 250 ms epoch ending at stimulus onset.

## Clustering

Clustering was used to organize the imaged neuronal responses, aiming at identifying the principal classes of responses within our data sets. Clustering was performed over the TPC KO and WT data independently. Deconvolved calcium responses were averaged across all trials for each sound. Averaged traces were baseline-subtracted and normalized by their response variance over all sounds. Hierarchical clustering was performed using the Euclidean metric and Ward method for computing distance between clusters. The clustering tree was thresholded to 100 clusters to avoid overclustering. Clusters were then grouped according to their selectivity to sound categories (pup calls, adult calls, guinea pig calls or pure tones).

## Signal-to-noise ratio and stimulus decoding

The signal-to-noise ratio was defined within categories (pup calls, adult calls or guinea pig calls) as the average deconvolved response to all sounds in the category divided by the standard deviation of the responses to the same sounds. The bandwidth was also computed within categories as the average response to the sounds in the category responding above half of the highest average response.

To compare the robustness of sound-evoked activity between TPC KO and WT in calcium imaging data, we tested the accuracy at which the presented sounds could be decoded from single-trial population responses by training and testing a nearest centroid classifier with a stratified k-fold cross-validation procedure implemented in Scikit-learn. Single-trial global population vectors were constructed with neurons recorded from all sessions using

deconvolved  $\Delta F/F_0$  averages over the 600 ms response window. Training and testing sets were created by randomly partitioning single trials in  $k = 20$  pairwise disjoint groups with equal number of trials from the two tested conditions, each serving as a test set against the others. This procedure was repeated 10 times and the accuracy of the classification was defined at the average of these 10 cross-validations. To evaluate its significance, the same procedure was performed for  $n = 1000$  shuffles of the conditions and the accuracy of the non-shuffled data was located in the distribution of shuffled accuracies to obtain a p-value. Note that the precision of the p-value was limited to 3 decimals as 1000 shuffles were performed. This analysis was performed independently for TPC KO and WT within sound categories with cell responsive to at least one sound in the category according to the criterion of average response exceeding baseline by 1.5 standard deviations.

### Quantification of responses to pure tones

The STRFs derived from MUA were obtained by constructing post-stimulus time histograms for each frequency with 1 ms time bins. The firing rate evoked by each frequency was quantified by summing all the action potentials from tone onset up to 50 ms after this onset. Thus, STRFs are matrices of 100 bins in abscissa (time) multiplied by 129 bins in ordinate (frequency).

Peaks of significant response were automatically identified using the following procedure: a significant peak in the STRF was defined as a contour of firing rate above the average level of spontaneous activity (estimated from the ten first milliseconds after tone onset) plus six times the standard deviation (SD) of the spontaneous activity. For each STRF, the best frequency (BF) was defined as the frequency at which the highest firing rate was recorded.

### Quantification of responses evoked by vocalizations

The responses to vocalizations were quantified using four parameters: (i) the firing rate of the evoked response, which corresponds to the total number of action potentials occurring during the presentation of the stimulus, (ii) the response latency, (iii) the response duration and, (iv) the spike-timing reliability coefficient (CorrCoef), which quantifies the trial-to-trial temporal reliability of the response. This index was computed for each vocalization: it corresponds to the normalized covariance between each pair of spike trains recorded at presentation of this vocalization and was computed as follows:

$$CorrCoef = \frac{1}{N(N-1)} \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{\sigma_{x_i x_j}}{\sigma_{x_i} \sigma_{x_j}}$$

where  $N$  is the number of trials,  $\sigma_{x_i x_j}$  is the normalized covariance at zero lag between spike trains  $x_i$  and  $x_j$ ,  $i$  and  $j$  are the trial numbers. Spike trains  $x_i$  and  $x_j$  were convolved with a 10-ms width Gaussian window. Based upon computer simulations, we have previously shown that this CorrCoef index is independent of firing rate (Gaucher et al., 2013). We computed the CorrCoef index with a Gaussian window of 10 ms because this value was found to be optimal

for describing the neurons' trial-to-trial precision of responses to communication sounds in previous cortical studies (Aushana et al., 2018; Gaucher et al., 2013, 2015; Huetz et al., 2009).

### **Quantification of mutual information from the responses to vocalizations**

The method developed by Schnupp et al. (2006) was used to quantify the amount of information (Shannon, 1948) contained in the responses to vocalizations in electrophysiology data. This method allows quantifying how well vocalization's identity can be inferred from neuronal responses. Here, "neuronal responses" refers either to (i) the spike trains obtained from a small group of neurons below one electrode (for the computation of the individual Mutual Information,  $MI_{\text{Individual}}$ ), or to (ii) a concatenation of spike trains simultaneously recorded under several electrodes (for the computation of the population,  $MI_{\text{Population}}$ ). In both cases, the following computation steps were the same. Neuronal responses were represented using different time scales ranging from the duration of the whole response (firing rate) to a 1 ms precision (precise temporal patterns), which allows analyzing how much the spike timing contributes to the information. As this method is exhaustively described in Schnupp et al. (2006) and in Gaucher et al. (2013a), we only present below the main principles.

The method relies on a pattern-recognition algorithm that is designed to "guess which stimulus evoked a particular response pattern" by going through the following steps: from all the responses of a cortical site to the different stimuli, a single response (test pattern) is extracted and represented as a PSTH with a given bin size (different sizes were considered as discussed further below). Then, a mean response pattern is computed from the remaining responses (training set) for each stimulus class. The test pattern is then assigned to the stimulus class of the closest mean response pattern. This operation is repeated for all the responses, generating a confusion matrix where each response is assigned to a given stimulus class. From this confusion matrix, the Mutual Information (MI) is given by Shannon's formula:

$$MI = \sum_{x,y} p(x,y) \times \log_2 \left( \frac{p(x,y)}{p(x) \times p(y)} \right)$$

where  $x$  and  $y$  are the rows and columns of the confusion matrix, or in other words, the values taken by the random variables "presented stimulus class" and "assigned stimulus class".

In our case, we used responses to the 18 pups and 18 male adult calls and selected the responses occurring during the 65ms after stimulus onset (i.e., the maximal duration of the calls). In a scenario where the responses did not carry information, the assignments of each response to a mean response pattern was equivalent to chance level (here 0.055 because we used 18 different stimuli and each stimulus was presented the same number of times) and the MI would be close to zero. In the opposite case, when responses are very different between stimulus classes and very similar within a stimulus class, the confusion matrix would be diagonal, and the mutual information would tend to  $\log_2(18) = 4.17$  bits. At the cortical level, several studies have reported that an optimal bin size for obtaining a maximal value of MI was on average 8ms (Schnupp et al., 2006; Gaucher et al., 2013; Gaucher & Edeline, 2015; Aushana et al., 2018). Here, because part of the natural stimuli were very short (12-65ms), when we

computed the  $MI_{\text{Population}}$  for temporal precision ranging from 1-64ms, we observed that the maximal amount of MI was obtained for a temporal precision of 4ms.

The MI estimates are subject to non-negligible positive sampling biases. Therefore, as in Schnupp et al. (2006), we estimated the expected size of this bias by calculating MI values for “shuffled” data, in which the response patterns were randomly reassigned to stimulus classes. The shuffling was repeated 100 times, resulting in 100 MI estimates of the bias ( $MI_{\text{bias}}$ ). These  $MI_{\text{bias}}$  estimates are then used as estimators for the computation of the statistical significance of the MI estimate for the real (unshuffled) datasets: the real estimate is considered as significant if its value is statistically different from the distribution of  $MI_{\text{bias}}$  shuffled estimates. Significant MI estimates were computed for MI calculated from neuronal responses under one electrode.

The information carried by a group of recording was estimated by the population MI ( $MI_{\text{Population}}$ ), using the same method described above: responses of several simultaneous recordings were grouped together and considered as a single pattern. To assess the influence of the group size of simultaneous recordings on the information carried by that group ( $MI_{\text{Population}}$ ), the number of sites used for computing  $MI_{\text{Population}}$  varied from 2 to the maximal possible size (which is equal to 16 minus the non-responsive sites). As the number of possible combinations could be extremely large ( $C_n^k$ , where  $k$  is the group size and  $n$  the number of responsive sites in a recording session), a threshold was fixed to save computation time: when the number of possible combinations exceeded one hundred, 100 combinations were randomly chosen, and the mean of all combinations was taken as the  $MI_{\text{Population}}$  for this group size.

### **Measurements of monoamines and associated metabolites**

Dopamine (DA), serotonin (5-HT) and their metabolites were quantified by ultra performance liquid chromatography. Briefly, the temporal cortex was quickly removed and homogenized in 0.3 M perchloric acid and centrifuged at 22,000 g for 30 min at 4°C. Supernatants were collected and filtered through a 10 kDa membrane (Nanosep; Pall, Port Washington, NY, USA). Then 50 ml of each sample was analyzed through a 4-channel electrochemical array detector (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Analysis, data collection, and peak identification were fully automated (Chromeleon 7; Thermo Fisher Scientific). The results were expressed as femtomoles per milligram of fresh tissue.

## Results

In calcium imaging experiments, we initially collected a data set of 1501 cells from WT mice (n=16) and of 2203 cells from TPC KO mice (n=18). To be included in the analysis each cell had to show a significant response to at least one auditory stimulus. A significant response was defined as a post-stimulus time-average deconvolved signal at least 1.5 SD higher than the baseline. Using this criterion, 1501 cells from WT mice and 2203 cells from KO TPC mice were selected. In total, 55 populations of cells from WT mice and 60 populations of cells in TPC KO mice were recorded.

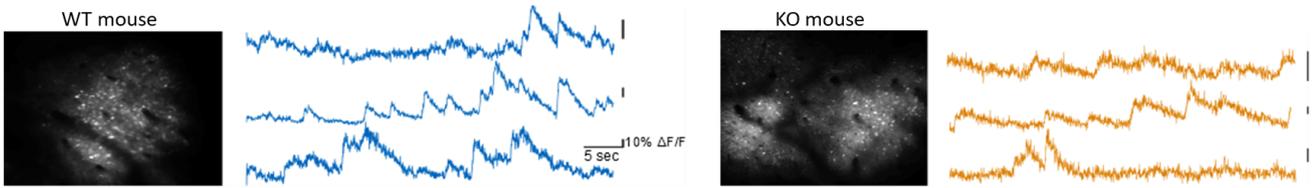
For electrophysiological recordings, we collected a data set of 154 MUA recordings from WT mice (n=15) and 176 recordings from TPC KO mice (n=14) under Ketamine/Xylazine anesthesia. To be included in the following analyses each recording must meet two criteria. First, it had to present a significant receptive field, i.e., tone-evoked responses more than 6 standard deviation (SD) above spontaneous activity when tested with pure tones presented at 75dB. Second, it had to present a significant response (Kruskal-Wallis test,  $p < 0.05$ ) to at least one pup or one adult mouse call, i.e., an increase in firing rate above spontaneous activity.

### **Increase in response variability and decrease in discrimination abilities for TPC KO neurons during calcium imaging experiments**

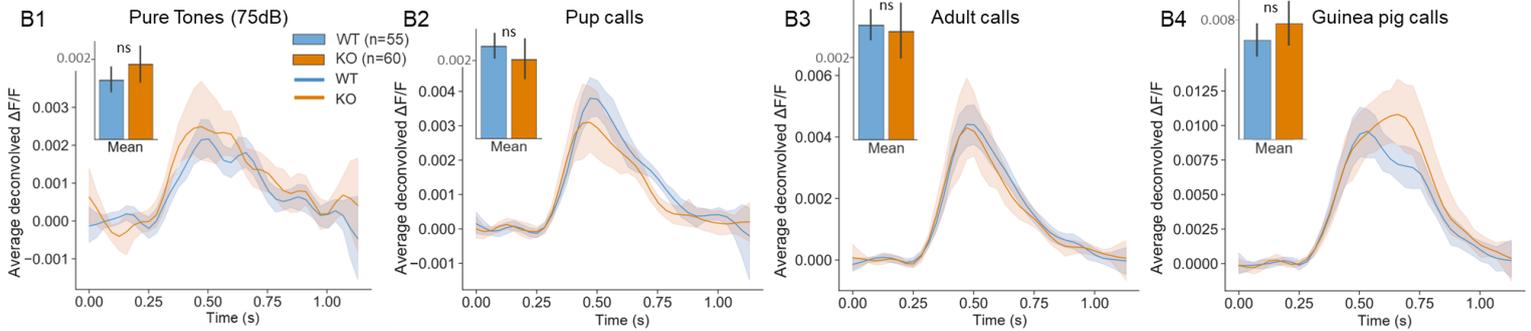
Figure 1A shows typical examples of raw signals during calcium imaging recordings in ACx. From these raw traces, the evoked responses look similar in WT and TPC KO mice. Figure 1B displays the temporal profile of calcium signals (deconvolved  $\Delta F/F$ ) in response to pure tones, pup calls, adult calls and guinea pig calls. There was no significant difference between the mean average deconvolved  $\Delta F/F$  of the WT and TPC KO mice (Figure 1B), but there was a trend for smaller responses to pup calls (Wilcoxon-Mann-Whitney test,  $p = 0.05$ ; Figure B2). The mean signal-to-noise ratio, defined as the mean response to all stimuli within a category divided by the standard deviation, was significantly lower in the TPC KO mice (Figure 1C) compared to WT mice for mouse calls (pups: Mann-Whitney test,  $p < 0.01$ ; adults: Mann-Whitney test,  $p < 0.05$ ) but not for guinea pig calls (Mann-Whitney test,  $p = 0.21$ ). Within each category of calls, a bandwidth measure was defined as the mean response to stimuli triggering at least half of the largest response. This bandwidth, which provides an indication of neuron selectivity within each category, did not differ between groups (Figure 1D).

To quantify encoding robustness of calls within each category (pup calls, adult calls, and guinea pig calls) between TPC KO and WT mice, a discrimination score was assessed by a centroid classifier for populations of simultaneously recorded neurons (on average, populations of 226 neurons in WT and 247 neurons TPC KO mice). As shown in Figure 1E, classification accuracy was, on average, significantly higher in WT neuron populations for the pup calls (Mann-Whitney test,  $p < 0.05$ ) and the guinea pig calls (Mann-Whitney test,  $p < 0.05$ ), but not for adult calls, compared to TPC KO neuron populations (Mann-Whitney test,  $p = 0.81$ ).

## A. Raw signals of neurons recorded during block sessions



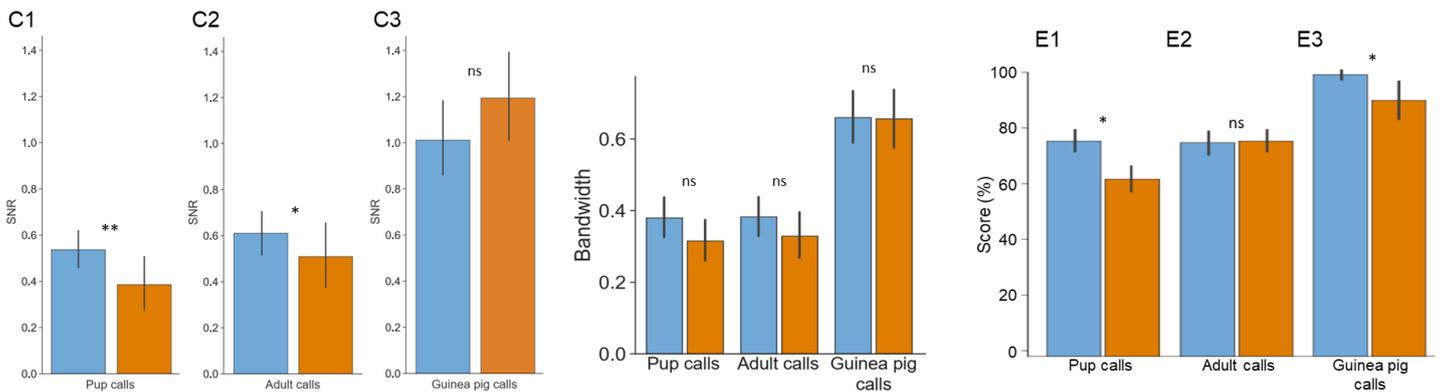
## B. Average $\Delta F/F$



## C. Signal-to-Noise Ratio on best stimulus

## D. Bandwidth

## E. Discrimination score



**Figure 1: Comparison of evoked responses to vocalizations, Signal-to-Noise Ratio and discrimination performance between neurons of WT and TPC KO mice during calcium imaging recording sessions**

**A:** Example of a recorded image time series of GCAMP6s labelled neurons in cortical layer 2/3 of WT (left) and TPC KO (right) mouse auditory cortex, and examples of raw signals from WT (blue) and TPC KO (orange) neurons during block session. Scale bars: vertical 10%  $\Delta F/F$ , horizontal 5s. Stimuli were presented at 1Hz. 40 random stimuli were presented during one block session of 45 seconds.

**B:** Top: Mean calcium traces obtained during calcium imaging experiment in the auditory cortex of WT and TPC KO mice in response to pure tones at 75dB (B1), pup calls (B2), adult calls (B3), and guinea pig calls (B4). The difference (represented by the mean  $\Delta F/F$  value during the 500 ms evoked response) between WT and TPC KO responses almost reached significance for pup calls ( $p=0.05$ ) but was overall not different between groups.

**C:** The signal-to-noise ratio was defined as the mean response obtained in a category of stimuli (pup calls, or adult calls, or guinea pig calls) divided by the standard deviation inter-assay of the stimuli. On average, the mean Signal-to-Noise Ratio was significantly larger in WT than in TPC KO neurons in response to pup calls (C1) and adult calls (C2) but not for guinea pig calls (C3) (\*  $p<0.05$ ; \*\*  $p<0.01$ ).

**D:** The bandwidth was determined by the mean response of stimuli responding above half of the best response. On average, the bandwidth is not different between groups in responses to pup, adult, or guinea pig calls.

**E:** The discrimination performance was assessed by a centroid classifier (see Methods) for populations of simultaneously recorded neurons (on average, populations of 226 (WT) and 247 (TPC KO) neurons). The score of correct classification is represented for each population of WT recordings (orange dots) and TPC KO recordings (blue dots) from response to pup calls (E1), adult calls (E2), and guinea pig calls (E3). The chance level is indicated by the grey dot in the three cases. The score of correct classification was significantly higher for WT populations for pup calls and guinea pig calls, but not for adult calls.

To conclude, the response magnitude of auditory cortex neurons did not differ between WT and TPC KO mice, which can be surprising given that the TPC KO mouse is deficient for a particular calcium channel. However, the higher response variability, the decrease in signal-to-noise ratio and discriminability for mouse calls are three features distinguishing TPC KO mice from WT mice in our data.

### Fewer neurons selectively respond to mouse calls in TPC KO mice than in WT mice

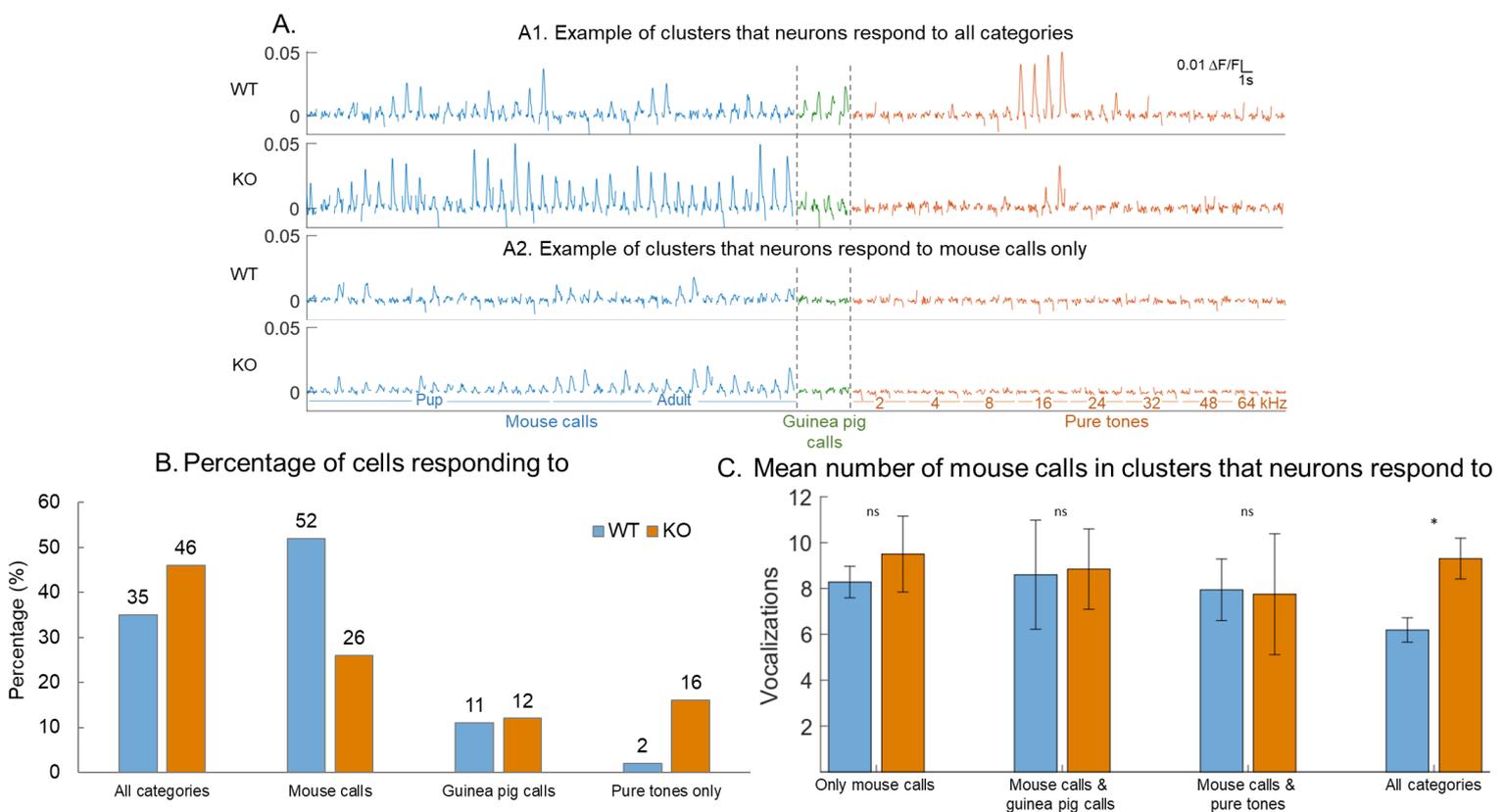
We next investigated the response profile of neurons, looking at which categories of sounds neurons were responding. More precisely, we assessed if there was a difference between WT and TPC KO mice (i) in the proportion of neurons responding to categories of sounds, and (ii) in how many stimuli neurons responded to within each category. To answer these questions, we performed a hierarchical clustering (Ward's method, 100 clusters requested for each genotype), which classified neurons according to their response to all stimuli. We then grouped these clusters in four broader ensembles:

(1) Clusters where neurons respond to all categories of sounds (pure tones, mouse vocalizations, and guinea pig vocalizations), (2) clusters where neurons respond to mouse calls (only, or also to guinea pig calls, or also to pure tones), (3) clusters where neurons respond to guinea pig calls (only, or also to pure tones), and (4) clusters where neurons respond only to pure tones. Clusters with neurons responding exclusively to pup calls or adult calls were very rare, so we decided to group them in clusters of neurons responding to mouse calls. Results of this grouping of the clusters according to their response to categories of sounds is summarized Table 1. In each group of clusters, we also present the number of cells, and the percentage that this number represented out of the total number of cells in WT or in TPC KO mice. Note that in some groups, there might be a small number of clusters but many cells per clusters, compared to other groups.

	Total	Respond to all categories	Respond to mouse calls			Respond to guinea pig calls		Respond only to pure tones
			Only	And to guinea pig calls	And to pure tones	Only	And to pure tones	
<b>Nb of Clusters in WT mice</b>	<b>100 clusters</b> n=1501 cells (100%)	<b>42</b> n=529 (35%)	<b>25</b> n=327 (22%)	<b>5</b> n=82 (6%)	<b>16</b> n=354 (24%)	<b>0</b> n=0 (0%)	<b>8</b> n=165 (11%)	<b>4</b> n=34 (2%)
<b>Nb of Clusters in TPC KO mice</b>	<b>100 clusters</b> n=2203 cells (100%)	<b>43</b> n=1023 (46%)	<b>14</b> n=297 (13%)	<b>13</b> n=191 (9%)	<b>8</b> n=95 (4%)	<b>7</b> n=105 (5%)	<b>8</b> n=139 (7%)	<b>7</b> n=353 (16%)

Table 1: Number of clusters (of WT or TPC KO neurons) grouped according to their responses to the three sound categories. Each cluster responds to at least one sound within a category (i.e., either a mouse call, or a guinea pig call, or a pure tone).

Figure 2A illustrates examples of typical WT and TPC KO clusters, where neurons responded to all categories of sounds (A1 top) or responded only to mouse calls (A2 bottom). Note that in the case of the TPC KO cluster where neurons respond to all categories of sound (A1, bottom), cells displayed responses to more mouse calls compared to WT mice cells. After regrouping the 100 clusters in the four broad ensembles (respond to all categories, respond to mouse calls, respond to guinea pig calls, respond to pure tones only) we counted the cells contained in each cluster. Percentages of cells contained of clusters defined in Table 1 are presented in Figure 2B. From these percentages, it appeared that there were twice less neurons responding to mouse calls in TPC KO mice (only or with another category of stimuli) compared to WT mice (26% vs. 52%). Conversely, there were more neurons responsive to all categories of sounds (46% vs. 35%) or only to pure tones (16% vs. 2%) in TPC KO mice than in WT mice.



**Figure 2: Numbers of clusters responding to the different sound categories**

**A:** Examples of average traces for WT and TPC KO clusters. Top: Clusters exhibiting responses to all sound categories (mouse calls (in blue), guinea pig calls (in green), and pure tones (in orange)). Bottom: Clusters exhibiting responses only to mouse calls.

**B:** Percentage of cells responding either to all categories, or to mouse calls (“only” and to another category), or to guinea pig calls (“only” and “to pure tones”), or only to pure tones. There were more neurons responding to mouse calls in WT than TPC KO neurons, while there were more neurons responding to all categories of sounds or to pure tones only in TPC KO mice than WT mice.

**C:** Mean number of mouse calls (out of 36 calls) to which neurons respond in clusters exhibiting responses to all sound categories, mouse calls and guinea pig calls, mouse calls and pure tones, or to mouse calls only. TPC KO neurons responding to all categories of sounds responded significantly to more mouse calls than the WT neurons responding to all categories.

Finally, we evaluated in each cluster the number of stimuli per category that neurons responded to. Globally, there was no difference between WT and TPC KO neurons in terms of mean number of sounds to which neurons respond in each category (Table 2).

However, we noticed that TPC KO neurons responding to all categories of sounds (which represent 46% of neurons in TPC KO mice, see table 1 and figure 2B) responded to more mouse calls than WT neurons responding to all categories of sounds (Figure 2C; mean=6 in WT vs. mean = 8.5 in TPC KO mice, t-test,  $p < 0.05$ ).

Bandwidth	Clusters WT	Clusters KO
Mouse calls	<b>7,6</b> on 36 calls	<b>7,97</b> on 36 calls
Guinea pig calls	<b>2</b> on 4 calls	<b>2,43</b> on 4 calls
Pure tones at 55 dB	<b>1,95</b> on 8 frequencies	<b>1,9</b> on 8 frequencies
Pure tones at 65 dB	<b>1,88</b> on 8 frequencies	<b>2,12</b> on 8 frequencies
Pure tones at 75 dB	<b>1,93</b> on 8 frequencies	<b>1,99</b> on 8 frequencies
Pure tones at 85 dB	<b>1,91</b> on 8 frequencies	<b>1,82</b> on 8 frequencies

Table 2: Bandwidth – Mean number of responded sounds in each category

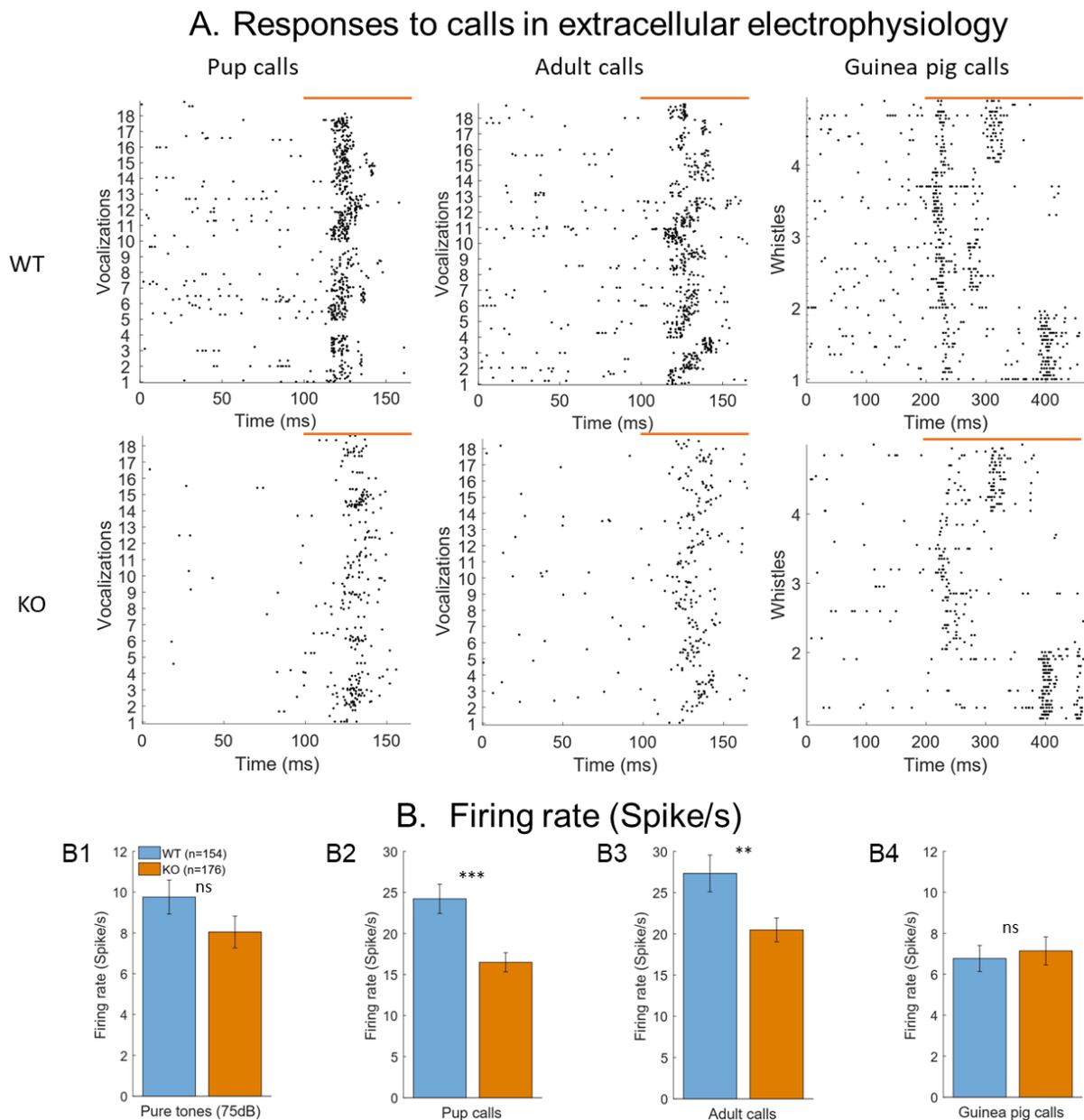
To conclude, we found fewer TPC KO neurons responding selectively to mouse calls compared to WT neurons. In addition, when neurons were non-selective (i.e., responding to all sound categories), TPC KO neurons responded significantly to more mouse calls than non-selective WT neurons.

### **The evoked firing rate of ACx neurons to mouse calls is lower in TPC KO mice than in WT mice**

Figure 3A presents individual examples (raster plots) of evoked responses to communication sounds (pup calls, adult calls and guinea pig calls, each repeated over twenty trials) in the ACx of a WT mouse (top) and a TPC KO mouse (bottom) during extracellular electrophysiological recordings. From these rasters, it appears that the evoked firing rate was lower in TPC KO mouse compared to WT mouse (top) for mouse vocalizations.

On average, the group data (Figure 3B) confirmed this effect: The firing rate was lower in TPC KO mice compared to WT mice, in response to mouse pup calls (Figure 3 B2; unpaired t-test,  $p < 0.001$ ) and adult mouse calls (Figure 3 B3; unpaired t-test,  $p < 0.01$ ), but not in response to pure tones (Figure 3 B1) and not in response to guinea pig calls (Figure B4). Thus, despite

similar response magnitude between the two strains in calcium imaging experiments (see Figure 1B), electrophysiological recordings revealed that the evoked firing rate significantly differed between TPC KO and WT mice. Nonetheless, it is important to consider that the time scale is very different with these two techniques: clear differences in terms of firing rate were detected over the 60ms duration of the mice calls, whereas the  $\Delta F/F$  in calcium imaging experiments extended over 500ms (or more).

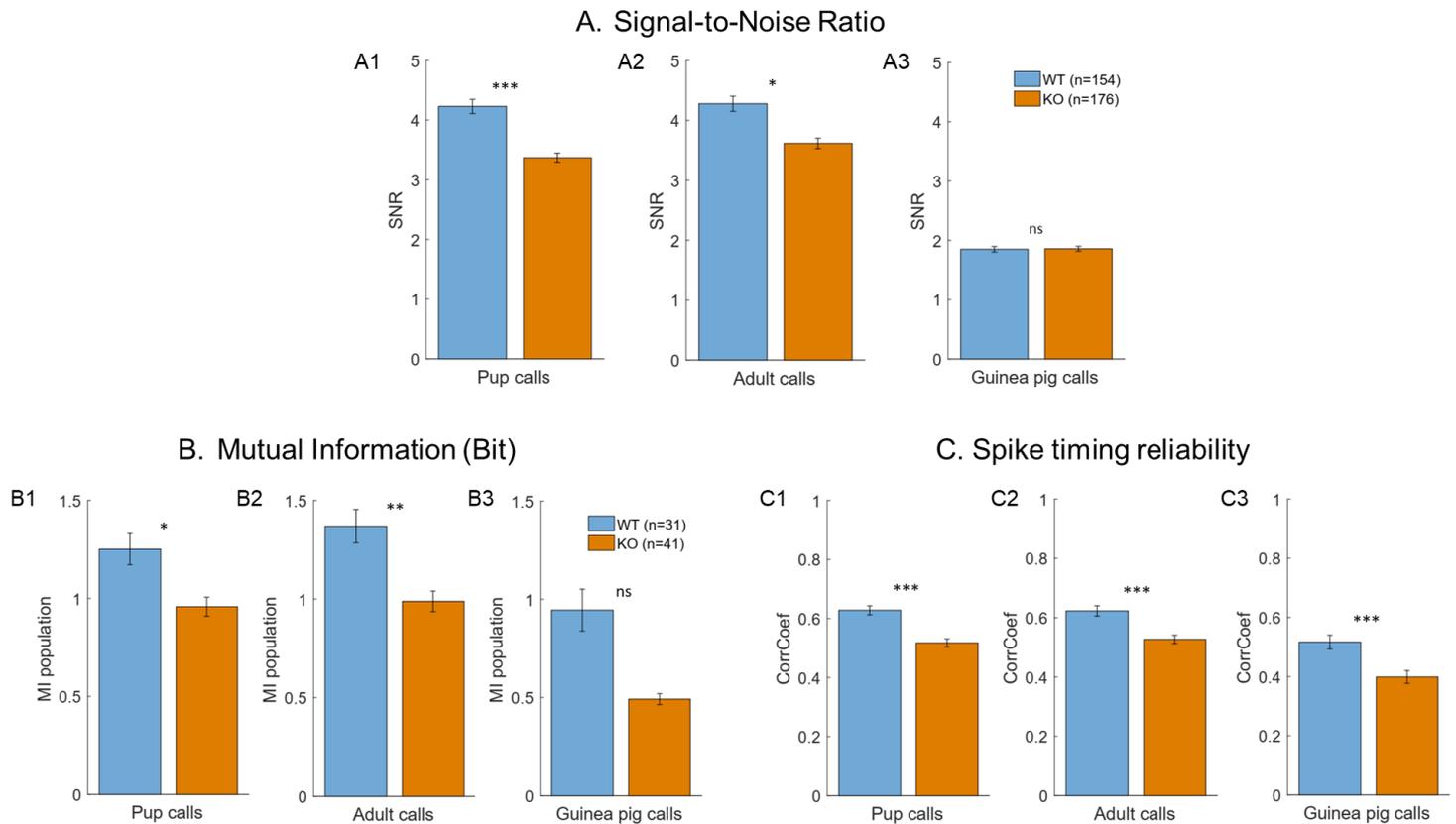


**Figure 3: Responses to calls in extracellular electrophysiology recordings**

**A:** Typical examples of responses to pup mouse (left) adult mouse (middle) and guinea pig (right) vocalizations obtained during extracellular recordings. The orange lines indicate the onset of the vocalization independently of its duration. Each vocalization was repeated 20 times. Note the different time scales between the mouse calls and the guinea pig calls. Note also that the evoked firing rate were lower in TPC KO mice (bottom) compared to WT mice (top) for mouse vocalizations.

**B:** Mean firing rate ( $\pm$  sem) of WT or TPC KO neurons recorded in electrophysiology in response to pure tones at 75dB (A1), pup calls (A2), adult calls (A3), and guinea pig calls (A4). The responses to pup and adult calls were significantly lower in TPC KO mice compared with WT mice (\*\*\*)  $p < 0.001$ .

## Signal-to-noise, spike-timing reliability and neuronal discrimination are reduced for ACx neurons recorded TPC KO mice compared to WT mice



**Figure 4: Comparison of the Signal-to-Noise Ratio, Spike timing reliability, and Mutual Information between neurons of WT and TPC KO mice at presentation of communication sounds in electrophysiological experiments**

**A:** On average, the mean Signal-to-Noise Ratio (defined as in  $Ca^{2+}$  imaging experiments) was significantly larger in WT than in TPC KO neurons at presentation of (A1) pup calls and (A2) adult calls but it was not different for (A3) guinea pig calls.

**B:** The discrimination performance was quantified by the Mutual Information (MI) computed (see Methods) for populations of at least five simultaneous electrophysiological recordings obtained in auditory cortex of WT or TPC KO mice. On average, the neuronal discrimination was higher for populations of WT neurons compared to populations of TPC KO neurons both at presentation of (B1) pup calls, (B2) adult calls, and (B3) guinea pig calls.

**C:** On average, the spike timing reliability (quantified by the CorrCoef index, see Methods) was significantly higher in WT mice than in TPC KO mice in response to (C1) pup calls, (C2) adult calls, and (C3) guinea pig calls.

As there was a mismatch between the results obtained in calcium imaging and electrophysiological experiments in terms of response magnitude, several additional measures were computed to evaluate if some effects obtained in calcium imaging could also be detected in electrophysiological recordings. First, we calculated the signal-to-noise ratio for responses to communication sounds in both WT and TPC KO mice. We observed that the SNR (Figure 4A) also lower in TPC KO mice for pup mouse calls (Figure 4 A1; unpaired t-test,  $p < 0.001$ ) and adult mouse calls (Figure A2; unpaired t-test,  $p < 0.05$ ) but not for guinea pig calls (similar to what was obtained in calcium imaging see Figure 1C).

We next quantified the mutual information (MI) between the set of stimuli and the responses of simultaneously recorded electrodes ( $MI_{\text{population}}$ ). The MI was quantified based

upon temporal patterns with a 4ms time precision (see Methods). Figure 4B shows that based upon small populations of extracellular recordings, the discrimination of mouse calls performed by KO TPC neurons was lower than the WT one. This was observed for the pup calls (Figure 4 B1; unpaired t-test,  $p < 0.05$ ) and for the adult calls (Figure B2; unpaired t-test,  $p < 0.01$ ). The MI population was also much lower, but not significantly lower, in TPC KO mice compared to WT mice (Figure 4 B3; unpaired t-test,  $p = 0.15$ ).

Last, we took advantage of the good temporal resolution of the electrophysiological recordings to quantify the spike timing reliability of neurons computed by the CorrCoef (see Methods). Indeed, we previously observed at several levels of the auditory system that there were a high correlations between MI values and the spike-timing reliability in response to communication sounds (Figure 3G in Souffi et al., 2020). Figure 4C showed that the CorrCoef was significantly lower in TPC KO mice compared to WT mice for all communication sounds (all unpaired t-tests,  $p < 0.001$ ). This analysis confirms that the responses to the communication sounds, especially to mouse calls, were more variable in TPC KO neurons compared to WT mice. In contrast, the latency and duration were similar between the two groups (see supplementary figure 4).

To conclude, analyzing the electrophysiological data pointed out that the neuronal response to mouse calls were lower and less selective in TPC KO mice compared to WT mice. In addition, they indicated that the spike timing reliability of TPC KO neurons was much lower when responding to all communication sounds.

The main results can thus be summarized as follows: the clustering performed on calcium imaging data revealed that TPC KO neurons were less selective for mouse calls and tended to respond to more categories of stimuli (mouse calls, guinea pig calls and pure tones). In addition, non-selective TPC KO neurons also respond to a larger number of mouse calls compared to non-selective neurons in WT mice. Last, both calcium imaging and electrophysiological data confirmed that a lower signal-to-noise ratio was observed in response to mouse calls and could, in part, explain the lower neural discrimination between pup calls (and adult calls in electrophysiology) in TPC KO neurons compared to WT neurons.

## Discussion

The main results of the present study can be summarized as follows: the clustering analyses based on calcium imaging data revealed that TPC KO neurons were less selective for mouse calls and tended to respond to more categories of stimuli (mouse calls, guinea pig calls and pure tones). In addition, non-selective TPC KO neurons also responded to a larger number of mouse calls compared to non-selective neurons in WT mice. Both calcium imaging and electrophysiological data confirmed that a lower signal-to-noise ratio was observed in response to mouse calls and could, in part, explain the lower neural discrimination between pup calls (and adult calls in electrophysiology) in TPC KO neurons compared to WT neurons.

Our *in vivo* Ca<sup>2+</sup> imaging experiments in WT and TPC KO mice revealed no significant differences in average  $\Delta F/F$  recorded in response to sound presentation in both mouse strains. However, equal average  $\Delta F/F$  does not imply necessarily an equal absolute intracellular calcium concentration, since  $\Delta F/F$  is a normalized measure. These observations would appear to rule out a role of TPCs in sound-evoked Ca<sup>2+</sup> responses in primary auditory cortex neurons, although the basal calcium level might be different between WT and TPC KO mice. However, although TPCs have been reported to be Ca<sup>2+</sup> channels, these endolysosomal channels have also been reported to act very locally and may not participate substantially to the global Ca<sup>2+</sup> waves which in neurons rely mostly on Ca<sup>2+</sup> influx through the opening of the voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels (Padamsey et al., 2017). This can explain non-significant differences between the two groups in terms of variations in Ca<sup>2+</sup> signal: the deficit in Ca<sup>2+</sup> in TPC KO mice could be too small to generate significant differences at the soma level. Thus, one can potentially expect larger differences between the WT and TPC KO neurons if we had studied dendritic and/or terminal Ca<sup>2+</sup> signals (Padamsey et al., 2017). Our electrophysiological results are complementary to our Ca<sup>2+</sup> imaging experiments by showing that TPCs deletion had consequences on the emission of action potentials. Indeed, this could be link to the local Ca<sup>2+</sup> signaling as reported in the hippocampus where lysosomal Ca<sup>2+</sup> and TPCs modulate neuronal activity and plasticity at the spine levels in response to mGluR1 stimulation (Forster et al., 2018). However, to identify the precise mechanisms by which TPCs could modulate the activity of auditory cortex neurons was beyond our study. We have rather focused our study on the consequences of the TPCs deletion on the cortical processing of communication sounds by using two different techniques allowing us to detect various parameters of the auditory cortex processing that could rely at least partially on TPCs recruitment.

### Limitations

If the electrophysiological recordings had been obtained in awake mice, comparisons with the calcium imaging data would have been more straightforward. However, direct comparisons of electrophysiological recordings in anesthetized and awake mice revealed no difference between these two states in terms of tonotopic gradient, bandwidth and onset latency (Guo et al., 2012). Note also that comparing spike timing reliability and mutual

information in awake and anesthetized animals at presentation of whistle calls have revealed only slightly lower values for the recordings obtained in the awake conditions (Huetz et al., 2009). Therefore, the state of the animals should not be a factor preventing comparisons between results derived from the two techniques. In fact, our results point out the same differences between WT and TPC KO mice: cortical neurons of TPC KO mice are less selective for mouse calls, have a lower signal to noise ratio and lower discrimination performance than cortical neurons in WT mice.

Some of the differences between results obtained with the two techniques potentially come from layers differences (e.g., Winkowski & Kanold 2013 for discussion). Here, as in many other studies, we targeted layer IV in our electrophysiological experiments since it receives the synaptic thalamic inputs (contain acoustic cues required for the between-stimuli discrimination). It was shown that stimulus-related correlations between pairs of neurons were higher in the thalamorecipient layer, whereas stimulus-independent trial-to-trial covariance is higher in supragranular neurons (Winkowski & Kanold 2013). In contrast, calcium imaging studies often record neurons in superficial layers since depth penetration is limited by light scattering and chromatic aberrations.

Last, neurons selection was not identical between the two techniques: in calcium imaging, we registered a fluorescent zone (500x500 $\mu$ m), with visible and distinct neurons before selecting responsive neurons. In our study, only 12-14% of all recorded neurons responded to at least one sound with our selection criteria, i.e. the post-stimulus time-average signal ( $\Delta F/F$ ) have to be at least 1.5 SD higher than the baseline (pre-stimulus  $\Delta F/F$ ). In contrast, during electrophysiological recording sessions, we analyzed the responses to vocalizations for neurons displaying significant receptive fields (evoked firing rate 6 SD above the spontaneous rate) obtained with pure tones. However, incorporating in our analyses neurons with significant responses to mouse calls without significant responses to pure tones gave similar results: there was a lower firing rate, a lower SNR, a lower timing reliability and lower MI values in TPC KO mice compared to WT mice (supplementary figure 3).

### **Calcium imaging and electrophysiology are two complementary techniques**

Here, we have used two techniques, which revealed differences between the processing of communication sounds in TPC KO and WT mice. The use of two-photon calcium imaging allows assessing large neuronal populations (hundreds of cells per recording sessions in both TPC KO and WT mice), which can be crucial to make relationships with potential deficits observed at the behavioral level (Martucci et al., submitted). Indeed, using this technique, we detected here lower signal-to-noise ratio and lower discrimination abilities in TPC KO mice compared to WT mice. It is difficult to evaluate the evoked firing rate with the calcium signal (deconvolved  $\Delta F/F$ ) due to the slow decay of calcium fluorescent transients, even if the number of emitted action potentials can be inferred based on a linear deconvolution algorithm (Deneux et al., 2016b). However, according to some studies, there is potentially a large failure (between 70% and 90%) in detecting responses of 1 or 2 AP events in calcium

imaging recordings (Huang et al., 2021). Thus, all temporal aspects of cortical responses have to be studied with electrophysiological recordings. Our electrophysiological results confirmed the lower signal-to-noise ratio and the lower discrimination abilities of TPC KO neurons compared to WT neurons, but they also pointed out that the spike timing reliability of TPC KO neurons is impaired for all types of communication sounds. Thus, both at the scale of large neuronal populations and at the scale of a few neurons recorded with a high temporal resolution, the processing of communication sounds by auditory cortex neurons in TPC KO mice is altered compared to cortical neurons of WT mice. Note that despite that our WT mice have a C57BL/6J genetic background and have their best frequency in a lower range than CBA mice (see supplementary figure 1), the discrimination abilities found here were in the range of what have been previously described in CBA mice (Liu and Schreiner, 2007).

### **A functional role of TPCs in the cortical processing of communication sounds and neuromodulation**

In a recent study, it was shown that mice with impaired TPC signaling pathways (the CD38<sup>-/-</sup> KO mice), exhibiting deficit in social and maternal behaviors, have very low concentration in OT, vasopressin (VP) and other neuromodulators such as serotonin and norepinephrine (Martucci et al., 2019). Moreover, we have shown that the plasma levels of OT and VP were significantly lower in TPC KO mice compared to WT mice (Martucci et al., submitted), and that the cortical levels of NAD, Dopamine, Serotonin and their metabolites (5HIA, HVA and DOPAC) were also significantly lower in TPC KO mice than WT mice (Supplementary figure 4). These low concentrations of neuromodulators might alter the cortical processing of communication sounds required for social interactions, which can translate into a non-appropriate behavioral response. In line with this possibility, it is striking that responses to pure tones in the 2.5-24 kHz range did not differ between WT and TPC KO, both in electrophysiology and in calcium imaging; differences were mostly detected with mouse calls.

Lower SNR ratio, lower evoked firing rate and spike timing reliability can be interpreted as signature of cortical neurons operating with low concentrations in neuromodulators, such as noradrenaline (NA) or oxytocin. For example, Gaucher & Edeline (2015) showed that NA application could increase the evoked firing rate, the temporal reliability and the patterns-based discrimination abilities at presentation of communication sounds. However, note that this study found no relationship between the NA effects observed on responses to pure tones and on responses to communication sounds, suggesting that the processing of spectrally rich stimuli (vocalizations) involves a larger network than those involved with simple pure tones. In contrast, in their interesting study, Marlin et al. (2015) demonstrated that oxytocin reduces call-evoked IPSC, thus disinhibits directly the whole auditory cortex, and enhances long-term spiking and maternal behavior.

Low levels of acetylcholine or oxytocin have also been found in ASD patients (Perry et al., 2001; Husarova et al., 2016). Based upon the SNR and the discrimination scores (MI and classifiers) computed both with calcium imaging and electrophysiology, it appears that the neurons in TPC KO mice are less reliable and show lower discrimination abilities than WT neurons. This is also observed in the selectivity of the clusters in the two-photon analyses. Interestingly, cortical response amplitude, reliability and signal-to-noise ratio have also been quantified in human studies using fMRI, and results point out less reliability and smaller signal-to-noise ratio in individuals with ASD compared to controls (Dinstein et al., 2012; Haigh et al., 2014). Researches aim at understanding the link between autism and auditory perception has also focused on the discrimination of speech in noisy conditions (Teder-Salejavri et al., 2005; Lepistö et al., 2009). ASD patients seemed to be less capable to discriminate speech signals than controls in noisy condition.

The processing of acoustic stimuli in the auditory system is now increasingly studied in ASD patients (review in O'Connor, 2012). Animal studies allow a more precise approach for understanding the mechanisms underlying this process. The TPC KO mice can generate crucial information on the altered cortical processing of communication sounds, and thus can potentially be a suitable study model of autism spectrum disorder.

## References

- Anderson, L.A., Christianson, G.B., Linden, J.F., 2009. Mouse auditory cortex differs from visual and somatosensory cortices in the laminar distribution of cytochrome oxidase and acetylcholinesterase. *Brain Res.* 1252, 130–142. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.11.037>
- Aushana, Y., Souffi, S., Edeline, J.-M., Lorenzi, C., Huetz, C., 2018. Robust Neuronal Discrimination in Primary Auditory Cortex Despite Degradations of Spectro-temporal Acoustic Details: Comparison Between Guinea Pigs with Normal Hearing and Mild Age-Related Hearing Loss. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.* 19, 163–180. <https://doi.org/10.1007/s10162-017-0649-1>
- Barkat, T.R., Polley, D.B., Hensch, T.K., 2011. A critical period for auditory thalamocortical connectivity. *Nat. Neurosci.* 14, 1189–1194. <https://doi.org/10.1038/nn.2882>
- Brailoiu, E., Hooper, R., Cai, X., Brailoiu, G.C., Keebler, M.V., Dun, N.J., Marchant, J.S., Patel, S., 2010. An ancestral deuterostome family of two-pore channels mediates nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate-dependent calcium release from acidic organelles. *J Biol Chem* 285, 2897–2901. <https://doi.org/10.1074/jbc.C109.081943>
- Calcraft, P.J., Ruas, M., Pan, Z., Cheng, X., Arredouani, A., Hao, X., Tang, J., Rietdorf, K., Teboul, L., Chuang, K.-T., Lin, P., Xiao, R., Wang, C., Zhu, Y., Lin, Y., Wyatt, C.N., Parrington, J., Ma, J., Evans, A.M., Galione, A., Zhu, M.X., 2009. NAADP mobilizes calcium from acidic organelles through two-pore channels. *Nature* 459, 596–600. <https://doi.org/10.1038/nature08030>
- Cancela, J.M., Churchill, G.C., Galione, A., 1999. Coordination of agonist-induced Ca<sup>2+</sup>-signalling patterns by NAADP in pancreatic acinar cells. *Nature* 398, 74–76. <https://doi.org/10.1038/18032>
- Cang, C., Zhou, Y., Navarro, B., Seo, Y.-J., Aranda, K., Shi, L., Battaglia-Hsu, S., Nissim, I., Clapham, D.E., Ren, D., 2013. mTOR regulates lysosomal ATP-sensitive two-pore Na(+) channels to adapt to metabolic state. *Cell* 152, 778–790. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.01.023>
- Chausseot, R., Edeline, J.-M., Le Bec, B., El Massioui, N., Laroche, S., Vaillend, C., 2015. Cognitive dysfunction in the dystrophin-deficient mouse model of Duchenne muscular dystrophy: A reappraisal from sensory to executive processes. *Neurobiol Learn Mem* 124, 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.07.006>
- Chen, Q., Deister, C.A., Gao, X., Guo, B., Lynn-Jones, T., Chen, N., Wells, M.F., Liu, R., Goard, M.J., Dimidschstein, J., Feng, S., Shi, Y., Liao, W., Lu, Z., Fishell, G., Moore, C.I., Feng, G., 2020. Dysfunction of cortical GABAergic neurons leads to sensory hyper-reactivity in a Shank3 mouse model of ASD. *Nat Neurosci* 23, 520–532. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-0598-6>
- Chilian, B., Abdollahpour, H., Bierhals, T., Haltrich, I., Fekete, G., Nagel, I., Rosenberger, G., Kutsche, K., 2013. Dysfunction of SHANK2 and CHRNA7 in a patient with intellectual disability and language impairment supports genetic epistasis of the two loci. *Clin Genet* 84, 560–565. <https://doi.org/10.1111/cge.12105>
- Christianson, G.B., Sahani, M., Linden, J.F., 2011. Depth-dependent temporal response properties in core auditory cortex. *J Neurosci* 31, 12837–12848. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2863-11.2011>
- Churchill, G.C., Okada, Y., Thomas, J.M., Genazzani, A.A., Patel, S., Galione, A., 2002. NAADP mobilizes Ca(2+) from reserve granules, lysosome-related organelles, in sea urchin eggs. *Cell* 111, 703–708. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)01082-6](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)01082-6)
- Cosker, F., Cheviron, N., Yamasaki, M., Menteyne, A., Lund, F.E., Moutin, M.-J., Galione, A., Cancela, J.-M., 2010. The ecto-enzyme CD38 is a nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate (NAADP) synthase that couples receptor activation to Ca<sup>2+</sup> mobilization from lysosomes in pancreatic acinar cells. *J Biol Chem* 285, 38251–38259. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.125864>
- Demopoulos, C., Hopkins, J., Kopald, B.E., Paulson, K., Doyle, L., Andrews, W.E., Lewine, J.D., 2015. Deficits in auditory processing contribute to impairments in vocal affect recognition in autism spectrum disorders: A MEG study. *Neuropsychology* 29, 895–908. <https://doi.org/10.1037/neu0000209>
- Deneux, T., Kaszas, A., Szalay, G., Katona, G., Lakner, T., Grinvald, A., Rózsa, B., Vanzetta, I., 2016. Accurate spike estimation from noisy calcium signals for ultrafast three-dimensional imaging of large neuronal populations in vivo. *Nat Commun* 7, 12190. <https://doi.org/10.1038/ncomms12190>

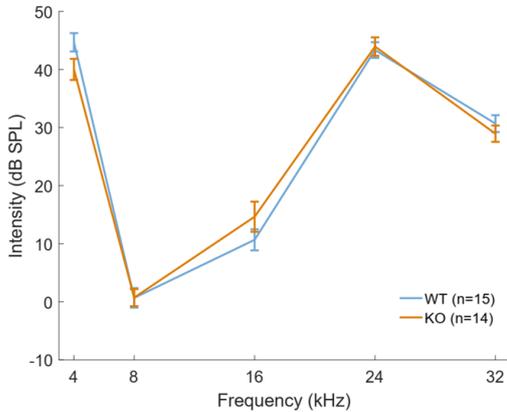
- Dinstein, I., Heeger, D.J., Lorenzi, L., Minshew, N.J., Malach, R., Behrmann, M., 2012. Unreliable evoked responses in autism. *Neuron* 75, 981–991. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.07.026>
- Dunlap, A.G., Besosa, C., Pascual, L.M., Chong, K.K., Walum, H., Kacsoh, D.B., Tankeu, B.B., Lu, K., Liu, R.C., 2020. Becoming a better parent: Mice learn sounds that improve a stereotyped maternal behavior. *Horm Behav* 124, 104779. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2020.104779>
- Ehret, G., 2006. Common rules of communication sound perception. *Behavior and Neurodynamics for Auditory Communication* 85–114.
- Fan, Y.-T., Cheng, Y., 2014. Atypical mismatch negativity in response to emotional voices in people with autism spectrum conditions. *PLoS One* 9, e102471. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102471>
- Foster, W.J., Taylor, H.B.C., Padamsey, Z., Jeans, A.F., Galione, A., Emptage, N.J., 2018. Hippocampal mGluR1-dependent long-term potentiation requires NAADP-mediated acidic store Ca<sup>2+</sup> signaling. *Sci Signal* 11, eaat9093. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aat9093>
- Galione, A., 2019. NAADP Receptors. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 11, a035071. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a035071>
- Gaucher, Q., Edeline, J.-M., 2015. Stimulus-specific effects of noradrenaline in auditory cortex: implications for the discrimination of communication sounds. *J Physiol* 593, 1003–1020. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.282855>
- Gaucher, Q., Huetz, C., Gourévitch, B., Edeline, J.-M., 2013. Cortical inhibition reduces information redundancy at presentation of communication sounds in the primary auditory cortex. *J Neurosci* 33, 10713–10728. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0079-13.2013>
- Geramita, M.A., Wen, J.A., Rannals, M.D., Urban, N.N., 2020. Decreased amplitude and reliability of odor-evoked responses in two mouse models of autism. *J Neurophysiol* 123, 1283–1294. <https://doi.org/10.1152/jn.00277.2019>
- Gerndt, S., Chen, C.-C., Chao, Y.-K., Yuan, Y., Burgstaller, S., Scotto Rosato, A., Krogsaeter, E., Urban, N., Jacob, K., Nguyen, O.N.P., Miller, M.T., Keller, M., Vollmar, A.M., Gudermann, T., Zierler, S., Schredelseker, J., Schaefer, M., Biel, M., Malli, R., Wahl-Schott, C., Bracher, F., Patel, S., Grimm, C., 2020. Agonist-mediated switching of ion selectivity in TPC2 differentially promotes lysosomal function. *Elife* 9, e54712. <https://doi.org/10.7554/eLife.54712>
- Guo, W., Chambers, A.R., Darrow, K.N., Hancock, K.E., Shinn-Cunningham, B.G., Polley, D.B., 2012. Robustness of cortical topography across fields, laminae, anesthetic states, and neurophysiological signal types. *J Neurosci* 32, 9159–9172. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0065-12.2012>
- Hackett, T.A., Barkat, T.R., O'Brien, B.M.J., Hensch, T.K., Polley, D.B., 2011. Linking topography to tonotopy in the mouse auditory thalamocortical circuit. *J Neurosci* 31, 2983–2995. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5333-10.2011>
- Haigh, S.M., Gupta, A., Barb, S.M., Glass, S.A.F., Minshew, N.J., Dinstein, I., Heeger, D.J., Eack, S.M., Behrmann, M., 2016. Differential sensory fMRI signatures in autism and schizophrenia: Analysis of amplitude and trial-to-trial variability. *Schizophr Res* 175, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2016.03.036>
- Higashida, H., 2016. Somato-axodendritic release of oxytocin into the brain due to calcium amplification is essential for social memory. *J Physiol Sci* 66, 275–282. <https://doi.org/10.1007/s12576-015-0425-0>
- Higashida, H., Hashii, M., Tanaka, Y., Matsukawa, S., Higuchi, Y., Gabata, R., Tsubomoto, M., Seishima, N., Teramachi, M., Kamijima, T., Hattori, T., Hori, O., Tsuji, C., Cherepanov, S.M., Shabalova, A.A., Gerasimenko, M., Minami, K., Yokoyama, S., Munesue, S.-I., Harashima, A., Yamamoto, Y., Salmina, A.B., Lopatina, O., 2019. CD38, CD157, and RAGE as Molecular Determinants for Social Behavior. *Cells* 9, E62. <https://doi.org/10.3390/cells9010062>
- Huang, L., Ledochowitsch, P., Knoblich, U., Lecoq, J., Murphy, G.J., Reid, R.C., de Vries, S.E., Koch, C., Zeng, H., Buice, M.A., Waters, J., Li, L., 2021. Relationship between simultaneously recorded spiking activity and fluorescence signal in GCaMP6 transgenic mice. *Elife* 10, e51675. <https://doi.org/10.7554/eLife.51675>
- Huetz, C., Philibert, B., Edeline, J.-M., 2009. A spike-timing code for discriminating conspecific vocalizations in the thalamocortical system of anesthetized and awake guinea pigs. *J Neurosci* 29, 334–350. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3269-08.2009>
- Husarova, V.M., Lakatosova, S., Pivovarciova, A., Babinska, K., Bakos, J., Durdiakova, J., Kubranska, A., Ondrejka, I., Ostatnikova, D., 2016. Plasma Oxytocin in Children with Autism and Its Correlations with Behavioral Parameters in Children and Parents. *Psychiatry Investig* 13, 174–183. <https://doi.org/10.4306/pi.2016.13.2.174>

- Joachimsthaler, B., Uhlmann, M., Miller, F., Ehret, G., Kurt, S., 2014. Quantitative analysis of neuronal response properties in primary and higher-order auditory cortical fields of awake house mice (*Mus musculus*). *Eur. J. Neurosci.* 39, 904–918. <https://doi.org/10.1111/ejn.12478>
- Khan, S.Y., Riazuddin, Saima, Tariq, M., Anwar, S., Shabbir, M.I., Riazuddin, S.A., Khan, S.N., Husnain, T., Ahmed, Z.M., Friedman, T.B., Riazuddin, Sheikh, 2007. Autosomal recessive nonsyndromic deafness locus DFNB63 at chromosome 11q13.2-q13.3. *Hum Genet* 120, 789–793. <https://doi.org/10.1007/s00439-006-0275-1>
- Krol, K.M., Namaky, N., Monakhov, M.V., Lai, P.S., Ebstein, R., Grossmann, T., 2021. Genetic variation in the oxytocin system and its link to social motivation in human infants. *Psychoneuroendocrinology* 131, 105290. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2021.105290>
- Lee, H.C., 2006. Structure and enzymatic functions of human CD38. *Mol Med* 12, 317–323. <https://doi.org/10.2119/2006-00086.Lee>
- Lepistö, T., Kuitunen, A., Sussman, E., Saalasti, S., Jansson-Verkasalo, E., Nieminen-von Wendt, T., Kujala, T., 2009. Auditory stream segregation in children with Asperger syndrome. *Biol Psychol* 82, 301–307. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2009.09.004>
- Lin, F.G., Liu, R.C., 2010. Subset of thin spike cortical neurons preserve the peripheral encoding of stimulus onsets. *J. Neurophysiol.* 104, 3588–3599. <https://doi.org/10.1152/jn.00295.2010>
- Liu, R.C., Miller, K.D., Merzenich, M.M., Schreiner, C.E., 2003. Acoustic variability and distinguishability among mouse ultrasound vocalizations. *J Acoust Soc Am* 114, 3412–3422. <https://doi.org/10.1121/1.1623787>
- Liu, R.C., Schreiner, C.E., 2007. Auditory cortical detection and discrimination correlates with communicative significance. *PLoS Biol.* 5, e173. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050173>
- Marlin, B.J., Mitre, M., D'amour, J.A., Chao, M.V., Froemke, R.C., 2015. Oxytocin enables maternal behaviour by balancing cortical inhibition. *Nature* 520, 499–504. <https://doi.org/10.1038/nature14402>
- Martucci, L.L., Amar, M., Chausseot, R., Benet, G., Bauer, O., de Zélicourt, A., Nosjean, A., Launay, J.-M., Callebert, J., Sebré, C., Galione, A., Edeline, J.-M., de la Porte, S., Fossier, P., Granon, S., Vaillend, C., Cancela, J.-M., 2019. A multiscale analysis in CD38<sup>-/-</sup> mice unveils major prefrontal cortex dysfunctions. *FASEB J* 33, 5823–5835. <https://doi.org/10.1096/fj.201800489R>
- Mei, Y., Monteiro, P., Zhou, Y., Kim, J.-A., Gao, X., Fu, Z., Feng, G., 2016. Adult restoration of Shank3 expression rescues selective autistic-like phenotypes. *Nature* 530, 481–484. <https://doi.org/10.1038/nature16971>
- Menteyne, A., Burdakov, A., Charpentier, G., Petersen, O.H., Cancela, J.-M., 2006. Generation of specific Ca<sup>2+</sup> signals from Ca<sup>2+</sup> stores and endocytosis by differential coupling to messengers. *Curr Biol* 16, 1931–1937. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.07.070>
- Nguyen, R.L., Medvedeva, Y.V., Ayyagari, T.E., Schmunk, G., Gargus, J.J., 2018. Intracellular calcium dysregulation in autism spectrum disorder: An analysis of converging organelle signaling pathways. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 1865, 1718–1732. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.08.003>
- O'Connor, K., 2012. Auditory processing in autism spectrum disorder: a review. *Neurosci Biobehav Rev* 36, 836–854. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.11.008>
- Oram Cardy, J.E., Flagg, E.J., Roberts, W., Roberts, T.P.L., 2008. Auditory evoked fields predict language ability and impairment in children. *Int J Psychophysiol* 68, 170–175. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2007.10.015>
- Padamsey, Z., McGuinness, L., Bardo, S.J., Reinhart, M., Tong, R., Hedegaard, A., Hart, M.L., Emptage, N.J., 2017. Activity-Dependent Exocytosis of Lysosomes Regulates the Structural Plasticity of Dendritic Spines. *Neuron* 93, 132–146. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.11.013>
- Patel, S., 2015. Function and dysfunction of two-pore channels. *Sci Signal* 8, re7. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aab3314>
- Perry, E.K., Lee, M.L., Martin-Ruiz, C.M., Court, J.A., Volsen, S.G., Merritt, J., Folly, E., Iversen, P.E., Bauman, M.L., Perry, R.H., Wenk, G.L., 2001. Cholinergic activity in autism: abnormalities in the cerebral cortex and basal forebrain. *Am J Psychiatry* 158, 1058–1066. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.158.7.1058>
- Roberts, T.P.L., Khan, S.Y., Rey, M., Monroe, J.F., Cannon, K., Blaskey, L., Woldoff, S., Qasmieh, S., Gandal, M., Schmidt, G.L., Zarnow, D.M., Levy, S.E., Edgar, J.C., 2010. MEG detection of delayed auditory evoked responses in autism

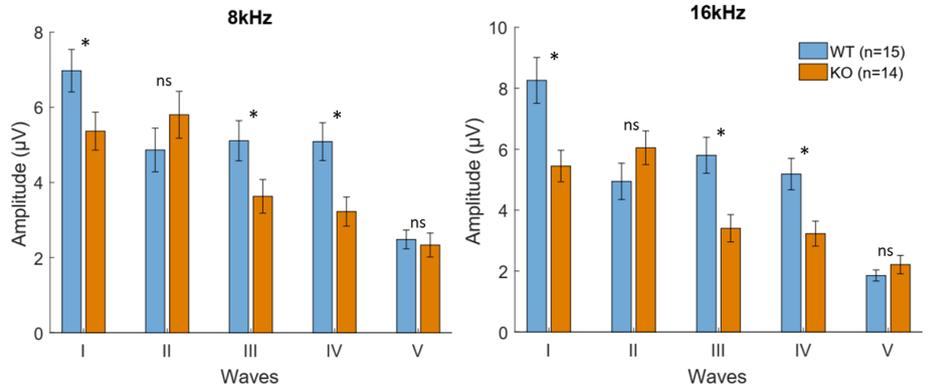
- spectrum disorders: towards an imaging biomarker for autism. *Autism Res* 3, 8–18. <https://doi.org/10.1002/aur.111>
- Royer, J., Huetz, C., Occelli, F., Cancela, J.-M., Edeline, J.-M., 2021. Enhanced Discriminative Abilities of Auditory Cortex Neurons for Pup Calls Despite Reduced Evoked Responses in C57BL/6 Mother Mice. *Neuroscience* 453, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.11.031>
- Ruas, M., Galione, A., Parrington, J., 2015. Two-Pore Channels: Lessons from Mutant Mouse Models. *Messenger (Los Angel)* 4, 4–22. <https://doi.org/10.1166/msr.2015.1041>
- Schnupp, J.W.H., Hall, T.M., Kokelaar, R.F., Ahmed, B., 2006. Plasticity of temporal pattern codes for vocalization stimuli in primary auditory cortex. *J. Neurosci.* 26, 4785–4795. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4330-05.2006>
- Scott, K.E., Kazazian, K., Mann, R.S., Möhrle, D., Schormans, A.L., Schmid, S., Allman, B.L., 2020. Loss of *Cntnap2* in the Rat Causes Autism-Related Alterations in Social Interactions, Stereotypic Behavior, and Sensory Processing. *Autism Res* 13, 1698–1717. <https://doi.org/10.1002/aur.2364>
- Scott, K.E., Schormans, A.L., Pacoli, K.Y., De Oliveira, C., Allman, B.L., Schmid, S., 2018. Altered Auditory Processing, Filtering, and Reactivity in the *Cntnap2* Knock-Out Rat Model for Neurodevelopmental Disorders. *J Neurosci* 38, 8588–8604. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0759-18.2018>
- Shannon, C.E., 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal* 27, 379–423. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
- Shepard, K.N., Chong, K.K., Liu, R.C., 2016. Contrast Enhancement without Transient Map Expansion for Species-Specific Vocalizations in Core Auditory Cortex during Learning. *eNeuro* 3. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0318-16.2016>
- Shepard, K.N., Lin, F.G., Zhao, C.L., Chong, K.K., Liu, R.C., 2015. Behavioral relevance helps untangle natural vocal categories in a specific subset of core auditory cortical pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 35, 2636–2645. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3803-14.2015>
- Shink, E., Morissette, J., Sherrington, R., Barden, N., 2005. A genome-wide scan points to a susceptibility locus for bipolar disorder on chromosome 12. *Mol Psychiatry* 10, 545–552. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001601>
- Souffi, S., Lorenzi, C., Varnet, L., Huetz, C., Edeline, J.-M., 2020. Noise-sensitive but more precise subcortical representations co-exist with robust cortical encoding of natural vocalizations. *J. Neurosci.* <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2731-19.2020>
- Teder-Sälejärvi, W.A., Pierce, K.L., Courchesne, E., Hillyard, S.A., 2005. Auditory spatial localization and attention deficits in autistic adults. *Brain Res Cogn Brain Res* 23, 221–234. <https://doi.org/10.1016/j.cogbrainres.2004.10.021>
- Thye, M.D., Bednarz, H.M., Herringshaw, A.J., Sartin, E.B., Kana, R.K., 2018. The impact of atypical sensory processing on social impairments in autism spectrum disorder. *Dev Cogn Neurosci* 29, 151–167. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2017.04.010>
- Tillmann, J., Uljarevic, M., Crawley, D., Dumas, G., Loth, E., Murphy, D., Buitelaar, J., Charman, T., AIMS-2-TRIALS LEAP group, 2020. Dissecting the phenotypic heterogeneity in sensory features in autism spectrum disorder: a factor mixture modelling approach. *Mol Autism* 11, 67. <https://doi.org/10.1186/s13229-020-00367-w>
- Wang, X., Zhang, X., Dong, X.-P., Samie, M., Li, X., Cheng, X., Goschka, A., Shen, D., Zhou, Y., Harlow, J., Zhu, M.X., Clapham, D.E., Ren, D., Xu, H., 2012. TPC proteins are phosphoinositide-activated sodium-selective ion channels in endosomes and lysosomes. *Cell* 151, 372–383. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.08.036>
- Whitehouse, A.J.O., Bishop, D.V.M., 2008. Do children with autism “switch off” to speech sounds? An investigation using event-related potentials. *Dev Sci* 11, 516–524. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7687.2008.00697.x>
- Willott, J.F., Aitkin, L.M., McFadden, S.L., 1993. Plasticity of auditory cortex associated with sensorineural hearing loss in adult C57BL/6J mice. *J. Comp. Neurol.* 329, 402–411. <https://doi.org/10.1002/cne.903290310>
- Winkowski, D.E., Kanold, P.O., 2013. Laminar transformation of frequency organization in auditory cortex. *J Neurosci* 33, 1498–1508. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3101-12.2013>
- Zong, X., Schieder, M., Cuny, H., Fenske, S., Gruner, C., Rötzer, K., Griesbeck, O., Harz, H., Biel, M., Wahl-Schott, C., 2009. The two-pore channel TPCN2 mediates NAADP-dependent Ca(2+)-release from lysosomal stores. *Pflugers Arch* 458, 891–899. <https://doi.org/10.1007/s00424-009-0690-y>

## Supplementary Figures

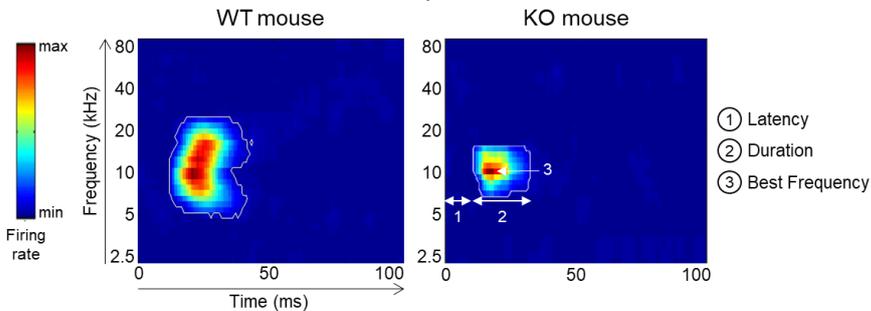
### A. Auditory Brainstem Responses (ABR)



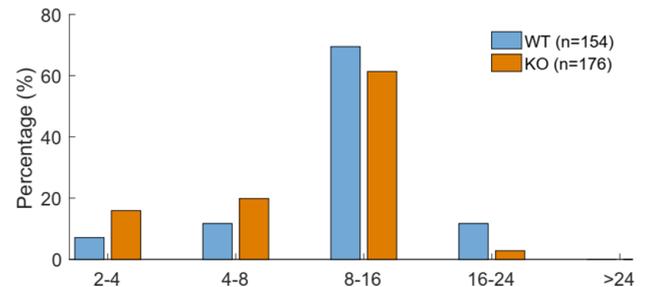
### B. Waves amplitude



### C. Receptive fields



### D. Best Frequency distribution



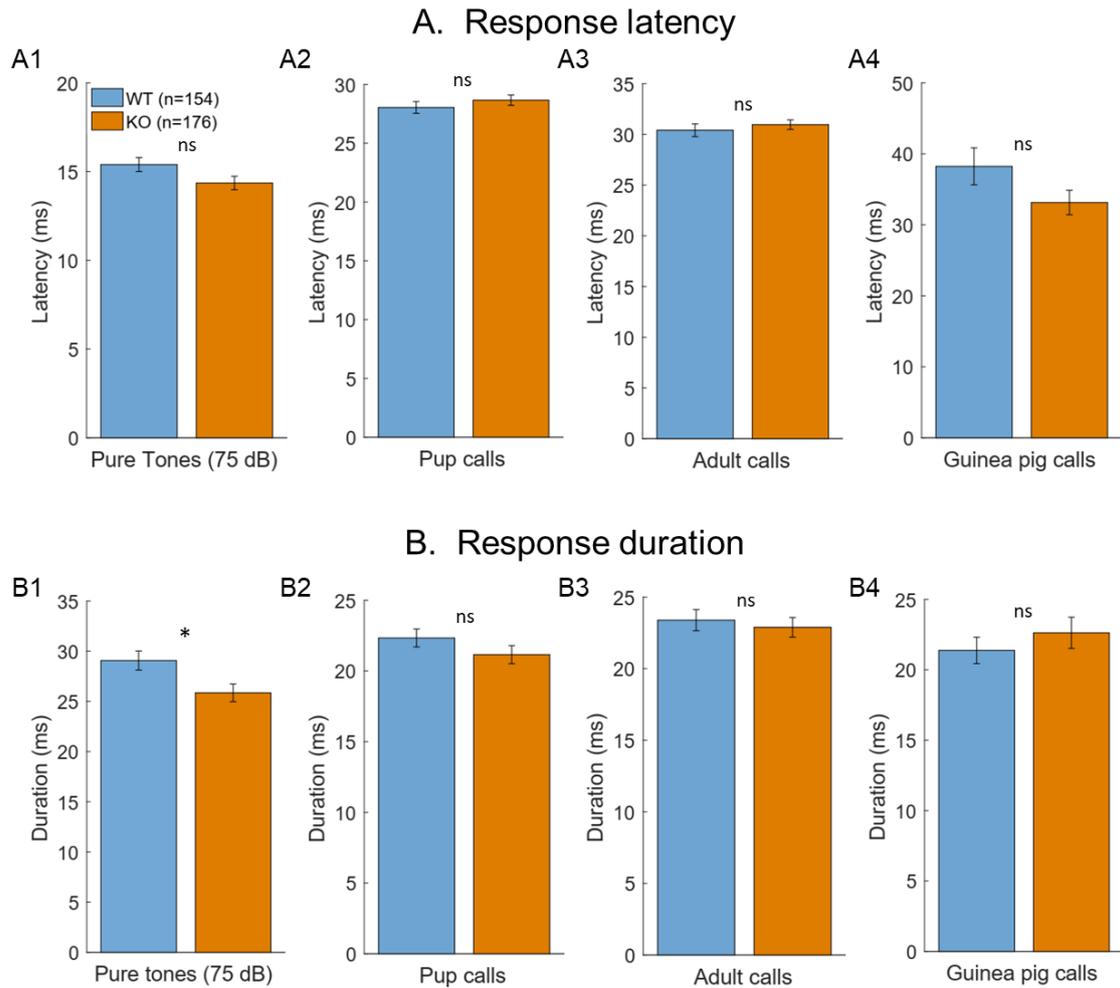
#### Supplementary Figure 1: Brainstem and cortical responses to pure tones

**A:** Thresholds of auditory brainstem responses (ABR). Pure tones (at 4, 8, 16, 24 and 32 kHz) were presented at different intensities (between 70 and -10 dB SPL) and the threshold of wave III of the ABR was determined. Each point represents the mean threshold ( $\pm$  sem) of each group at the different frequencies. The threshold of were similar in WT and KO mice.

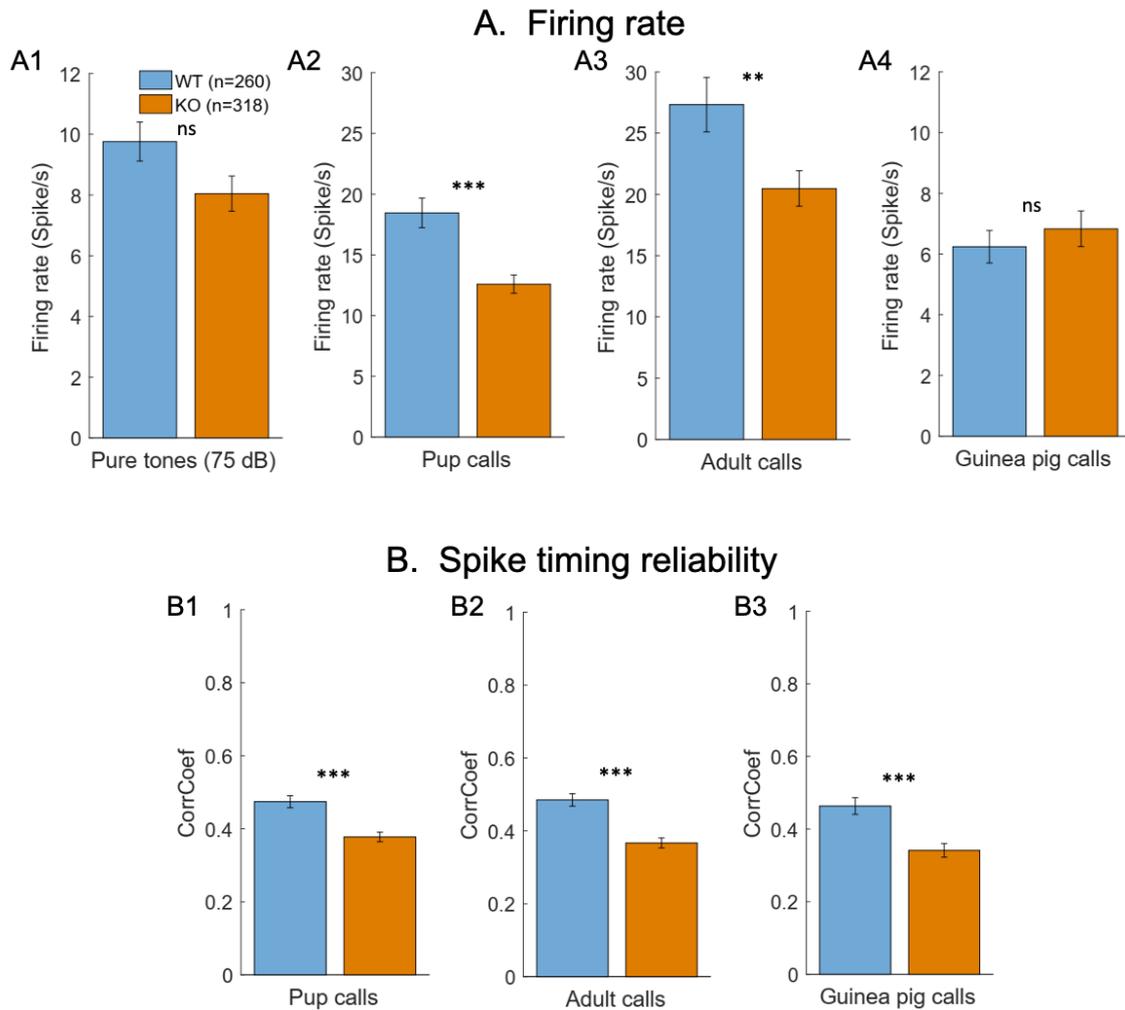
**B:** Distribution of the amplitude ( $\pm$  sem) of waves I to V at 8 and 16 kHz. A two-way ANOVA compared the amplitude of the five ABR waves in WT and TPC KO mice. At 8 kHz:  $F_{1,13}=7.3$ ,  $p<0.01$  and at 16 kHz:  $F_{1,13}=12.19$ ,  $p<0.001$ . The amplitude of waves I, II and IV were significantly lower in TPC KO mice compared to WT mice, at 8 and 16 kHz (all unpaired t-test,  $p<0.05$ ).

**C:** Typical examples of receptive fields (STRFs) in response to pure tones in the primary auditory cortex of WT (left) and TPC KO (right) mice. Gamma tones (50ms in duration) between 2.5 and 80 kHz were presented at 75 dB at a rate of 4Hz. The color gradient represents the neurons firing rate with the blue indicating the minimum firing rate (close to the level of spontaneous activity in dark blue) and the red indicating the maximum firing rate obtained for a range of frequencies. The thin white line indicates the evoked firing rate 6SD above the mean level of spontaneous activity. The maximum firing rate at a given frequency allows defining the neuron Best Frequency (BF). The latency (1), and the duration (2) have also been quantified for each receptive field.

**D:** Distribution of the neurons' Best Frequencies (BF). The BF values were classified by octaves. The distributions of the BF were significantly different between WT and TPC KO mice ( $\chi^2=19.64$ ,  $p>0.001$ ).



**Supplementary Figure 2: Response latency and duration to stimuli in extracellular electrophysiology recordings**  
**A:** On average, the response latency to pure tones (A1), pup calls (A2), adult calls (A3) and guinea pig calls (A4) was not significantly different between WT and TPC KO mice (unpaired t-test, all p-values > 0.05).  
**B:** The mean ( $\pm$  sem) response duration to communication sounds (pup calls (A2), adult calls (A3) and guinea pig calls (A4)) was not significantly different between WT and TPC KO mice (unpaired t-test, all p-values > 0.05), but it was significantly different in response to pure tones (Supp Figure A1: unpaired t-test,  $p=0.04$ ).

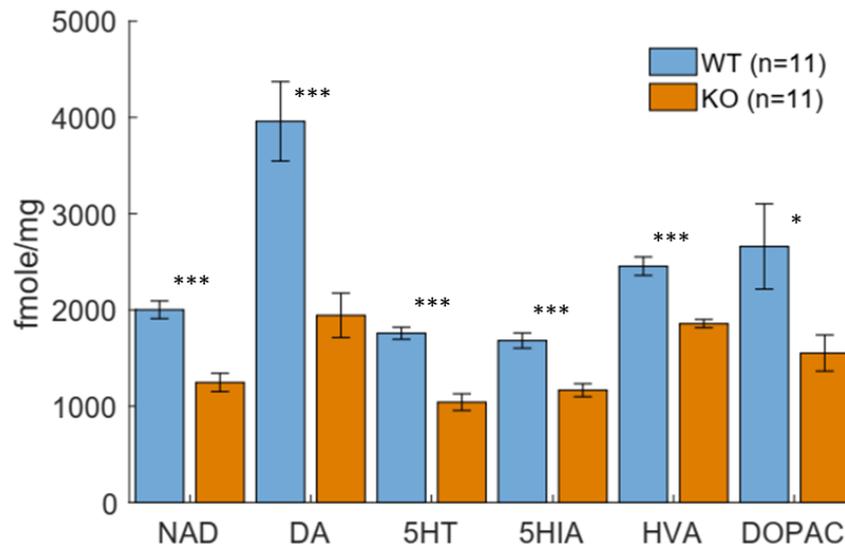


Supplementary Figure 3: Firing rate and spike timing reliability from neurons responding to pure tones and/or vocalizations in extracellular electrophysiology recordings

**A:** The difference of mean firing rate ( $\pm$  sem) between WT or TPC KO neurons responding to pure tones and/or vocalizations is significantly the same that neurons responding to pure tones and vocalizations: On average, the responses to pup and adult calls were significantly lower in TPC KO mice compared with WT mice (unpaired t-test,  $p < 0.001$ ).

**B:** The difference of spike timing reliability ( $\pm$  sem) between WT or TPC KO neurons responding to pure tones and/or vocalizations is significantly the same that neurons responding to pure tones and vocalizations: On average, the CorrCoef was significantly lower in TPC KO mice compared with WT mice (unpaired t-test,  $p < 0.001$ ) in response to communication sounds.

## Cortical concentrations of NAD and monoamines



Supplementary Figure 4: Levels of NAD and monoamines measured in cortex of WT and TPC KO mice

The concentrations of Nicotinamide Adénine Dinucleotide (NAD), Dopamine (DA), Serotonin (5-HT), 5-Hydroxy-Indolacetic Acid (5HIA – serotonin metabolite), Homovanillic Acid (HVA – dopamine metabolite), and Dixydroxy-phenylacetic Acid (DOPAC – dopamine metabolite) are significantly lower in cortex of TPC KO mice compared to WT mice (DOPAC : unpaired t-test,  $p < 0.05$ , others : unpaired t-test,  $p < 0.001$ ).



## Enhanced Discriminative Abilities of Auditory Cortex Neurons for Pup Calls Despite Reduced Evoked Responses in C57BL/6 Mother Mice

Juliette Royer,<sup>a,b</sup> Chloé Huetz,<sup>a,b</sup> Florian Occelli,<sup>a,b,†</sup> José-Manuel Cancela<sup>a,b,†</sup> and Jean-Marc Edeline<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Université Paris-Saclay, CNRS UMR 9197, Institut des neurosciences Paris-Saclay, 91190 Gif-sur-Yvette, France

<sup>b</sup> Institut des neurosciences Paris-Saclay, CNRS, 91190 Gif-sur-Yvette, France

**Abstract**—A fundamental task for the auditory system is to process communication sounds according to their behavioral significance. In many mammalian species, pup calls became more significant for mothers than other conspecific and heterospecific communication sounds. To study the cortical consequences of motherhood on the processing of communication sounds, we recorded neuronal responses in the primary auditory cortex of virgin and mother C57BL/6 mice which had similar ABR thresholds. In mothers, the evoked firing rate in response to pure tones was decreased and the frequency receptive fields were narrower. The responses to pup and adult calls were also reduced but the amount of mutual information (MI) per spike about the pup call's identity was increased in mother mice. The response latency to pup and adult calls was significantly shorter in mothers. Despite similarly decreased responses to guinea pig whistles, the response latency, and the MI per spike did not differ between virgins and mothers for these heterospecific vocalizations. Noise correlations between cortical recordings were decreased in mothers, suggesting that the firing rate of distant neurons was more independent from each other. Together, these results indicate that in the most commonly used mouse strain for behavioral studies, the discrimination of pup calls by auditory cortex neurons is more efficient during motherhood. © 2020 IBRO. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

**Key words:** communication sounds, cortical discrimination, mutual information, noise correlations, Auditory Brainstem Response (ABR), motherhood.

### INTRODUCTION

Acoustic communication is crucial for social interactions, and many animal models have been proposed to understand how the behavioral significance of communication sounds impacts their processing by central auditory neurons. The mouse ultrasound communication provides such an opportunity. When isolated from the nest, mouse pups emit bouts of ultrasonic calls (> 25 kHz, Noiro, 1966; Sewell, 1968), which act as a trigger to elicit the search and retrieval by the mother mice (Sewell, 1970; Haack et al., 1983).

It has been shown that some call parameters, like ultrasonic bandwidth and duration, are perceived in a categorical fashion by mothers (Ehret and Haack, 1981, 1982; Ehret, 1992). In two-alternative choice experiments, mothers preferentially approach pup-like ultrasounds compared with a neutral non-communicative sound; while pup-naïve, virgin females do not (Ehret et al., 1987). This suggests that pup calls do not trigger a selective caring behavior in virgin females, while they do in mothers (Ehret, 2005).

Initially, many studies that have investigated the neural bases of pup call detection and discrimination have used the CBA/CaJ mouse strain which is known to have good hearing and show moderate age-related hearing loss until almost 2 years old (Willott, 1986; Willott et al., 1991; Walton et al., 1998). Using this strain as model, several important findings have been reported. First, although cortical neurons recorded in mothers (11–18 weeks old) do not fire more at pup call presentation, their responses peaked earlier with a shorter response duration (Liu and Schreiner, 2007). More importantly, the responses of neurons in mothers convey more information for detecting and discriminating pup calls, especially during the very first ms of the response (Liu and Schreiner, 2007). Subsequent studies have indicated

\*Correspondence to: J.-M. Edeline, Université Paris-Saclay, CNRS UMR 9197, Institut des neurosciences Paris-Saclay, 91190 Gif-sur-Yvette, France.

E-mail address: [jean-marc.edeline@u-psud.fr](mailto:jean-marc.edeline@u-psud.fr) (J.-M. Edeline).

† These authors equally contributed to the work.

‡ Present address: International Research Center for Neurointelligence (IRCN), University of Tokyo Institutes for Advanced Study, Tokyo 113-0033, Japan.

**Abbreviations:** ABR, Auditory Brainstem Response; ACx, Auditory Cortex; AP, Action Potential; BF, Best Frequency; MI, Mutual Information; NC, Noise Correlations; PPN, Putative Pyramidal Neuron; SNR, Signal-to-Noise Ratio; SSNC, Stimulus-Specific Noise Correlations; STRF, Spectro-Temporal Receptive Field; USV, Ultrasonic Vocalizations.

the lack of firing rate difference between the responses to pup calls and adult calls in mother mice (14–24 weeks old), and pointed out that only putative pyramidal neurons (PPNs) in mother mice (but not in non-maternal mice) showed a larger Signal-to-Noise Ratio (SNR) for pup calls compared to adult calls. In these PPNs, the discrimination between pup calls and adult calls was better than between adult call themselves (Shepard et al., 2015). Last, a multiunit study revealed that animals (11–17 weeks old) with more maternal experience show enhanced suppression of responses to ultrasound stimuli in low frequency tuned cortical areas (Shepard et al., 2016).

The results seem different in mice strains having a limited cortical representation of ultrasounds such as the C57BL/6 mouse, which is the most widely used in behavioral studies. For example, this mouse strain was widely used when testing performance in spatial learning tasks (review in Rossi-Arnaud and Ammassari-Teule, 1998), in olfactory learning (Restivo et al. 2006), in object recognition tasks (Fahlström et al., 2011), and also in tasks involving auditory stimuli (André et al., 2012; Behrens and Klump, 2016; Pollack et al., 2018) and social interactions (Chabout et al., 2013; Faure et al., 2017; Ey et al., 2012; Carola et al., 2008). Furthermore, this strain became the most widely used in studies aiming at targeting specific cell types by Cre-dependent reporters. In this mouse strain, there was no difference in firing rate between lactating mothers (10–12 weeks old) and naïve virgins both for pyramidal cells and for parvalbumin positive cells (Cohen and Mizrahi, 2015), a finding that has been replicated in NMRI mice (Rothschild et al., 2013). There was also very few cells responding to pup calls: 0/77 cells in naïve virgins and 3/70 in lactating mothers (Cohen and Mizrahi, 2015). However, a recent study performed in C57BL/6 mice (8–10 weeks old), using a new reporter mouse strain to target specifically neurons activated by natural sounds, has shown a transient recruitment of neurons responsive to ultrasonic vocalizations (USV) (Tasaka et al., 2018). Interestingly, note that in this study, the vast majority of the responding neurons have Best Frequency (BF) < 20 kHz.

In the present study, we aimed at determining whether the differences in neuronal response parameters between virgins and mothers described in CBA/CaJ mice can also be found in C57BL/6 mice. To answer this question, we provided here exhaustive quantifications by (i) analyzing the auditory brainstem responses in terms of threshold, amplitude and latency, and (ii) using a large database to compare responses of auditory cortex neurons to pure tones, conspecific (pup and adult calls) and heterospecific vocalizations (as control stimuli) between these two groups of C57BL/6 mice. Our main findings were that at the brainstem level, thresholds were similar with shorter latencies in response to pure tones in mothers; whereas at the cortical level, the responses to all auditory stimuli were decreased with shorter latencies in mothers except for the heterospecific vocalizations. In addition, the mutual information per action potential was significantly higher, for the pup calls only, in mother mice.

## EXPERIMENTAL PROCEDURES

### Subjects and audiogram

These experiments were performed under the national license A-91-557 (project 2017-31, authorization 05202.02) and using the procedures N° 32-2011 and 34-2012 validated by the Ethic committee N°59 (CEEA Paris Centre et Sud). All surgical procedures were performed in accordance with the guidelines established by the European Communities Council Directive (2010/63/EU Council Directive Decree).

Data are from 15 virgin and 15 mother C57BL/6 background mice (9–24 weeks old) weighting from 21 to 40 g (virgin median 25 g; mother median 33 g). They came from our own colony housed in a humidity (50–55%) and temperature (22–24 °C)-controlled facility on a 12 h/12 h light/dark cycle (light on at 7:30 A.M.) with free access to food and water. The day of the experiment, the animal's pure-tone audiogram was determined by testing auditory brainstem responses (ABR) under Ketamine/Xylazine anesthesia as previously described (Chausseot et al., 2015; Martucci et al., 2019). A software (RTLab, Echodia, Clermont-Ferrand, France) allowed averaging 500 responses during the presentation of five pure-tone frequencies (between 4 and 32 kHz) delivered by a speaker (Knowles Electronics) placed in the animal right ear. The auditory threshold for each frequency was the lowest intensity where a small ABR wave can still be detected (usually waves II and III). For each frequency, the threshold was determined by gradually decreasing the sound intensity (from 80 dB down to –10 dB SPL). For their age (2–5 months), all the animals used in this study had normal pure-tone audiograms for the C7BL/6 genetic background (Chausseot et al., 2015). During off-line analyses, the amplitudes and latencies of the five ABR waves were quantified at 70 dB SPL for both groups.

### Recording procedures

Cortical extracellular recordings were obtained from arrays of 16 tungsten electrodes ( $\varnothing$ : 33  $\mu$ m, < 1 M $\Omega$ ) composed of two rows of 8 electrodes separated by 1000  $\mu$ m (350  $\mu$ m between electrodes of the same row). A silver wire, used as ground, was inserted between the temporal bone and the dura matter on the contralateral side. A large craniotomy was performed based on stereotaxic coordinates (Anteriority: 0 to –5 mm from Bregma; Laterality: –1 to –7 mm from Bregma) then the location of the left primary auditory cortex was estimated from the pattern of vasculature reported in previous studies (Hackett et al., 2011; Willott et al., 1993; Barkat et al., 2011; Joachimsthaler et al., 2014).

The raw signal was amplified 10,000 times (TDT Medusa). It was then processed by an RX5 multichannel data acquisition system (TDT). The signal collected from each electrode was filtered (610–10,000 Hz) to extract multi-unit activity (MUA). The trigger level was set for each electrode to select the largest action potentials from the signal. On-line and off-line examination of the action potential waveforms

indicates that the MUA collected here was made of 2–6 shapes of action potentials generated by neurons at close vicinity of the electrode.

### Acoustic stimuli

Acoustic stimuli were generated using MATLAB, transferred to a RP2.1-based sound delivery system (TDT, sampling rate 195 kHz) and sent to an electrostatic speaker driver (ED1) and electrostatic speaker (EC1, Tucker Davis Technologies, Alachua, FL). The polyethylene tube at the output of the speaker was inserted in the mouse's right ear. Calibration of the speaker was made using pure tones recorded by a Bruel & Kjaer microphone 4138 coupled to a preamplifier B&K 2670 and a digital recorded (Marantz) on the Avisoft software.

Spectro-temporal receptive fields (STRFs) were first determined using 129 pure-tones frequencies scaled with a gamma function presented at 75 dB SPL covering more than 5 octaves (2 to 80 kHz). Each frequency was repeated 20 times at a rate of 4 Hz in pseudorandom order. The duration of these tones over half-peak amplitude was 15 ms and the total duration of the tone was 50 ms, so there was no overlap between tones.

We played a set of 18 pup and 18 adult mice calls extracted from a large library of pup and adult calls initially described by Liu and colleagues (2003). These calls were already used in several electrophysiological studies performed on CBA/CaJ mice (Liu and Schreiner, 2007; Lin and Liu, 2010; Shepard et al., 2015). Both the pup and adult calls were 12–65 ms in duration and were in the 60–80 kHz range (see figure 9 in Liu et al., 2003). They differ in terms of their degree of frequency modulation at onset and in terms of their rise-fall time. We also used a set of heterospecific vocalizations consisting in four guinea pig whistles. The maximal energy of these four whistles was in the same frequency range (typically between 4 and 26 kHz), they only displayed slight differences in their spectrograms, but their temporal envelopes clearly differed as shown by their waveforms (see Fig. 1 from Aushana et al., 2018). These stimuli have been used in previous electrophysiological studies (Aushana et al., 2018; Souffi et al., 2020).

### Experimental protocol

All data were collected under Ketamine/Xylazine anesthesia (initial dose: 150 mg/kg and 5 mg/kg, supplemented every hour by 20 mg/kg of the mixture). After inserting the array in the cortex, a 10-minutes recovering time lapse was allowed for the cortex to return to its initial shape, then the array was slowly lowered. Quantifications of spectro-temporal receptive fields (STRFs) were used to assess the quality of our recordings and to adjust electrodes' depth. We looked for the inversion of the local field potential polarity (as in Christianson et al., 2008) and recorded at depths between 400–600  $\mu\text{m}$  below pia, which corresponds to layers III and IV according to Anderson et al. (2009).

When a clear frequency tuning was obtained for at least 4 of the 16 electrodes, the stability of the

tuning was assessed: we required that the recorded neurons displayed at least three successive similar STRFs (each lasting 240 s) before starting the protocol. The similarity was based on the BF value, as well as the breadth of tuning and the duration of the response. When the stability was satisfactory, the protocol was started by presenting the acoustic stimuli in the following order: First pure tones at 75 dB, then the pup and adult calls at 85 dB, then the 4 whistles at 75 dB SPL. Each vocalization was repeated 20 times with an inter-stimulus interval of 500 ms. Presentation of this entire stimulus set lasted 25 minutes. The protocol was re-started after moving the electrode arrays on the cortical map. Two to six positions of the electrode array were set in such a way that the two rows of eight electrodes sample neurons from the more dorsal to the more ventral portion of AI/AAF. At the end of recording session, the animal was euthanatized with an overdose of Exagon (Pentobarbital, 200 mg/kg).

### Data analysis

*Quantification of responses to pure tones.* The STRFs derived from MUA were obtained by constructing post-stimulus time histograms for each frequency with 1 ms time bins. The firing rate evoked by each frequency was quantified by summing all the action potentials from the tone onset up to 50 ms after this onset. Thus, STRFs are matrices of 100 bins in abscissa (time) multiplied by 129 bins in ordinate (frequency).

Peaks of significant response were automatically identified using the following procedure: A significant peak in the STRF was defined as a contour of firing rate above the average level of the spontaneous activity (estimated from the ten first milliseconds after tone onset) plus six times the standard deviation (SD) of the spontaneous activity. For each STRF, the Best Frequency (BF) was defined as the frequency at which the highest firing rate was recorded.

*Quantification of responses evoked by vocalizations.* The responses to vocalizations were quantified using four parameters: (i) the firing rate of the evoked response, which corresponds to the total number of action potentials occurring during the presentation of the stimulus minus spontaneous activity; (ii) the latency and (iii) the duration of the response and, (iv) the spike-timing reliability coefficient (CorrCoef), which quantifies the trial-to-trial temporal reliability of the response. This index was computed for each vocalization: it corresponds to the normalized covariance between each pair of spike trains recorded at presentation of this vocalization and was calculated as follows:

$$\text{CorrCoef} = \frac{1}{N(N-1)} \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{\sigma_{x_i x_j}}{\sigma_{x_i} \sigma_{x_j}}$$

where  $N$  is the number of trials and  $\sigma_{x_i x_j}$  is the normalized covariance at zero lag between spike trains  $x_i$  and  $x_j$  where  $i$  and  $j$  are the trial numbers. Spike trains  $x_i$  and  $x_j$  were convolved with a 10-ms width Gaussian window. Based

upon computer simulations, we have previously shown that this CorrCoef index is not a function of the neurons' firing rate (Gaucher et al., 2013). We computed the CorrCoef index with a Gaussian window of 10 ms because this value was found to be optimal for describing the neurons' trial-to-trial precision of responses to communication sounds in previous cortical studies (Aushana et al., 2018; Gaucher et al., 2013; Gaucher and Edeline, 2015; Huetz et al., 2009).

*Quantification of mutual information from the responses to vocalizations.* The method developed by Schnupp et al. (2006) was used to quantify the amount of information (Shannon, 1948) contained in the responses to vocalizations obtained with natural vocoded and noise stimuli. This method allows quantifying how well the vocalization's identity can be inferred from neuronal responses. Here, "neuronal responses" refer to the spike trains obtained from a small group of neurons below one electrode (for the computation of the individual Mutual Information, MI). Neuronal responses were represented using different time scales ranging from 65 ms (duration of the longest vocalization) to a 1-ms precision (precise temporal patterns), which allows analyzing how much the spike timing contributes to the information. As this method is exhaustively described in Schnupp et al. (2006) and in Gaucher et al. (2013), we only present below the main principles.

The method relies on a pattern-recognition algorithm that is designed to "guess which stimulus evoked a particular response pattern" by going through the following steps: From all the responses of a cortical site to the different stimuli, a single response (test pattern) is extracted and represented as a post-stimulus time histogram with a given bin size (different sizes were considered as discussed further below). Next, a mean response pattern is computed from the remaining responses (training set) for each stimulus class. The test pattern is then assigned to the stimulus class of the closest mean response pattern. This operation is repeated for all the responses, generating a confusion matrix where each response is assigned to a given stimulus class. From this confusion matrix, the Mutual Information (MI) is given by Shannon's formula:

$$MI = \sum_{x,y} p(x,y) \times \log_2 \left( \frac{p(x,y)}{p(x) \times p(y)} \right)$$

where  $x$  and  $y$  are the rows and columns of the confusion matrix, or in other words, the values taken by the random variables "presented stimulus class" and "assigned stimulus class".

In our case, we used responses to the 18 pup and 18 adult male calls and selected the responses occurring during the 65 ms after stimulus onset (i.e. the maximal duration of the calls). In a scenario where the responses did not carry information, the assignments of each response to a mean response pattern was equivalent to chance level (here 0.055 because we used 18 different stimuli and each stimulus was presented the same number of times) and the MI would be close to zero. In

the opposite case, when responses are very different between stimulus classes and very similar within a stimulus class, the confusion matrix would be diagonal, and the mutual information would tend to  $\log_2(18) = 4.17$  bits. At the cortical level, several studies have reported that an optimal bin size for obtaining a maximal value of MI was on average 8 ms (Schnupp et al., 2006; Gaucher et al., 2013; Gaucher and Edeline, 2015; Souffi et al., 2020). Here, because the natural stimuli were very short (12–65 ms), when we computed the MI for temporal precision ranging from 1–64 ms, the maximal amount of MI was obtained for a temporal precision of 4 ms. This value was therefore used for all the subsequent analyses.

The MI estimates are subject to non-negligible positive sampling biases. Therefore, as in Schnupp et al. (2006), we estimated the expected size of this bias by calculating MI values for "shuffled" data, in which the response patterns were randomly reassigned to stimulus classes. The shuffling was repeated 100 times, resulting in 100 MI estimates of the bias ( $MI_{\text{bias}}$ ). These  $MI_{\text{bias}}$  estimates were then used as estimators for the computation of the statistical significance of the MI estimate for the real (unshuffled) datasets: the real estimate was considered as significant if its value was statistically different (at the  $p$  value  $< 0.05$ ) from the distribution of  $MI_{\text{bias}}$  shuffled estimates.

*Quantification of noise correlations.* One basic measure for network dynamics is pairwise noise correlations (NC; review in Averbeck and Lee, 2004; Averbeck et al., 2006). NC measure the tendency of two neurons (or groups of neurons) to respond simultaneously above and below their respective mean firing rate. The co-fluctuation of their firing rate on a trial-by-trial basis is usually viewed as an indication that the two neurons display functional connectivity (i.e. these two neurons belong to the same neural assembly as defined by Aertsen et al., 1989; Aertsen and Gerstein, 1991).

Here, we compute NC based upon the responses to the set of 18 pup calls and 18 adult calls. This analysis was performed on pairs of recordings when at least two out of 16 simultaneous recordings showed significant responses to at least one vocalization.

The technique used to calculate the NC was identical to the one used in a previous study comparing virgin and mother mice (Rothschild et al., 2013). We first subtracted the mean response of each recording to each stimulus from all the single-trial responses of this recording to that stimulus. This resulted in a vector of fluctuations around the mean responses to the different stimuli. The correlation coefficients between pairs of such vectors were used as estimates of the NC between the two recordings.

## Statistics

To compare the mean amplitude and latency of the five ABR waves between the two groups, a two-way ANOVA (fixed effect) was performed for each sound (click, pure tones at 8 and 16 kHz). Post-hoc comparisons were performed with Fisher LSD tests. The tests were

corrected for multiple comparisons using Bonferroni corrections and were considered as significant if their  $p$  value was below 0.05.

We first tested whether we had normal distributions and equal variances in our sampled distributions for each parameters extracted from neuronal responses. In all cases, the distributions were normal allowing performing parametric tests (unpaired  $t$ -tests). When all data were compared between the two groups, Student  $t$ -tests were used, but Welch  $t$ -tests were used in some cases where the variances were not equal. To compare the mean firing rate and latency of cortical responses to pup and adult calls between the two groups, a  $n$ -way ANOVA (fixed effect; with stimulus type and groups as factors) was performed for the responses to pup calls and adult calls separately. The difference between the BF distributions was tested with Chi-Squares, and the differences in the cumulative percentage of neurons responding to 1–18 vocalizations were tested with Kolmogorov-Smirnov test. To compare the noise correlations of each stimulus from independent pairs of neurons, a one-way ANOVA test (fixed effect) was performed for each group.

In the figures, the distributions of all data are presented using violin plots, with the median indicated by a white dot and the mean by a red bar. In all figures displaying group data, we indicated by \* a  $p$  value  $< 0.05$ , by \*\* a  $p$  value  $< 0.01$  and by \*\*\* a  $p$  value  $< 0.001$ .

Here, neuronal data were collected over time by placing a 16-electrodes array at different locations on the cortical tonotopic map. Two to six positions of the electrode array were used for each animal, resulting in 31 positions for the virgins and 68 positions for mother mice. Cluster analysis was also performed by taking the position of the electrode array as cluster. When comparing the effects obtained for the 31 positions of the virgins with the 68 positions in the mothers, all the significant effects reported in the present study still hold.

## RESULTS

The data presented here are from 9–24 weeks old virgins and lactating mother females (virgins median = 10 weeks; mothers median = 13 weeks). The day of the experiment, the mothers were lactating with at least 4 pups aged of 9–10 days old.

We collected a database of 154 recordings from virgin females ( $n = 15$ ) and of 407 recordings from lactating mothers ( $n = 15$ ), obtained with about twice more positions of the electrode array in mothers. To be included in the following analyses each recording has to meet two criteria. First, it had to present a significant receptive field (with tone-evoked responses 6 SD above spontaneous activity) when tested with pure tones presented at 75 dB. Second, it had to present a significant response at least to one pup or adult call (at least 7 responses over 20 repetitions), i.e. an increase in firing rate above spontaneous activity (using Kruskal–Wallis test,  $p < 0.05$ ).

### Shorter latencies of the ABR waves in mothers compared to virgins

Before starting the cortical recordings, the ABR audiogram was systematically tested (see example Fig. 1B) and we excluded partially deaf animals with click threshold  $\geq$  to 70 dB SPL (3 animals were excluded: virgins  $n = 2$ , mothers  $n = 1$ ).

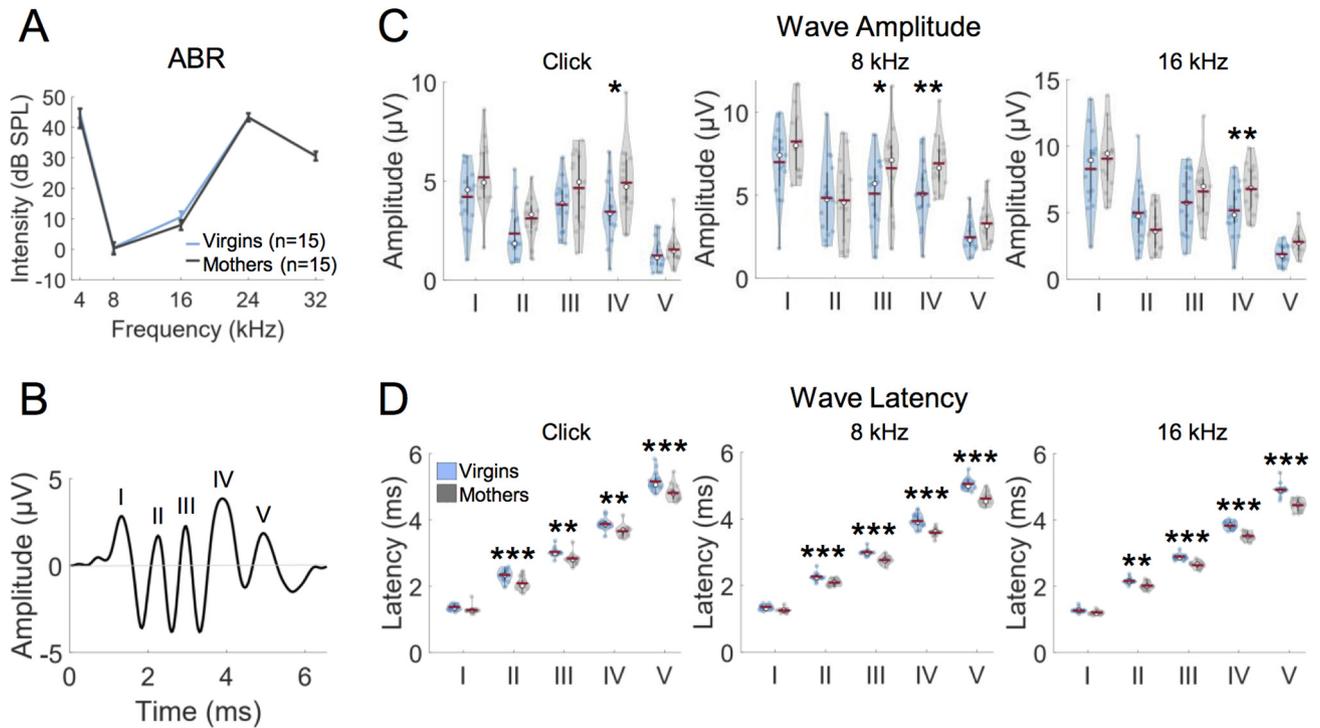
For all the tested frequencies, the mean ABR threshold did not differ between virgin and mother mice (Fig. 1A; unpaired  $t$ -tests, all  $p$ -values  $> 0.05$ ). We quantified the mean latency and the mean amplitude of the ABR waves in virgins and in mothers for click (as in Miranda et al., 2014) and for 8 and 16 kHz as it was shown to be the frequency range showing the lower thresholds in many mice strains (Zheng et al., 1999). Fig. 1 shows the mean amplitude (Fig. 1C) and mean latency (Fig. 1D) for the five ABR waves. A two-way ANOVA compared the amplitude of the five ABR waves in mothers and in virgins. For the click and for 8 kHz sound, there was a significant group-effect ( $F_{1,14} = 14.89$  and  $F_{1,14} = 10.33$ ,  $p < 0.001$ ) and a tendency for a group effect at 16 kHz ( $F_{1,14} = 3.15$ ,  $p = 0.07$ ). The wave-effect was systematically significant (all  $p$  values  $< 0.00001$ ) and there was no interaction between groups and waves (lower  $p$ -value:  $p = 0.0855$  for 16 kHz). Post-hoc analyses revealed that the amplitudes of wave IV at the click, 8 and 16 kHz were higher in mothers than in virgins (Fig. 1C, unpaired  $t$ -tests  $p < 0.05$ ) and this was also the case for the wave III at 8 kHz (unpaired  $t$ -tests  $p < 0.05$ ).

Remarkably, the latencies of all the waves were significantly and systematically shorter in mothers compared to virgins. A two-way ANOVA confirmed that the latencies of the five ABR waves were shorter in mothers and in virgins. There was a significant group-effect (click:  $F_{1,14} = 53.63$ , 8 kHz:  $F_{1,14} = 141.25$  and 16 kHz  $F_{1,14} = 165.89$ , all  $p$ -value  $< 0.00001$ ), a wave-effect (all  $p$ -values  $< 0.00001$ ) and an interaction between groups and waves (click and 8 kHz  $p < 0.0001$ , at 16 kHz:  $p = 0.08$ ). Post-hoc analyses revealed that, for waves II to V, the latencies of responses to click and tones were shorter in mothers than in virgins (Fig. 1D, all unpaired  $t$ -tests  $p < 0.05$ ).

In conclusion, the ABR threshold did not differ between the two groups but the amplitude of waves IV and III, which mostly reflect the neuronal activity of the superior olivary complex and inferior colliculus, was significantly larger. Except for wave I, the latency of the ABR waves was shorter in mother than in virgins.

### Smaller receptive fields in the primary auditory cortex (A1) of lactating mothers

Typical examples of STRFs obtained at 75 dB are displayed in Fig. 2A. Similar to what has been previously reported in C57BL/6 mice (e.g., see Hackett et al., 2011), the BF values were between 2.5 kHz and 24 kHz, and none of the recordings obtained in our mice showed BFs between 24 kHz and 80 kHz, confirming the lack of high frequency representation at the cortical level in the C57BL/6 mouse. The two BF distributions



**Fig. 1.** ABR threshold, amplitude and latency of the waves in virgin and mother mice. **(A)** The threshold of auditory brainstem responses (ABR) were similar in virgin and mother mice. Pure tones (at 4, 8, 16, 24 and 32 kHz) were presented at different intensities (between 70 and  $-10$  dB SPL) and the threshold of wave III of the ABR was determined. Each point represents the mean threshold ( $\pm$  sem) of each group at the different frequencies. **(B)** Typical example of the ABR waves (labeled I to V) detected at 70 dB SPL for a 8 kHz pure tone (500 trials repeated at 10 Hz). **(C)** Violin plots displaying the distribution of the amplitude of waves I to V in virgins and mother mice. The amplitude of waves IV were significantly larger in mothers than in virgins at the click, at 8 and 16 kHz. It was also the case for the amplitude of wave III at 8 kHz. **D:** Violin plots displaying the distribution of the latency of waves I to V in virgins and mother mice. The latencies of waves II to V were significantly shorter in mothers compared to virgins at click, 8 and 16 kHz. In each violin plot, the open dot represents the median, the horizontal bar represents the mean and the vertical bar the 25th and 75th quartiles. \*:  $p$  value  $< 0.05$ ; \*\*:  $p$  value  $< 0.01$ ; \*\*\*:  $p$  value  $< 0.001$ .

did not significantly differ between lactating mothers and virgins ( $\chi^2 = 4.94$ ,  $p = 0.17$ ; Fig. 2B).

Fig. 2C displays the main parameters derived from the STRF quantifications, i.e., the evoked firing rate (the total number of action potentials falling in the significant contours of the STRFs), the total bandwidth (in octave), the response latency (in ms) at the best frequency and the responses duration (in ms). As shown on Fig. 2C, all these parameters were significantly lower in the lactating mother than in the virgin mice (unpaired  $t$ -tests; all  $p$  values  $p < 0.01$ ). This indicates that, in lactating mothers, auditory cortex (ACx) neurons emitted fewer action potentials (AP) at pure tone presentations, and that the temporal and spectral extents of the receptive fields were smaller. However, the evoked responses occurred at slightly shorter latency after tone onset.

#### Attenuation of the responses strength to pups and adult calls in lactating mothers

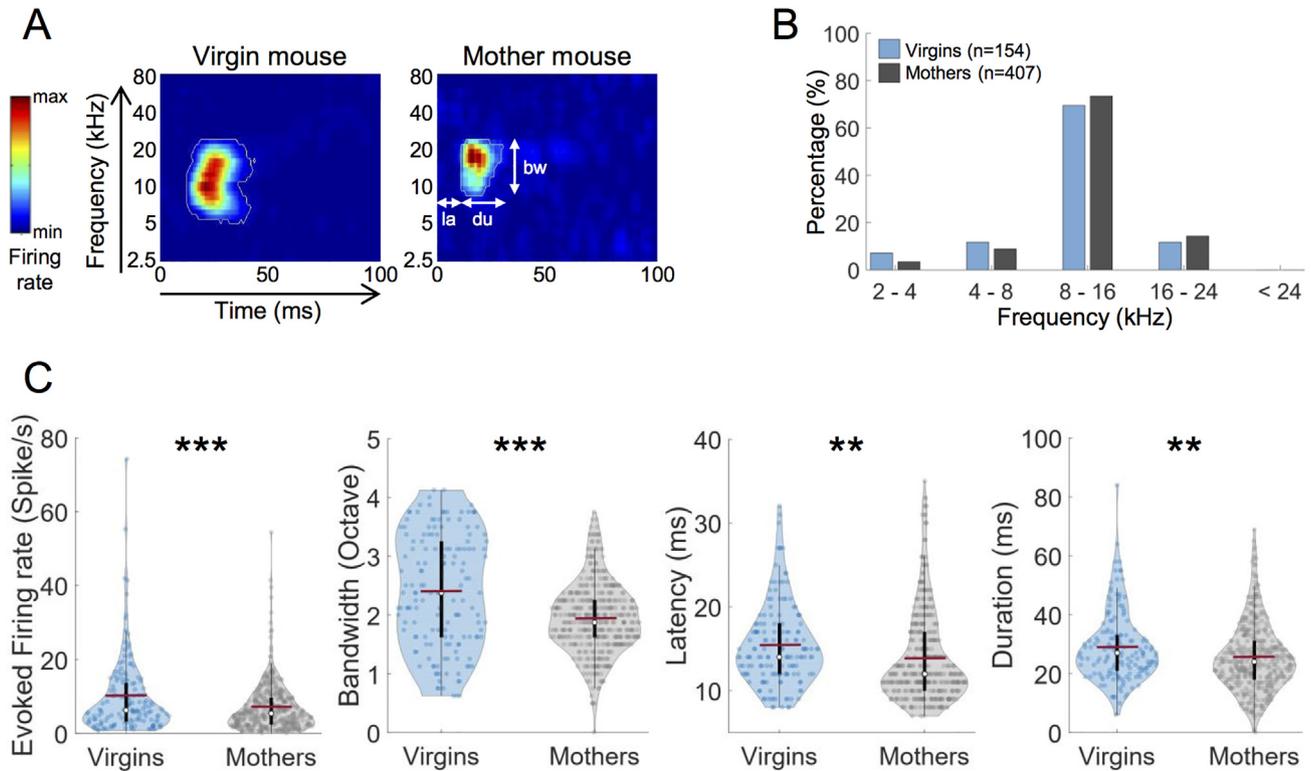
The typical example of cortical responses to pup calls, adult calls, and guinea pig whistle (repeated over 20 trials) presented on Fig. 3 illustrates that both spontaneous and evoked activities were lower in mothers (bottom) compared to virgins (top).

Fig. 4 presents the parameters quantified from the responses to pup and adult calls. We first quantified the

responses strength average across the eighteen pup calls and the eighteen male adult calls. Evoked activity was quantified over a 65 ms window starting at vocalizations onset; spontaneous activity was quantified over the 100 ms preceding each vocalization. As shown in Fig. 4A, both spontaneous and evoked activities were significantly lower (unpaired  $t$ -tests;  $p$  values  $p < 0.001$ ) in lactating mothers compared to virgins. The number of spikes per trial was also significantly lower (unpaired  $t$ -tests;  $p$  values  $p < 0.001$ ) in lactating mothers compared to virgins. As for the responses to pure tones, there was a small, but significant, reduction in mean latency to the USV calls for neurons recorded in lactating mothers compared to virgins (unpaired  $t$ -tests;  $p$  value  $p < 0.05$ ), but neither the response duration nor the response trial-to-trial reliability (Corrcoef index) were changed in the lactating mothers compared with the virgins (data not shown, unpaired  $t$ -tests;  $p$  values  $> 0.20$  in the two cases).

Fig. 4B and 4C show that the reduction in firing rate (Fig. 4B) and in response latency (Fig. 4C) were systematically present for each of the 18 pup and adult calls.

For the evoked responses to pup calls, a n-way ANOVA revealed a significant group-effect ( $F_{1,5268} = 338$ ,  $p < 0.0001$ ), a stimuli vocalizations-effect ( $F_{17,5268} = 4.4$   $p < 0.0001$  for pup calls), and no



**Fig 2.** Quantification of spectro-temporal receptive fields (STRFs) at 75 dB. **(A)** Typical examples of STRFs in response to pure tones in the primary auditory cortex of virgin (left) and mother (right) mice. Gamma tones (50 ms in duration) between 2.5 and 80 kHz were presented at 75 dB at a rate of 4 Hz. The color gradient represents the neurons firing rate with the blue indicating the minimum firing rate (close to the level of spontaneous activity in dark blue) and the red indicating the maximum firing rate obtained for a range of frequencies. The thin white line indicates the evoked firing rate 6SD above the mean level of spontaneous activity. The maximum firing rate at a given frequency allows defining the neuron Best Frequency (BF). The bandwidth (bw), latency (la), and duration (du) have been quantified for each receptive field. **(B)** Distribution of the neurons' Best Frequencies (BF) in virgin and mother mice. The BF values were classified by octaves. The distributions of the BF values did not differ between virgin (blue) and mother (grey) mice. **(C)** Quantification of the receptive field parameters. Four parameters were quantified: the evoked firing rate, the bandwidth, the response latency at the BF and the duration of the receptive field. On average, the evoked firing rate was lower for the neurons recorded in the mother mice. The receptive fields bandwidth and their duration were significantly lower for neurons recorded in mother mice compared with neurons recorded in virgin mice. The response latency was also shorter in the auditory cortex neurons of mother mice. In each violin plot, the open dot represents the median the horizontal bar represents the mean and the vertical bar the 25th and 75th quartiles. \*\*:  $p$  value < 0.01; \*\*\*:  $p$  value < 0.001. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

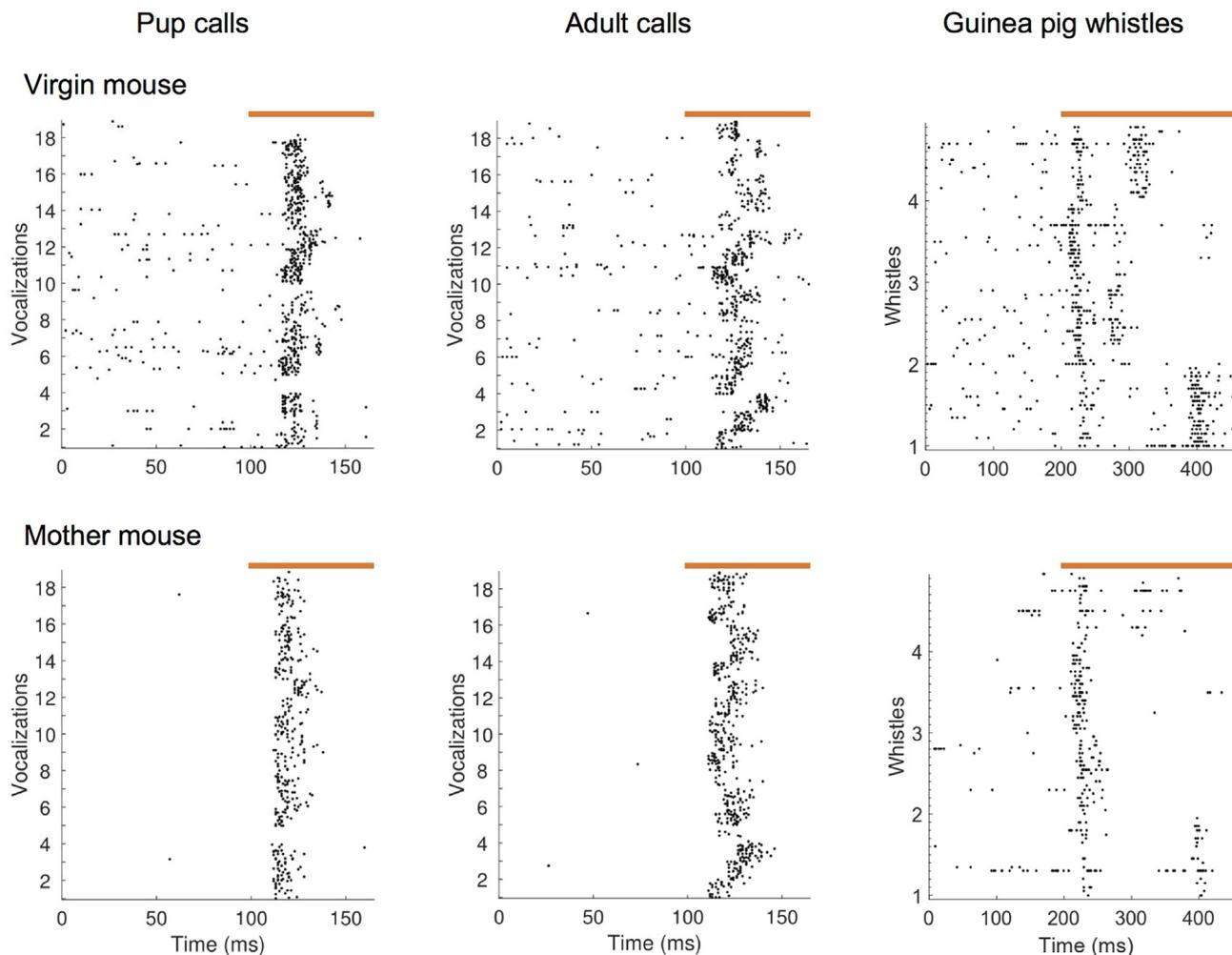
interaction between groups and vocalizations  $F_{17,5268} = 0.58$ ,  $p = 0.9$ ). The same was true for the evoked response to adult calls (group-effect:  $F_{1,5269} = 250$ ,  $p < 0.0001$ , vocalization-effect:  $F_{17,5269} = 2.9$   $p < 0.0001$ , and no interaction between groups and vocalizations  $F_{17,5269} = 0.7$ ,  $p = 1$ ).

Similar effects were found for the response latencies (Fig. 4C): for the response to pup calls there was a significant group-effect ( $F_{1,5268} = 53.9$   $p < 0.001$ ), a vocalizations-effect ( $F_{17,5268} = 51.54$   $p < 0.0001$ ), and no interaction between groups and vocalizations ( $F_{17,5268} = 1.29$ ,  $p = 0.1$ ). For the responses to adult calls there was a significant group-effect ( $F_{1,5269} = 40.5$   $p < 0.001$ ), a vocalizations-effect ( $F_{17,5269} = 134.9$   $p < 0.0001$ ), and no interaction between groups and vocalizations ( $F_{17,5269} = 0.63$ ,  $p = 0.8$ ). Furthermore, when we compared the mean latency for each vocalization, there were more significant differences in response latencies between virgins and lactating mothers for pup calls (5 calls with unpaired  $t$ -tests  $p < 0.05$ ) compared to adult calls (4 calls, with unpaired

$t$ -tests  $p < 0.05$ ), indicating that the shorter response latency in mothers is more common when pup calls are presented compared to adult calls.

Interestingly, the difference between the mean latency to all pup calls (gray and blue dashed lines in Fig. 4C) and the latency to each pup call was larger in mothers than in virgins (2.72 ms vs. 2.38 ms) whereas it was not the case for the adult calls (3.98 ms vs. 3.92 ms).

One potential consequence of the decrease in response strength is that auditory cortex neurons might respond to fewer calls in mother mice than in virgin mice. Therefore, we quantified the number of pup and adult vocalizations eliciting a significant neuronal response in mothers and virgins. We systematically tested whether there was a significant increase in firing rate (above spontaneous activity,  $p < 0.05$ ) for each of the 36 calls (the eighteen pup and the eighteen adult calls). Fig. 5 shows the cumulative distributions of response to the pup calls and adult calls in the two groups of females. There were slightly more recordings responding from 4 to 12 pup (Fig. 5A) and adult calls



**Fig 3.** Typical examples of response to mouse pup (left) mouse adult (middle) and guinea pig (right) vocalizations. Time zero of the x-axis corresponds to the beginning of the pre-stimulus activity. The beginning to the vocalization is a 100 ms for the pup and adult calls and at 200 ms for the guinea pig whistles. The orange lines indicate the vocalization onset independently of this duration. Each vocalization was repeated 20 times. Note the different time scales between the pup and adult mouse calls and the guinea pig whistle. Note also that the spontaneous and the evoked firing rate were lower in mother mice (bottom) compared to virgin mice (top) for the three types of vocalizations.

(Fig. 5B) in virgins compared to mothers, but this effect was not significant (Kolmogorov–Smirnov tests:  $p = 0.46$  for pup calls and  $p = 0.11$  for pup calls).

### Neurons in lactating mothers convey more information per spike compared to virgins

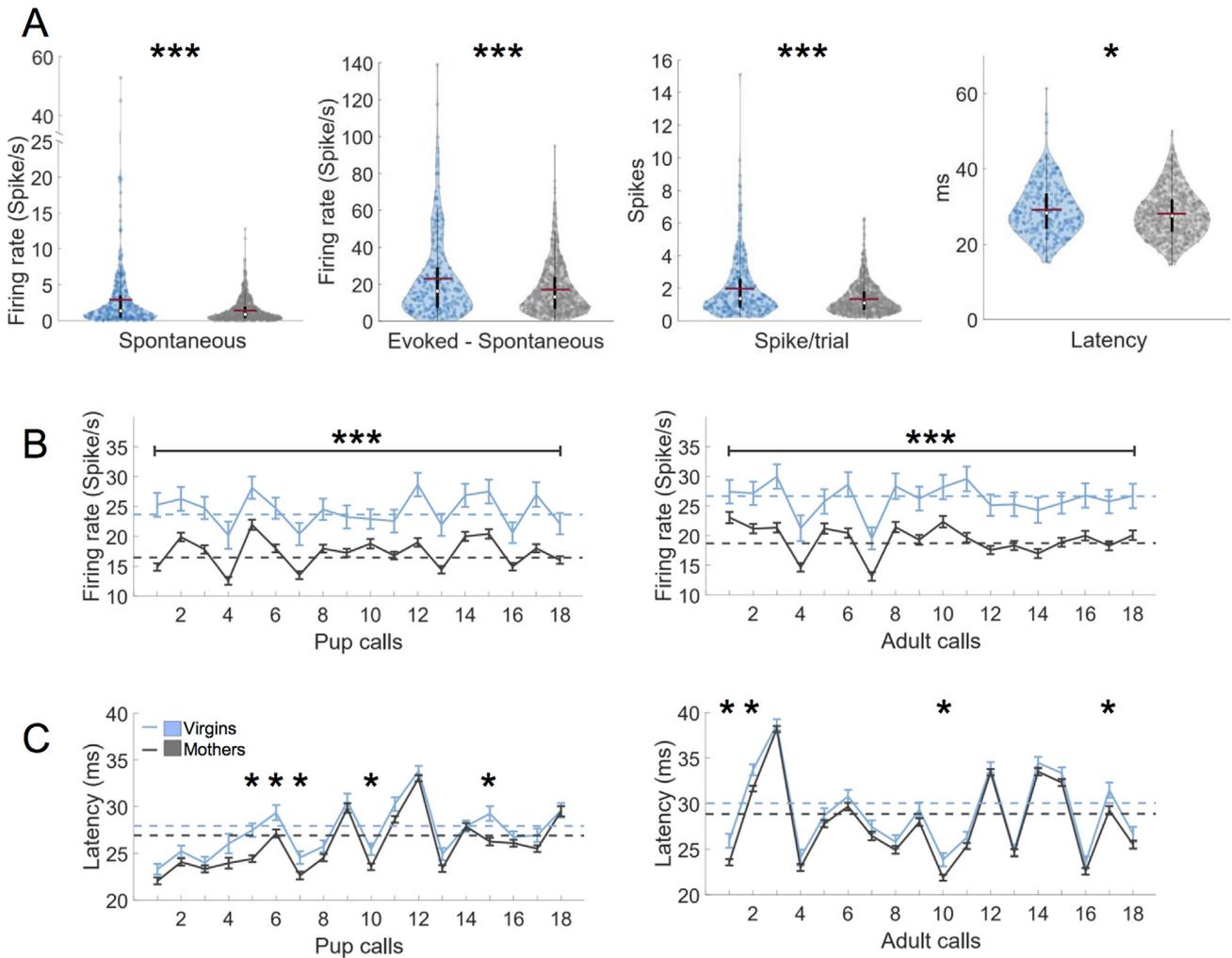
We quantified the mutual information (MI) between the set of stimuli and the auditory cortex responses: MI was quantified based upon temporal patterns with a 4 ms time precision (see Methods). There was no significant difference between the mean value of MI obtained for the two groups of females (0.92 for pup calls and 1.00 for adult calls in virgins vs. 0.93 for pup calls and 0.97 for adult calls in mothers; unpaired  $t$ -tests;  $p > 0.18$ ; data not shown). However, as the number of evoked spikes was lower in the lactating females, the value of mutual information per spike (MI/spike) was higher in lactating mothers compared to virgins (unpaired  $t$ -tests;  $p$  value  $p < 0.001$ ). Interestingly, this was the case for the MI/spike computed from the responses to pup calls

but not for the MI/spike computed on the responses to adult calls (Fig. 6A).

Potentially, we could envision that the larger the number of pup calls triggering cortical responses, the higher the MI/spike. Therefore, we looked for relationships between the MI/spike value and the number of vocalizations to which the neurons responded (Fig. 6B) both for the adult calls and the pup calls. In virgin mice, both with the pup and the adult calls, a linear regression did not indicate significant correlation ( $p > 0.20$ ) between the MI/spike value and the number of calls eliciting a response ( $R = 0.12$  for pup calls and  $R = 0.11$  for adult calls). In contrast, in mother mice the neurons having the highest values of MI/spike tended to respond to fewer vocalizations ( $R = 0.38$  for pup calls and  $R = 0.35$  for adult calls), and this negative correlation was significant ( $p < 0.001$ ).

### Responses to heterospecific vocalizations

Do the physiological changes occurring during motherhood only impact the responses to conspecific



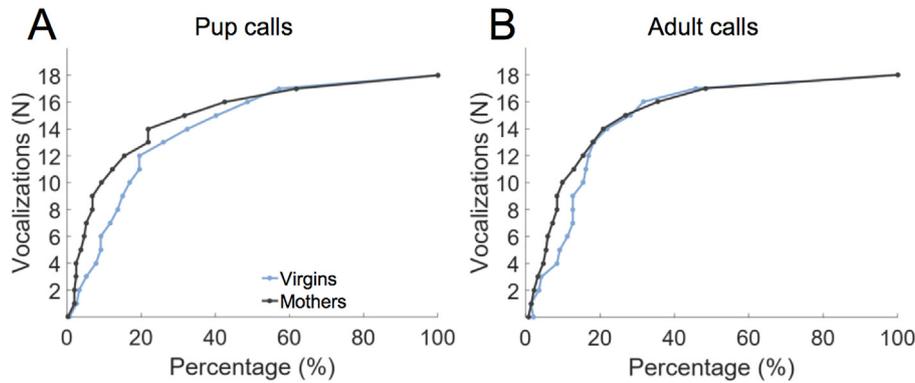
**Fig 4.** Quantification of responses to pup and adult calls. **(A)** On average, the spontaneous and evoked activities were significantly lower for the neurons recorded in mother mice. This was also the case for the number of spikes per trial (middle). The response latency to pup and adult calls was also shorter in mother mice (right). In each violin plot, the open dot represents the median the horizontal bar represents the mean and the vertical bar the 25th and 75th quartiles. \*:  $p$  value  $< 0.05$ ; \*\*\*:  $p$  value  $< 0.001$ . **B:** Evoked responses (firing rate in spikes/s) for each pup (left) and adult (right) calls. The lower firing rate observed for the neurons recorded in mother mice (displayed in **A**) was present for the responses to each pup (left) and adult male (right) call. **C:** Response latency for each pup (left) and adult (right) call. The small latency difference founded on average between neurons recorded in virgin and mother mice (displayed in **A**) was clearly detected in the responses to each call but was more visible for the response latencies obtained at presentation of the pup calls. Note that the mean latency to all pup calls (gray and blue dashed lines) and the latency to each pup call were larger in mothers than in virgins (2.72 ms vs. 2.38 ms) whereas it was not the case for the adult calls (3.98 ms vs. 3.92 ms). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

vocalization or in contrast also impact the responses to heterospecific vocalizations? To address this question, we analyzed the responses to guinea pig vocalizations in virgins and mothers.

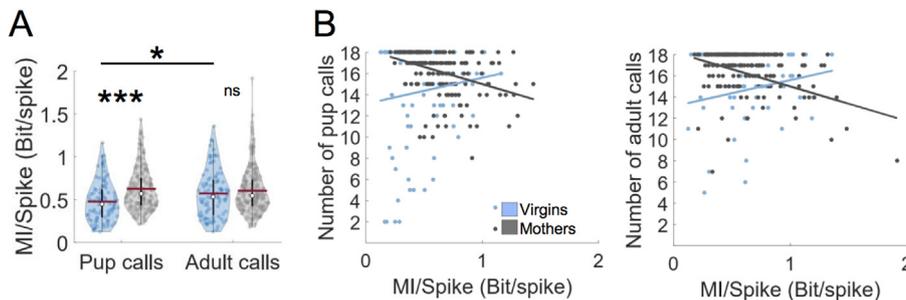
The typical example of response to guinea pig vocalizations presented on Fig. 3 shows that cortical neurons mostly responded by onset responses to the four whistles with often an additional peak. Fig. 7 presents the parameters quantifying the responses to these heterospecific vocalizations. The responses strength (averaged across the four whistles) was quantified over a 300 ms window starting at the onset of the vocalizations, and spontaneous activity was quantified over the 100 ms preceding each vocalization. Both spontaneous and evoked activities

were significantly decreased (unpaired  $t$ -tests;  $p$  values  $p < 0.001$ ) in lactating mother compared to virgins (Fig. 7A), as well as the number of spikes per trial (unpaired  $t$ -tests;  $p$  values  $p < 0.001$ ). However, other response parameters were not altered. The latency did not significantly differ in mother and in virgins (Fig. 7B, unpaired  $t$ -tests;  $p$  value  $p > 0.05$ ). Finally, the mutual information per spike was not different between mothers and virgins (Fig. 7C, unpaired  $t$ -tests;  $p$  value  $p > 0.3$ ).

Thus, the decrease in evoked responses was also observed in mothers compared to virgins, but the other parameters such as the latency and the MI/spike were not modified when presenting heterospecific vocalizations.



**Fig 5.** Proportion of neurons responding to the pup and adult calls. **(A)** Cumulative percentages of neurons showing significant responses to pup calls. **(B)** Cumulative percentages of neurons showing significant responses to adult calls. Both for the pup and adult calls, there were no significant differences between the distributions obtained in virgins and mothers.



**Fig 6.** Quantification of mutual information (MI). **(A)** Mutual information per spike: On average, the mutual information per spike emitted at presentation of the pup vocalizations, was higher for neurons recorded in mothers than for neurons recorded in virgins. For adult calls, there is no significant difference. In each violin plot, the open dot represents the median, the horizontal bar represents the mean and the vertical bar the 25th and 75th quartiles. \*:  $p$  value  $< 0.05$ ; \*\*:  $p$  value  $< 0.01$ ; \*\*\*:  $p$  value  $< 0.001$ . **(B)** MI/Spike as a function of the number of significant responses to the pup (left) and adult (right) vocalizations: In virgin mice, there was a non-significant tendency for neurons responding to the largest number of vocalizations to have slightly larger values of mutual information per spike. In contrast, in mother mice, there was a significant negative correlation between the value of MI/Spike and the number of calls.

### Co-variations between pairs of recordings in responses to calls decrease for mother mice

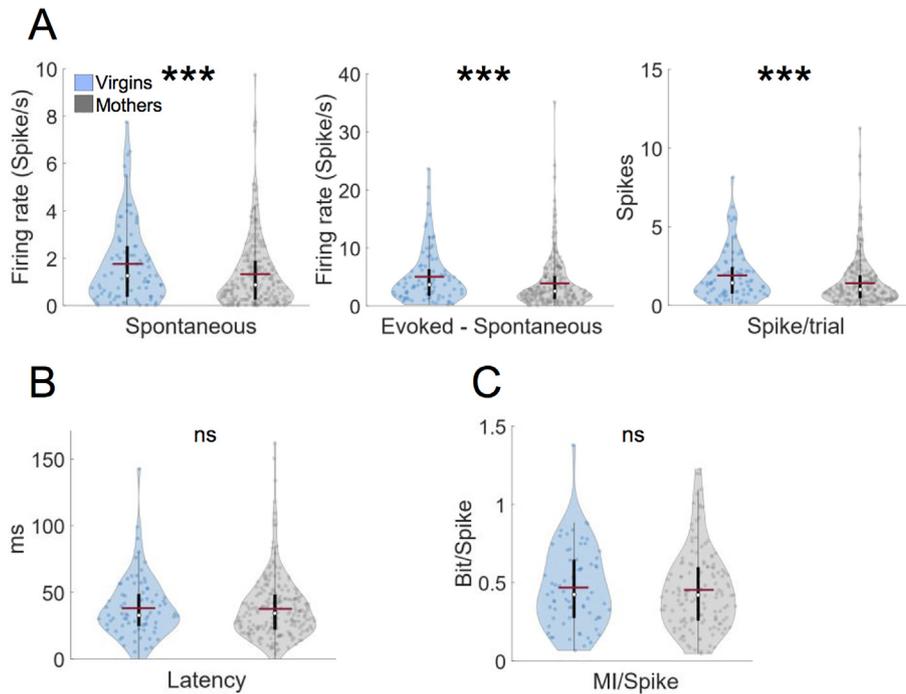
To assess the network dynamics in virgins and in lactating mothers, noise correlations (NC) were analyzed by computing trial-to-trial co-fluctuations in firing rate between pairs of recordings in response to the set of pup calls and the set of adult calls. When computed exactly with the same method (and under the same anesthetic agent) as Rothschild et al. (2013), the distribution of NC values was shifted toward lower values in mother mice compared to virgin mice both for the pup calls (Fig. 8A1) and for the adult calls (Fig. 8B1). The mean values of NC were significantly lower in mothers than in virgins both for the pup calls (0.19 vs. 0.28 unpaired-  $t$ -test,  $p < 0.001$ ) and for the adult calls (0.19 vs. 0.27; unpaired-  $t$ -test,  $p < 0.001$ ). Computing the

stimulus-specific NC (as in Rothschild et al., 2013) led to similar results (Fig. 8A2, B2). For both mothers and virgins, stimulus-specific NC varied significantly with stimulus identity (pup calls: ANOVA for virgins  $F_{17,551} = 4.76$ ,  $p < 0.001$ , and for mothers  $F_{17,1469} = 11.96$ ,  $p < 0.001$ ; adult calls: ANOVA for virgins  $F_{17,499} = 11.81$ ,  $p < 0.001$ , and for mothers  $F_{17,1439} = 18.12$ ,  $p < 0.001$ ). In addition, the mean values of NC (across all calls) were lower in mother mice compared to the mean value in virgin mice (in mothers: 0.20 for pup and adult calls, versus in virgins: 0.29 for pup and adult calls; unpaired  $t$ -test,  $p < 0.05$  in both cases).

We confirmed that NC (Fig. 8C1) and stimulus-specific NC (Fig. 8C2) were decreased whatever the stimulus presented, by quantifying the NC from the responses to the guinea pig whistles: both when computed on a similar time window as the mouse calls (70 ms) or on the whole whistle duration (280 ms), the NC obtained in mothers were systematically lower compared to virgins (over a duration of 70 ms: 0.28 vs. 0.20  $p < 0.01$ ; over a duration of 80 ms: 0.40 vs. 0.23,  $p < 0.01$ ). Together, these analyses suggest that, on average, in mother mice two cortical recordings showed less trial-to-trial co-fluctuations in their firing rate than two cortical recordings obtained in virgin mice. This might be an indication that the cortical network dynamics is less synchronized in mother than in virgin mice.

## DISCUSSION

We show here in the most commonly used mouse strain for behavioral studies and studies involving genetic constructions, the C57BL/6 mouse, that the processing of acoustic information by auditory cortex neurons is modified from the virgin to the mother physiological state. In mother mice, the cortical frequency receptive fields were narrower and the responses to pure tones were decreased. This contrasts with the fact that the amplitude of the ABR waves IV and V were larger in mothers compared to virgins. The cortical responses to pup and adult calls were also reduced but, strikingly, the



**Fig 7.** Quantification of responses to heterospecific (guinea pig) vocalizations. **(A)** On average, spontaneous and evoked activities (left) were significantly lower for the neurons recorded in mother mice. This was also the case for the number of spikes per trial (middle). **(B)** The response latency to guinea pig vocalizations was not different between mother and virgin mice (right). **(C)** The mutual information per spike emitted at presentation of the guinea pig vocalizations was not different between mothers and virgins. In each violin plot, the open dot represents the median, the horizontal bar represents the mean and the vertical bar the 25th and 75th quartiles. \*:  $p$  value  $< 0.05$ ; \*\*:  $p$  value  $< 0.01$ ; \*\*\*:  $p$  value  $< 0.001$ .

amount of information per emitted action potential (MI/spike) about the pup call's identity was increased in mother mice. The response latencies to pure tones were shorter both at brainstem and cortical levels, and it was also the case for the cortical responses to mice calls. Despite similar decreased responses to guinea pig whistles, the response latency, and the MI/spike did not differ between virgins and mothers for these heterospecific vocalizations. Last, the noise correlations between cortical recordings were decreased in mothers, suggesting that the firing rate of distant neurons was more independent from each other.

#### Similarities and differences with findings reported in other mice strains

Several studies reporting physiological changes in the auditory cortex in mother mice versus virgin mice have used the CBA/CaJ strain, mainly because (i) its auditory thresholds remain good for more than a year (Zheng et al., 1999; Hunter and Willott, 1987; Jimenez et al., 1999) and (ii) the existence of a cortical representation of ultra-sonic sounds (Shepard et al., 2015, 2016). In this mouse strain, whereas the initial study by Liu and Schreiner (2007) has not observed lower responses in mothers than in virgins, the study by Shepard et al., 2016 has reported that recordings obtained from the fields AI and AAF, displayed lower responses in mother mice

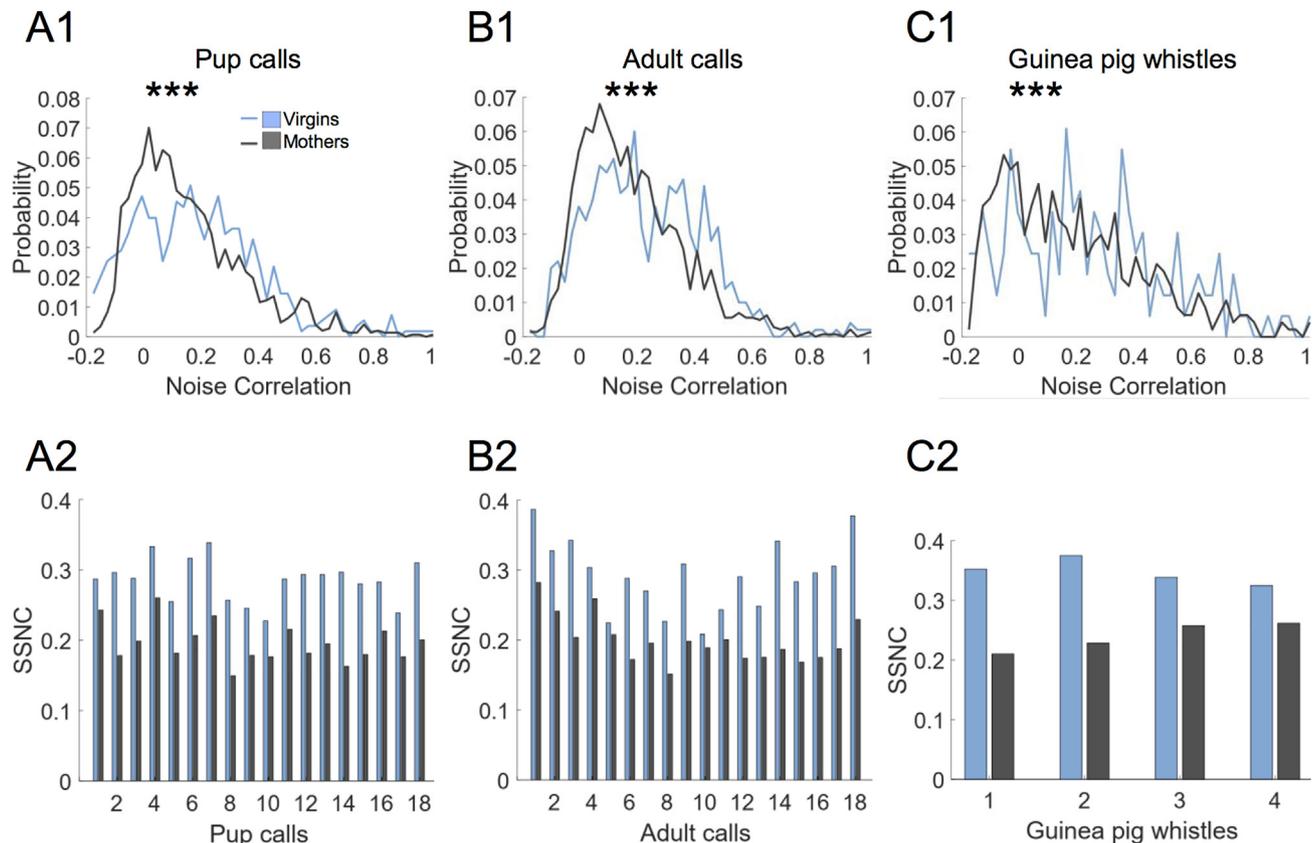
than in naïve mice (especially those displaying BF below 40 kHz). The larger proportion of single units showing inhibitory response to pup calls in mother mice described by Galindo-Leon et al. (2009) can potentially explain the lower responses observed in multi-unit recordings. These authors hypothesized that plasticity induced inhibitory responses for cortical neurons tuned at frequencies distant from the range of the pup USV.

In NMRI mice, no significant difference has been reported between the evoked and spontaneous activity obtained in virgin and mother mice (Rothschild et al., 2013). Similarly, only slight and non-significant decreases in evoked activity has been detected in pyramidal and parvalbumin positive neurons by Cohen and Mizrahi (2015) in the C57BL/6. In fact, the results of Marlin et al. (2015) were the only study reporting a strong increase in evoked responses and in trial-to-trial reliability in mothers compared to virgins, which might can be the consequence of sampling more superficial layers and/or other

cell types in their patch experiments. More recently, Tasaka et al. (2018) have also found a transient increase in firing rate but for neurons specifically activated by USV calls as a consequence of a pre-exposure performed 5–6 days before.

In the CBA mouse a reduction in the latency at pup call presentations (from 21.2 to 16.6 ms) was observed by Liu and Schreiner (2007), an effect that was confirmed both for single units inhibited by pup calls and for LFP recordings (Galindo-Leon et al., 2009). This effect was also reported by Rothschild et al. (2013) (from 39.2 to 32.9 ms) in the NMRI mice. Here, we found shorter cortical latencies both for pure tones and mice vocalizations, an effect also detected here at the brainstem level with pure tones as already described by Miranda et al. (2014).

Based upon MI quantifications, Liu and Schreiner (2007) reported that auditory cortex neurons of mothers were better than those of virgins in detecting and discriminating pup calls, an effect that was more pronounced at the response onset. In line with this result, we found that the value of MI/spike was higher in mothers than in virgins only for the pup calls (Fig. 6A). Thus, despite reduced responses to both adult and pup calls, cortical neurons were better to discriminate the pup calls, potentially based on the fact that the call-to-call differences in terms of response latency were larger in mother mice (Fig. 4C). On the other hand, Tasaka et al. (2018) proposed that AI neurons are mostly playing a role in detecting pup calls



**Fig. 8.** Quantification of Noise Correlation (NC) between pairs of recording sites. **(A1–C1)** Distribution of NC values (i.e., Correlation of the mean firing rate of recording sites to each stimulus compared to all the single-trial responses of one recording site to that stimulus) of virgin (blue) and mother (grey) mice in response to pup calls **(A1)**, adult calls **(B1)**, and guinea pig whistles **(C1)**. Mean NC values in mothers (0.19 for pup and adult calls, and 0.20 for guinea pig whistles) were significantly lower compared with those obtained in virgin mice (0.27 for pup calls, 0.28 for adult calls, and 0.28 for guinea pig whistles). **(A2–C2)** Stimulus-Specific Noise Correlation (SSNC) (i.e., Correlation of the firing rate of pairs of recording sites in response to the same stimulus) of virgin and mother mice in response to pup calls **(A2)**, adult calls **(B2)**, and guinea pig whistles **(C2)**. On average, the NC values for each vocalization in mothers (0.20 for pup and adult calls, 0.27 for guinea pig whistles) were significantly lower compared with those obtained in virgin mice (0.29 for pup and adult calls, 0.40 for guinea pig whistles). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

without participating to their fine discrimination, a function which may occur in higher brain regions.

We found lower noise correlations in mother mice compared to virgins, in contrast with [Rothschild et al. \(2013\)](#) who reported higher noise correlations in mother mice. Besides methodological differences (two-photon vs. electrophysiological data) and potentially layer differences (sampling more superficial layers in two-photon imaging), these authors described noise correlations between closely adjacent neurons (less than 200  $\mu\text{m}$  apart) whereas the noise correlations reported here are between clusters of neurons, which were on average 1000  $\mu\text{m}$  apart. It is not unrealistic to consider that, in mothers compared to virgins, the firing rate of neurons at close vicinity is more correlated whereas the firing rate of neurons at larger distances is less correlated. Note also that the temporal window used to compute noise correlations was much larger in two-photon imaging (250 ms) than in electrophysiology (65 ms).

Remarkably, it is interesting to note that the effects detected for the response to pup calls differed from effects detected for the responses to adult calls and guinea pig whistles. Despite close spectral and temporal

parameters between pup and adult calls (see Methods), neurons of mother mice seem to be slightly better at discriminating the pup than the adult calls. It is possible that exposure to pup calls during the 9–10 days postpartum was sufficient to induce cortical plasticity specific to pup USV compared to the adult USV or the guinea pig whistles. In two studies ([Shepard et al., 2016](#); [Tasaka et al., 2018](#)), postpartum induced changes have been investigated over time and the effects, especially the response strength, differed according to the number of days after parturition. Thus, testing our animals at different days post-partum might have revealed larger effects.

#### Potential mechanisms explaining our results

The changes detected in auditory cortex in mother mice are potentially the consequence of plasticity induced by the association between the calls emitted by pups and the large increase in concentration of various neurohormones and neuromodulators present during parturition and lactation. In their study, [Marlin and colleagues \(2015\)](#) reported that the increase in evoked

responses and temporal reliability detected in mother mice can be replicated by pairing between pup calls presentations and either topical oxytocin application or oxytocin release by optogenetic stimulation in AI.

As this increase in evoked responses was not found by other studies (Rothschild et al., 2013; Cohen and Mizrahi, 2015; Shepard et al., 2015, 2016) and in our data, other mechanisms than the oxytocin-induced facilitations should be envisioned. For example, neuropeptides such as oxytocin and vasopressin (Fliers et al., 1985, 1986; Petersson et al., 1998) and the steroidal hormone estradiol can activate neurons releasing neuromodulators, such as noradrenaline (Serova et al., 2011; Wade et al., 2013) which in turn promotes reduction in evoked responses in auditory cortex. Indeed, noradrenaline has been shown to decrease spontaneous and evoked activity by acting on alpha1 receptors (Manunta and Edeline, 1997; Gaucher and Edeline, 2015). Furthermore, pairing protocols involving association between NA application or locus coeruleus stimulation and an auditory stimulus induced decreases in evoked responses specific for that stimulus (Manunta and Edeline, 2004; Edeline et al., 2011). In addition, at several levels of the auditory system, NA application also tends to reduce the jitter of evoked responses, which can lead to a decrease in response latency (cochlear nucleus: Kössl and Vater, 1989; auditory cortex: Manunta and Edeline, 1997; see Fig. 3 in Edeline, 2012).

Therefore, it is possible that neuromodulators or neuro-hormones promoted inhibitory mechanisms by decreasing the thalamo-cortical transmission or by a larger activation of intra-cortical (and/or sub-cortical) inhibitory neurons, and that these inhibitory mechanisms improved the cortical detection of pup calls over other types of acoustic stimuli (Galindo-Leon et al., 2009). Neuromodulators also impact the network dynamics (Metherate and Ashe, 1993; Giocomo and Hasselmo, 2007; Deliano et al., 2020) which can potentially explain the decrease in noise correlations found in mothers compared to virgin mice.

Interestingly, despite similar ABR thresholds, we also found significant effects of motherhood on the amplitudes and latencies of ABR waves, suggesting that neuromodulators and neurohormones impact the auditory system as early as the first relays in the auditory system (cochlear nucleus: Kössl and Vater, 1989; inferior colliculus: Hurley and Pollak, 1999, 2005). On the one hand, the reduced response latency observed at the cortical level can result from the reduced latencies observed in the brainstem. On the other hand, as the amplitude of the ABR waves IV and V were larger in mothers, the attenuated cortical responses cannot be explained by an action of neuromodulators at the brainstem level. Thus, the global effect observed in mothers at the cortical level is a combination of both subcortical effects and intrinsic cortical effects.

### The specificity of the C57BL/6 model

The C57BL/6 mouse is a special case in the field of auditory neurosciences because its aged-related hearing loss can occur very early in age (3–5 months),

starting in the highest frequencies (Mikaelian et al., 1974; Henry and Chole, 1980), which leads to a lack of CF above 24 kHz for the eight nerve fibers of this strain at the adult stage (Taberner and Liberman, 2005). As a consequence, at the level of the auditory cortex, there was no CF above 30 kHz in electrophysiological (Tan and Wehr, 2009; Hackett et al., 2011; Cohen and Mizrahi, 2015; Moore and Wehr, 2013; Moore et al., 2018) and two-photon studies (Bandyopadhyay et al., 2010; Chen et al., 2011). Therefore, the cortical representation of ultrasonic frequencies (40–100 kHz) does not seem to exist in this mouse strain, which explains why none of our BF was above 24 kHz.

Nonetheless, we observed here that many cortical sites responded to the USV calls. In the CBA/CaJ mouse only 12% of the auditory cortex is allocated to ultrasonic frequencies, but more than 30% of the multi-unit recordings respond to the pup calls, including neurons with BF between 8 and 32 kHz (see Fig. 1 in Shepard et al., 2016). Similarly, in the inferior colliculus of CBA mice 60 to 80% of the cells with low frequency CF responded to ultrasonic calls (Portfors et al., 2009).

Several factors can potentially explain why neurons with low or middle frequency CF can respond to USV calls. In the IC, Portfors and colleagues (2009) showed that neurons can respond to the combination of ultrasonic tones if their difference is in the excitatory tuning curve of the neurons. They suggested that the quadratic and/or cubic intermodulation distortion component generated in the cochlea by ultrasonic vocalizations allow a large fraction of neurons to respond to these vocalizations.

Another possibility is that the response of cortical neurons is not primarily determined by the spectral content of natural stimuli, which has been largely documented in many species (cat: Bar-Yosef et al., 2002; rat: Machens et al., 2004; mice: Ahrens et al., 2008; bird: Woolley et al., 2006; guinea-pig: Laudanski et al., 2012; human: Bitterman et al., 2008). Among many acoustic cues, the rising slope of an acoustic stimulus can change the response strength and its latency (Heil, 1997a, 1997b; Heil et al., 2011). In our case, the very sharp rising slope of the adult and pup calls (1–5 ms) or subtle variations in the frequency trajectory of the calls (Chong et al., 2020) could promote responses even if the neuron CF is far from the spectral content of the vocalizations.

To conclude, despite a lack of high frequency representation at the cortical level, cortical neurons of C57BL/6 mice can respond to pup and adult calls, and, more importantly, can display selective neuronal plasticity for communication sounds when they became significant. This suggests that the C57BL/6 is a suitable model for studying the plasticity of cortical representations involving communication sounds during motherhood and other natural situations.

### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by grants from the National Research Agency (ANR Blanc 2014-2018, HEART) to JME. JR was supported by a fellowship from the

Ministère de l'Éducation Nationale, de la Recherche et de l'Innovation (MENRI).

We thank Dr. Samira Souffi and Dr. Quentin Gaucher for critical reading of a previous version of this paper.

## AUTHORS CONTRIBUTION

This work has been performed at the Paris-Saclay Institute of Neurosciences (NeuroPSI). CH, FO, JMC and JME designed the experiments. JR performed the experiment. JR, CH and FO analyzed the data. JR, JME, CH and JMC wrote the manuscript. All authors approved the final version of the manuscript.

## REFERENCES

- Aertsen AM, Gerstein GL, Habib MK, Palm G (1989) Dynamics of neuronal firing correlation: modulation of "effective connectivity". *J Neurophysiol* 61:900–917. <https://doi.org/10.1152/jn.1989.61.5.900>.
- Aertsen, A.M., Gerstein, G.L., 1991. Dynamic aspects of neuronal cooperativity: fast stimulus-locked modulations of effective connectivity. *Neuronal cooperativity*, Springer, 52–67.
- Ahrens MB, Linden JF, Sahani M (2008) Nonlinearities and contextual influences in auditory cortical responses modeled with multilinear spectrotemporal methods. *J Neurosci* 28:1929–1942. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3377-07.2008>.
- Anderson LA, Christianson GB, Linden JF (2009) Mouse auditory cortex differs from visual and somatosensory cortices in the laminar distribution of cytochrome oxidase and acetylcholinesterase. *Brain Res* 1252:130–142. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.11.037>.
- André JM, Cordero KA, Gould TJ (2012) Comparison of the performance of DBA/2 and C57BL/6 mice in transitive inference and foreground and background contextual fear conditioning. *Behav Neurosci* 126:249–257. <https://doi.org/10.1037/a0027048>.
- Aushana Y, Souffi S, Edeline J-M, Lorenzi C, Huetz C (2018) Robust neuronal discrimination in primary auditory cortex despite degradations of spectro-temporal acoustic details: comparison between guinea pigs with normal hearing and mild age-related hearing loss. *JARO* 19:163–180. <https://doi.org/10.1007/s10162-017-0649-1>.
- Averbeck BB, Latham PE, Pouget A (2006) Neural correlations, population coding and computation. *Nat Rev Neurosci* 7:358–366. <https://doi.org/10.1038/nrn1888>.
- Averbeck BB, Lee D (2004) Coding and transmission of information by neural ensembles. *Trends Neurosci* 27:225–230. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.02.006>.
- Bandyopadhyay S, Shamma SA, Kanold PO (2010) Dichotomy of functional organization in the mouse auditory cortex. *Nat Neurosci* 13:361–368. <https://doi.org/10.1038/nn.2490>.
- Barkat TR, Polley DB, Hensch TK (2011) A critical period for auditory thalamocortical connectivity. *Nat Neurosci* 14:1189–1194. <https://doi.org/10.1038/nn.2882>.
- Bar-Yosef O, Rotman Y, Nelken I (2002) Responses of neurons in cat primary auditory cortex to bird chirps: effects of temporal and spectral context. *J Neurosci* 22:8619–8632. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-19-08619.2002>.
- Behrens D, Klump GM (2016) Comparison of mouse minimum audible angle determined in prepulse inhibition and operant conditioning procedures. *Hear Res* 333:167–178. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2016.01.011>.
- Bitterman Y, Mukamel R, Malach R, Fried I, Nelken I (2008) Ultra-fine frequency tuning revealed in single neurons of human auditory cortex. *Nature* 451:197–201. <https://doi.org/10.1038/nature06476>.
- Carola V, Scalera E, Brunamonti E, Gross C, D'Amato F (2008) Mating-related interactions share common features with anxiety in the mouse. *Behav Brain Res* 186:185–190. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.08.006>.
- Chabout J, Cressant A, Hu X, Edeline J-M, Granon S (2013) Making choice between competing rewards in uncertain vs. safe social environment: role of neuronal nicotinic receptors of acetylcholine. *Front Hum Neurosci* 7:468. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00468>.
- Chausseot R, Edeline J-M, Le Bec B, El Massioui N, Laroche S, Vaillend C (2015) Cognitive dysfunction in the dystrophin-deficient mouse model of Duchenne muscular dystrophy: a reappraisal from sensory to executive processes. *Neurobiol Learn Mem* 124:111–122. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.07.006>.
- Chen X, Leischner U, Rochefort NL, Nelken I, Konnerth A (2011) Functional mapping of single spines in cortical neurons in vivo. *Nature* 475:501–505. <https://doi.org/10.1038/nature10193>.
- Chong KK, Anandakumar DB, Dunlap AG, Kacsoh DB, Liu RC (2020) Experience-dependent coding of time-dependent frequency trajectories by off responses in secondary auditory cortex. *J Neurosci* 40:4469–4482. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2665-19.2020>.
- Christianson GB, Sahani M, Linden JF (2008) The consequences of response nonlinearities for interpretation of spectrotemporal receptive fields. *J Neurosci* 28:446–455. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1775-07.2007>.
- Cohen L, Mizrahi A (2015) Plasticity during motherhood: changes in excitatory and inhibitory layer 2/3 neurons in auditory cortex. *J Neurosci* 35:1806–1815. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1786-14.2015>.
- Deliano M, Brunk MGK, El-Tabbal M, Zempeltzi MM, Happel MFK, Ohl FW (2020) Dopaminergic neuromodulation of high gamma stimulus phase-locking in gerbil primary auditory cortex mediated by D1/D5-receptors. *Eur J Neurosci* 51:1315–1327. <https://doi.org/10.1111/ejn.13898>.
- Edeline J-M (2012) Beyond traditional approaches to understanding the functional role of neuromodulators in sensory cortices. *Front Behav Neurosci* 6:45. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2012.00045>.
- Edeline J-M, Manunta Y, Hennevin E (2011) Induction of selective plasticity in the frequency tuning of auditory cortex and auditory thalamus neurons by locus coeruleus stimulation. *Hear Res* 274:75–84. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2010.08.005>.
- Ehret G (2005) Infant rodent ultrasounds? A gate to the understanding of sound communication. *Behav Genet* 35:19–29. <https://doi.org/10.1007/s10519-004-0853-8>.
- Ehret G (1992) Categorical perception of mouse-pup ultrasounds in the temporal domain. *Anim Behav* 43:409–416. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(05\)80101-0](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(05)80101-0).
- Ehret G, Haack B (1982) Ultrasound recognition in house mice: key-stimulus configuration and recognition mechanism. *J Comp Physiol* 148:245–251. <https://doi.org/10.1007/BF00619131>.
- Ehret G, Haack B (1981) Categorical perception of mouse pup ultrasound by lactating females. *Naturwissenschaften* 68:208–209. <https://doi.org/10.1007/BF01047208>.
- Ehret G, Koch M, Haack B, Markl H (1987) Sex and parental experience determine the onset of an instinctive behavior in mice. *Naturwissenschaften* 74:47. <https://doi.org/10.1007/BF00367047>.
- Ey E, Yang M, Katz AM, Woldeyohannes L, Silverman JL, Leblond CS, Faure P, Torquet N, Le Sourd A-M, Bourgeron T, Crawley JN (2012) Absence of deficits in social behaviors and ultrasonic vocalizations in later generations of mice lacking neuroigin4. *Genes Brain Behav* 11:928–941. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2012.00849.x>.
- Fahlström A, Yu Q, Ulfhake B (2011) Behavioral changes in aging female C57BL/6 mice. *Neurobiol Aging* 32:1868–1880. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.11.003>.
- Faure A, Pittaras E, Nosjean A, Chabout J, Cressant A, Granon S (2017) Social behaviors and acoustic vocalizations in different strains of mice. *Behav Brain Res* 320:383–390. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.11.003>.
- Fliers E, De Vries GJ, Swaab DF (1985) Changes with aging in the vasopressin and oxytocin innervation of the rat brain. *Brain Res* 348:1–8. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)90351-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)90351-8).

- Fliers E, Guldenaar SEF, Wal Nvd, Swaab DF (1986) Extrahypothalamic vasopressin and oxytocin in the human brain; presence of vasopressin cells in the bed nucleus of the stria terminalis. *Brain Res* 375:363–367. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)90759-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)90759-6).
- Galindo-Leon EE, Lin FG, Liu RC (2009) Inhibitory plasticity in a lateral band improves cortical detection of natural vocalizations. *Neuron* 62:705–716. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.05.001>.
- Gaucher Q, Edeline J-M (2015) Stimulus-specific effects of noradrenaline in auditory cortex: implications for the discrimination of communication sounds: NA modulates the response to vocalizations in ACx. *J Physiol* 593:1003–1020. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.282855>.
- Gaucher Q, Huetz C, Gourevitch B, Edeline J-M (2013) Cortical inhibition reduces information redundancy at presentation of communication sounds in the primary auditory cortex. *J Neurosci* 33:10713–10728. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0079-13.2013>.
- Giocomo LM, Hasselmo ME (2007) Neuromodulation by glutamate and acetylcholine can change circuit dynamics by regulating the relative influence of afferent input and excitatory feedback. *Mol Neurobiol* 36:184–200. <https://doi.org/10.1007/s12035-007-0032-z>.
- Haack B, Markl H, Ehret G (1983) Sound communication between parents and offspring. In: Willott JF, editor. *The Auditory Psychobiology of the Mouse*. Springfield, IL: Charles C Thomas. p. 57–97.
- Hackett TA, Rinaldi Barkat T, O'Brien BMJ, Hensch TK, Polley DB (2011) Linking topography to tonotopy in the mouse auditory thalamocortical circuit. *J Neurosci* 31:2983–2995. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5333-10.2011>.
- Heil P (1997a) Auditory cortical onset responses revisited. I. First-spike timing. *J Neurophysiol* 77:2616–2641. <https://doi.org/10.1152/jn.1997.77.5.2616>.
- Heil P (1997b) Auditory cortical onset responses revisited. II. Response strength. *J Neurophysiol* 77:2642–2660. <https://doi.org/10.1152/jn.1997.77.5.2642>.
- Heil P, Neubauer H, Irvine DRF (2011) An improved model for the rate-level functions of auditory-nerve fibers. *J Neurosci* 31:15424–15437. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1638-11.2011>.
- Henry KR, Chole RA (1980) Genotypic differences in behavioral, physiological and anatomical expressions of age-related hearing loss in the laboratory mouse. *Audiology* 19:369–383. <https://doi.org/10.3109/00206098009070071>.
- Huetz C, Philibert B, Edeline J-M (2009) A spike-timing code for discriminating conspecific vocalizations in the thalamocortical system of anesthetized and awake guinea pigs. *J Neurosci* 29:334–350. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3269-08.2009>.
- Hunter KP, Willott JF (1987) Aging and the auditory brainstem response in mice with severe or minimal presbycusis. *Hear Res* 30:207–218. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(87\)90137-7](https://doi.org/10.1016/0378-5955(87)90137-7).
- Hurley LM, Pollak GD (2005) Serotonin shifts first-spike latencies of inferior colliculus neurons. *J Neurosci* 25:7876–7886. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1178-05.2005>.
- Hurley LM, Pollak GD (1999) Serotonin differentially modulates responses to tones and frequency-modulated sweeps in the inferior colliculus. *J Neurosci* 19:8071–8082. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-18-08071.1999>.
- Jimenez AM, Stagner BB, Martin GK, Lonsbury-Martin BL (1999) Age-related loss of distortion product otoacoustic emissions in four mouse strains. *Hear Res* 138:91–105. [https://doi.org/10.1016/S0378-5955\(99\)00154-9](https://doi.org/10.1016/S0378-5955(99)00154-9).
- Joachimsthaler B, Uhlmann M, Miller F, Ehret G, Kurt S (2014) Quantitative analysis of neuronal response properties in primary and higher-order auditory cortical fields of awake house mice (*Mus musculus*). *Eur J Neurosci* 39:904–918. <https://doi.org/10.1111/ejn.12478>.
- Kossl M, Vater M (1989) Noradrenaline enhances temporal auditory contrast and neuronal timing precision in the cochlear nucleus of the mustached bat. *J Neurosci* 9:4169–4178. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.09-12-04169.1989>.
- Laudanski J, Edeline J-M, Huetz C, Malmierca MS (2012) Differences between spectro-temporal receptive fields derived from artificial and natural stimuli in the auditory cortex. *PLoS ONE* 7:e50539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050539.s001>.
- Lin FG, Liu RC (2010) Subset of thin spike cortical neurons preserve the peripheral encoding of stimulus onsets. *J Neurophysiol* 104:3588–3599. <https://doi.org/10.1152/jn.00295.2010>.
- Liu RC, Miller KD, Merzenich MM, Schreiner CE (2003) Acoustic variability and distinguishability among mouse ultrasound vocalizations. *J Acoust Soc Am* 114:3412–3422. <https://doi.org/10.1121/1.1623787>.
- Liu RC, Schreiner CE (2007) Auditory cortical detection and discrimination correlates with communicative significance. *PLoS Biol* 5:e173. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050173.g012>.
- Machens CK, Wehr MS, Zador AM (2004) Linearity of cortical receptive fields measured with natural sounds. *J Neurosci* 24:1089–1100. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4445-03.2004>.
- Manunta Y, Edeline J-M (2004) Noradrenergic induction of selective plasticity in the frequency tuning of auditory cortex neurons. *J Neurophysiol* 92:1445–1463. <https://doi.org/10.1152/jn.00079.2004>.
- Manunta Y, Edeline J-M (1997) Effects of noradrenaline on frequency tuning of rat auditory cortex neurons. *Eur J Neurosci* 9:833–847. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1997.tb01433.x>.
- Marlin BJ, Mitre M, D'amour JA, Chao MV, Froemke RC (2015) Oxytocin enables maternal behaviour by balancing cortical inhibition. *Nature* 520:499–504. <https://doi.org/10.1038/nature14402>.
- Martucci LL, Amar M, Chausseot R, Benet G, Bauer O, De Zélicourt A, Nosjean A, Launay J-M, Callebert J, Sebré C, Galione A, Edeline J-M, De La Porte S, Fossier P, Granon S, Vaillend C, Cancela J-M (2019) A multiscale analysis in CD38  $-/-$  mice unveils major prefrontal cortex dysfunctions. *FASEB J* 33:5823–5835. <https://doi.org/10.1096/fj.201800489R>.
- Metherate R, Ashe JH (1993) Ionic flux contributions to neocortical slow waves and nucleus basalis-mediated activation: whole-cell recordings in vivo. *J Neurosci* 13:5312–5323. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.13-12-05312.1993>.
- Mikaelian DO, Warfield D, Norris O (1974) Genetic progressive hearing loss in the C57-b16 mouse. Relation of behavioral responses to cochlear anatomy. *Acta Oto-laryngol* 77:327–334. <https://doi.org/10.3109/00016487409124632>.
- Miranda JA, Shepard KN, McClintock SK, Liu RC, Vicario DS (2014) Adult plasticity in the subcortical auditory pathway of the maternal mouse. *PLoS ONE* 9:e101630. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101630.t006>.
- Moore AK, Wehr M (2013) Parvalbumin-expressing inhibitory interneurons in auditory cortex are well-tuned for frequency. *J Neurosci* 33:13713–13723. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0663-13.2013>.
- Moore AK, Weible AP, Balmer TS, Trussell LO, Wehr M (2018) Rapid rebalancing of excitation and inhibition by cortical circuitry. *Neuron* 97:1341–1355.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.01.045>.
- Noirot E (1966) Ultra-sounds in young rodents. I. Changes with age in albino mice. *Anim Behav* 14:459–462. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(66\)80045-3](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(66)80045-3).
- Petersson M, Uvnäs-Moberg K, Erhardt S, Engberg G (1998) Oxytocin increases locus coeruleus alpha 2-adrenoreceptor responsiveness in rats. *Neurosci Lett* 255:115–118. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(98\)00729-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(98)00729-0).
- Portfors CV, Roberts PD, Jonson K (2009) Over-representation of species-specific vocalizations in the awake mouse inferior colliculus. *Neuroscience* 162:486–500. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.04.056>.
- Pollack GA, Bezek JL, Lee SH, Scarlata MJ, Weingast LT, Bergstrom HC (2018) Cued fear memory generalization increases over time.

- Learn Mem. 25(7):298–308. <https://doi.org/10.1101/m.047555.118>.
- Restivo L, Chaillan FA, Ammassari-Teule M, Roman FS, Marchetti E (2006) Strain differences in rewarded discrimination learning using the olfactory tubing maze. *Behav Genet* 36:923–934. <https://doi.org/10.1007/s10519-006-9088-1>.
- Rossi-Arnaud C, Ammassari-Teule M (1998) What do comparative studies of inbred mice add to current investigations on the neural basis of spatial behaviors? *Exp Brain Res* 123:36–44. <https://doi.org/10.1007/s002210050542>.
- Rothschild G, Cohen L, Mizrahi A, Nelken I (2013) Elevated correlations in neuronal ensembles of mouse auditory cortex following parturition. *J Neurosci* 33:12851–12861. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4656-12.2013>.
- Schnupp JWH, Hall TM, Kokelaar RF, Ahmed B (2006) Plasticity of temporal pattern codes for vocalization stimuli in primary auditory cortex. *J Neurosci* 26:4785–4795. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4330-05.2006>.
- Serova LI, Nostramo R, Veerasirikul M, Cappell DB, Sabban EL (2011) Varied mechanisms of oestradiol-mediated regulation of dopamine  $\beta$ -hydroxylase transcription: oestradiol-mediated regulation of DBH. *J Neuroendocrinol* 23:168–176. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2010.02086.x>.
- Sewell GD (1970) Ultrasonic communication in rodents. *Nature* 227:410. <https://doi.org/10.1038/227410a0>.
- Sewell GD (1968) Ultrasound in rodents. *Nature* 217:682–683. <https://doi.org/10.1038/217682a0>.
- Shannon, C.E., 1948. A mathematical theory of communication. *Bell Syst Tech J.* 27, 379–423. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>.
- Shepard KN, Chong KK, Liu RC (2016) Contrast enhancement without transient map expansion for species-specific vocalizations in core auditory cortex during learning. *eNeuro* 3. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0318-16.2016>.
- Shepard KN, Lin FG, Zhao CL, Chong KK, Liu RC (2015) Behavioral relevance helps untangle natural vocal categories in a specific subset of core auditory cortical pyramidal neurons. *J Neurosci* 35:2636–2645. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3803-14.2015>.
- Souffi S, Lorenzi C, Varnet L, Huetz C, Edeline J-M (2020) Noise-sensitive but more precise subcortical representations coexist with robust cortical encoding of natural vocalizations. *J Neurosci* 40:5228–5246. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2731-19.2020>.
- Taberner AM, Liberman MC (2005) Response properties of single auditory nerve fibers in the mouse. *J Neurophysiol* 93:557–569. <https://doi.org/10.1152/jn.00574.2004>.
- Tan AYY, Wehr M (2009) Balanced tone-evoked synaptic excitation and inhibition in mouse auditory cortex. *Neuroscience* 163:1302–1315. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.07.032>.
- Tasaka G-I, Guenther CJ, Shalev A, Gilday O, Luo L, Mizrahi A (2018) Genetic tagging of active neurons in auditory cortex reveals maternal plasticity of coding ultrasonic vocalizations. *Nat Commun* 9. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03183-2>.
- Wade J, Peabody C, Tang YP, Qi L, Burnett R (2013) Estradiol modulates neurotransmitter concentrations in the developing zebra finch song system. *Brain Res* 1517:87–92. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.04.035>.
- Walton JP, Frisina RD, O'Neill WE (1998) Age-related alteration in processing of temporal sound features in the auditory midbrain of the CBA mouse. *J Neurosci* 18:2764–2776. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-07-02764.1998>.
- Willott JF (1986) Effects of aging, hearing loss, and anatomical location on thresholds of inferior colliculus neurons in C57BL/6 and CBA mice. *J Neurophysiol* 56:391–408. <https://doi.org/10.1152/jn.1986.56.2.391>.
- Willott JF, Aitkin LM, McFadden SL (1993) Plasticity of auditory cortex associated with sensorineural hearing loss in adult C57BL/6J mice. *J Comp Neurol* 329:402–411. <https://doi.org/10.1002/cne.903290310>.
- Willott JF, Parham K, Hunter KP (1991) Comparison of the auditory sensitivity of neurons in the cochlear nucleus and inferior colliculus of young and aging C57BL/6J and CBA/J mice. *Hear Res* 53:78–94. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(91\)90215-U](https://doi.org/10.1016/0378-5955(91)90215-U).
- Woolley SMN, Gill PR, Theunissen FE (2006) Stimulus-dependent auditory tuning results in synchronous population coding of vocalizations in the songbird midbrain. *J Neurosci* 26:2499–2512. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3731-05.2006>.
- Zheng QY, Johnson KR, Erway LC (1999) Assessment of hearing in 80 inbred strains of mice by ABR threshold analyses. *Hear Res* 130:94–107. [https://doi.org/10.1016/S0378-5955\(99\)00003-9](https://doi.org/10.1016/S0378-5955(99)00003-9).

(Received 11 August 2020, Accepted 18 November 2020)  
(Available online 28 November 2020)

**Modifications liées à la maternité dans le traitement cortical des signaux de communication : Altérations chez la souris n'exprimant pas de canal TPC et restauration partielle par un traitement chronique d'Ocytocine**

*Juliette Royer<sup>1</sup>, Chloé Huetz<sup>1</sup>, José-Manuel Cancela<sup>1\*</sup>, Jean-Marc Edeline<sup>1\*</sup>*

<sup>1</sup>Université Paris-Saclay, CNRS, Institut des Neurosciences Paris-Saclay, 91190, Gif-sur-Yvette, France.

\* Contribution égale au travail

***Corresponding author :***

Jean-Marc Edeline, Université Paris-Saclay, CNRS, Institut des Neurosciences Paris-Saclay, 91190, Gif-sur-Yvette, France.

Nombre de pages : 26

Nombre de figures : 5

Nombre de mots dans le résumé : 274

## Résumé

Les signaux de communication acoustiques sont cruciaux pour les interactions sociales et les réseaux corticaux doivent traiter efficacement ces signaux pour que des comportements adéquats se fassent entre individus. Chez des souris vierges n'exprimant pas le canal « two-pore-channel » (TPC) nous avons précédemment montré des altérations de réponses évoquées dans le cortex auditif primaire par imagerie bi-photonique et par électrophysiologie. Les réponses corticales des souris KO TPC étaient moins fortes, plus variables et moins sélectives pour les vocalisations de souris que chez des souris WT. La présente étude avait pour objectif de déterminer si cette situation se retrouve chez des souris mères KO TPC qui montrent des déficits de comportements maternels. Contrairement à la situation des souris mères WT, les réponses évoquées corticales des souris mères KO TPC sont augmentées par rapport aux souris TPC vierges. Alors que la capacité de discrimination neuronale (quantifiée par l'information mutuelle par potentiel d'action) est augmentée chez les souris mères WT par rapport aux vierges, elle est diminuée chez les souris mères KO TPC. Un traitement chronique à l'ocytocine (OT) effectué sur les 9-10 jours post-partum ne restaure pas le déficit comportemental des mères KO TPC, mais restaure les diminutions de réponses corticales et l'augmentation des capacités de discrimination neuronales. Chez les mères KO TPC, les seuils auditifs (mesurés par la méthode des Auditory Brainstem Responses) sont plus élevés que chez les vierges, un effet qui s'observe aussi chez les mères traitées à l'OT. Ces résultats indiquent que les déficits comportementaux des souris mères KO TPC s'accompagnent de modifications corticales du traitement des signaux de communication acoustique ; effet qu'un traitement chronique à l'OT peut partiellement restauré.

## Introduction

La communication acoustique est cruciale pour les interactions sociales, et de nombreux modèles animaux ont été proposés pour comprendre comment la signification comportementale des sons de communication impacte leur traitement par les neurones auditifs centraux (Ehret, 2006, chapitre 4 ; Marlin et al., 2015 ; Dunlap et al., 2020). Chez de nombreuses espèces de mammifères, les cris des nouveau-nés sont plus importants pour les mères que d'autres sons de communication conspécifiques et hétérospécifiques. Lorsqu'ils sont isolés du nid, les souris nouveau-nés émettent des cris ultrasonores (>25 kHz : Noirot, 1966 ; Sewell, 1968), qui agissent comme un déclencheur pour permettre leur recherche et leur récupération par les souris mères (Sewell, 1970 ; Haack et al., 1983). Il a été montré que certains paramètres de ces cris, comme leur gamme de fréquence et leur durée, peuvent être catégorisés par les mères (Ehret & Haack, 1981, 1982 ; Ehret, 1992), et que les souris mères répondent préférentiellement des sons de types USV par rapport à un son neutre non communicatif, contrairement à des femelles vierges qui n'ont pas de préférence (Ehret et al., 1987). Au niveau corticale de nombreuses études ont rapporté une meilleure discrimination des vocalisations de nouveau-nés chez les souris mères par rapport à des souris vierges naïves (Liu & Schreiner, 2007 ; Shepard et al. 2015a ; Royer et al., 2021).

Chez l'Homme, il a été suggéré que l'intégration et le traitement anormaux des stimuli sensoriels jouent un rôle important dans le comportement social des patients atteints de troubles du spectre autistique (TSA), ce qui pourrait s'expliquer par une activité altérée dans certains réseaux corticaux. De plus, dans les modèles animaux présentant une déficience du comportement social, des altérations du traitement sensoriel ont été remarquées (Geramita et al., 2020 ; Mei et al., 2016 ; Chen et al., 2020 ; Scott et al., 2018, 2020 ; Thye et al., 2018). Au niveau neuronal, les mécanismes sous-jacents à ces altérations du traitement sensoriel ont été rarement étudiés. Plusieurs types de données suggèrent que des altérations de la régulation des réserves de calcium intracellulaires peuvent avoir un impact important sur la façon dont les neurones traitent les entrées synaptiques et ont été impliqués dans les TSA (Nguyen et al., 2018).

Dans une précédente étude (Royer et al., soumis), nous avons étudié le rôle fonctionnel des canaux TPC dans le traitement cortical des sons de communication, grâce à une souris mutante double KO dépourvue des canaux TPC1 et TPC2. Les TPC sont présents dans de nombreuses espèces avec trois isoformes connues (TPC1, TPC2 et TPC3). Chez l'homme et les rongeurs, seuls les TPC1 et TPC2 sont exprimés, affichant une sélectivité ionique différente en partie s'ils sont activés soit par le nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate (NAADP) (sélectivité  $\text{Ca}^{2+}$ ) (Galione, 2019 ; Gerndt et al., 2020) soit par PI(3,5)P2 (sélectivité  $\text{Na}^+$ ) (Gerndt et al., 2020 ; Wang et al., 2012 ; Cang et al., 2013). Le rôle de ces canaux dans le système nerveux central reste largement méconnu, mais on peut suspecter qu'ils modulent l'activité des réseaux corticaux et le comportement social. Par exemple, pour ce qui est des deux isoformes TPC (TPC1, Chr. 12 q24.13 et TPC2, Chr. 11q13.3) exprimées chez l'homme, les deux régions chromosomiques les codant ont été identifiées comme des

régions du génome humain lié à une variation du nombre de copies (CNV) dans l'autisme et chez les enfants présentant un retard de développement ou et de perte auditive (Khan et al., 2007 ; Shink et al., 2005 ; Chilian et al., 2013). Chez nos souris KO TPC, nous avons comparé les réponses évoquées à des vocalisations de souris notamment, des neurones du cortex auditif primaire avec celles de souris WT. Les résultats obtenus en imagerie calcique bi-photonique ont indiqué que les neurones corticaux des souris TPC KO étaient moins sélectifs à des vocalisations de souris par rapport à d'autres stimuli et répondaient à plus de vocalisations que les neurones des souris WT. De plus, les enregistrements électrophysiologiques ont révélé que les neurones KO TPC répondaient avec un taux de décharge évoqué plus faible, une reproductibilité temporelle des réponses moins bonne et des capacités plus faibles à discriminer entre elles les vocalisations de souris. Ces résultats démontrent que les canaux TPC ont un rôle important dans le traitement cortical des sons de communication, et que les altérations de la régulation intracellulaire du  $Ca^{2+}$  sont fondamentales pour mieux comprendre les déficits corticaux conduisant à des comportements sociaux anormaux.

Dans la présente étude, nous nous sommes demandé si les altérations liées au traitement cortical des sons de communication chez la souris KO TPC sont aggravées lors du passage de vierge à mère chez ces souris mutantes. En effet, traiter efficacement les informations sensorielles provenant des nouveau-nés (cris, odeur, etc.) est primordiale à la souris mère pour s'occuper au mieux de sa portée. Une étude récente de notre équipe (Martucci et al., soumis) a observé chez des souris mères KO TPC un taux de réussite au test de comportement maternel moins bon et une rapidité à ramener le premier nouveau-nés au nid plus faible que des souris mères WT.

Dans cette étude, nous avons enregistré les réponses des neurones du cortex auditif de souris mère KO TPC et comparés ces réponses à celles de souris mère WT ainsi qu'à celles de souris vierges KO TPC. Les résultats montrent que les réponses corticales aux vocalisations de souris augmentent lors du passage de vierge à mère chez les souris KO TPC alors qu'elles diminuent chez les WT, ce qui conduit à une diminution de la valeur moyenne d'information mutuelle/Potentiels d'action (donc moins d'information par PA) chez les mères KO TPC alors que celle des souris mères WT augmente par rapport aux vierges. Pour savoir si les déficits observés étaient dus en partie à la chute de concentration en OT plasmatique détectée chez la souris KO TPC, deux groupes supplémentaires de souris KO TPC mères ont été traitées (en intranasal pendant 9 jours) soit avec une dose d'OT soit avec du sérum physiologique. Même s'il n'y a pas eu d'amélioration de performance au test de comportement maternel (en terme de pourcentage de rappel des nouveau-nés au nid), l'administration d'OT (à la dose de 8UI) tend à augmenter la rapidité des souris mères à ramener leurs premiers petits au nid. Au niveau cortical, le traitement à l'OT a aussi permis de diminuer les réponses évoquées aux sons purs et aux sons de communication acoustique et d'augmenter la valeur de MI/Potentiels d'action chez les souris mères KO traitées à l'OT par rapport à celles traitées au sérum physiologique.

## Matériels et méthodes

### Animaux utilisés

Dans cette étude, nous avons repris les données des souris WT vierges et mères de l'article *Enhanced discriminative abilities of auditory cortex neurons for pup calls despite reduced evoked responses in C57BL/6 mother mice* ; et les données des souris vierges KO TPC de l'article *Altered cortical discrimination between communication sounds in a mouse lacking two-pore channels: a two-photon and electrophysiological study*. Nous avons donc, en plus de ces groupes, des souris mères KO TPC de même fond génétique que les souris KO TPC de l'article Royer et al., (soumis), (cf. *Methods*).

Dans cette article nous avons comparé les résultats obtenus entre les souris vierges WT (n=15) et mères WT (n=15), ceux obtenus entre les souris vierges KO TPC (n=14) et mères KO TPC (n=19), et enfin ceux obtenus entre les souris mères KO TPC à qui on a administré du sérum physiologique intranasale (n=12) et les souris mères KO TPC à qui on a administré de l'OT intranasale (n=16).

Avant les expérimentations d'électrophysiologie extracellulaire dans le cortex auditif, l'audiogramme de chaque animal a été quantifié par l'analyse des réponses du tronc cérébral auditif (Auditory Brainstem Response ou ABR). L'ABR est obtenu par un enregistrement différentiel entre 2 électrodes sous cutanées, l'une placée au niveau du vertex, l'autre au niveau de la bulle tympanique. Une masse est placée au niveau du dos de la souris. Une interface de stimulation/acquisition et un logiciel dédié (RTLab, Echodia, Clermont-Ferrand) permettent de moyennner les différences de potentiel entre les deux électrodes lors de la présentation, par un haut-parleur (Knowles Electronics) placé dans l'oreille droite de la souris, d'un clic ou de sons purs de fréquences allant de 4 à 32kHz. Pour chaque fréquence, le seuil d'intensité sonore est identifié lorsque les plus petites ondes (généralement les ondes II et III) de l'ABR sont encore détectables. Tous les animaux inclus dans ce travail avaient des seuils au clic, inférieurs à 50 dB SPL (signe d'une audition correcte). De plus, les amplitudes et les latences des cinq ondes ABR ont été quantifiées à 70 dB SPL pour chaque groupe.

### Administration d'OT ou de solution saline chez les souris mères KO TPC et test de comportement maternel

#### a. Administration intranasale

Des souris mères KO TPC ont été divisées en 2 groupes :

- 16 souris mères KO TPC à qui on a administré de l'OT intranasale (8 UI = 14,97 µg/kg)
- 12 souris mères KO TPC à qui on a administré du sérum physiologique intranasale

L'administration du sérum physiologique ou de l'OT est réalisée tous les matins à partir du lendemain de la naissance des nouveau-nés jusqu'au jour de l'enregistrement électrophysiologique (de P1 à P9-P10). Les souris sont anesthésiées quelques minutes à l'isoflurane et une pipette contenant le sérum physiologique ou l'OT est approché des deux

narines de la souris. La respiration de la souris permet à la goutte de solution de rentrer dans le nez de la souris. La souris se réveille au bout de quelques secondes et est remise dans sa cage.

#### b. Test de comportement maternel

Les souris à qui on a administré du sérum physiologique ou de l'OT réalisent aussi un test de comportement maternel à P8. Le test consiste à mesurer le temps que met la souris mère à ramener au nid ses nouveau-nés placés à trois coins de la cage (dans le quatrième coin se situe souvent le nid). Chaque cage de souris mères KO TPC est amenée dans la pièce où va se dérouler le test (luminosité et température contrôlée) 1h avant le test pour s'acclimater à l'environnement. La souris mère est sortie de la cage et isolée pendant que 3 nouveau-nés sont placés à 3 coins de la cage (Sur une portée de plus de 3 nouveau-nés, les autres nouveau-nés sont aussi sortis et regroupés dans un « nid » de coton provisoire préparé auparavant par l'expérimentateur. Un nid provisoire est préparé pour chaque portée/cage pour qu'il n'y ait pas de mélange d'odeur avec les autres portées). Puis la souris mère est remise dans sa cage, et chronométrée sur son temps à ramener chaque nouveau-né au nid. Après avoir ramené les 3 premiers, les autres nouveau-nés de la portée sont délivrés un par un dans un coin de la cage, et la souris continue à être chronométrée jusqu'à ce qu'elle ramène le dernier petit au nid.

### **Chirurgie corticale**

L'animal est anesthésié par un mélange kétamine/Xylazine (Kétamine : 100 mg/kg, i.p; Xylazine 15mg/kg, i.p.) réinjecté lorsque des mouvements à un pincement de la patte sont observés (Kétamine: 50 mg/kg, i.p. Xylazine 7,5 mg/kg, i.p.) généralement toutes les 1h30. L'animal est placé dans un cadre stéréotaxique, maintenu temporairement par des barres d'oreilles et une pièce de gueule. Après injection d'anesthésique local (Xylocaïne 2%), la peau du crâne est incisée et les muscles temporaux sont écartés. Le crâne de l'animal est ensuite fixé à un support par du ciment dentaire ce qui permet de maintenir la tête de l'animal sans barres d'oreille ni pièce de gueule. Une craniotomie est réalisée (8 mm dans l'axe antéro-postérieur entre les sutures coronales et lambdoïdes ; et 6 mm dans l'axe dorso-ventral, 2 mm en dessous de la suture sagittale) pour avoir accès au cortex auditif gauche. Le centre de cette ouverture se situe 3mm postérieurement au bregma et 5mm ventralement à la ligne Bregma-Lambda, et correspond à la position centrale du cortex auditif primaire (Joachimsthaler et al., 2014). La dure-mère est enlevée sous loupe binoculaire à l'aide de pinces fines. Le cadre stéréotaxique qui maintient la souris est installée dans une enceinte insonore IAC modèle 02. Durant l'ensemble de la chirurgie et des enregistrements la température de l'animal est maintenue autour de 37°C grâce à système de régulation thermique automatisé.

### **Stimuli acoustiques utilisés**

Un haut-parleur calibré (modèle EC1, TDT) dont l'extrémité se termine par un embout en silicone est placé dans le conduit auditif droit. Ce haut-parleur a un spectre d'émission

relativement plat entre 2,5 et 110kHz. Pour déterminer si les neurones enregistrés répondent aux sons purs, nous avons présenté aléatoirement des sons purs (50ms) entre 2,5kHz et 80 kHz (taux d'échantillonnage 197 kHz) à 70dB et à une cadence de 4Hz. On présente ensuite 18 vocalisations de souris nouveau-nés et 18 vocalisations de souris mâles adultes, répétées 20 fois chacune. Ces vocalisations proviennent du laboratoire du Prof. Robert C. Liu (Emory University, Atlanta) qui les a caractérisées acoustiquement (Liu et al., 2003) et les a ensuite utilisées dans de nombreuses expériences d'électrophysiologie (Galindo-Leon et al., 2009 ; Shepard et al., 2016). Enfin, 4 vocalisations de cobayes sont présentées, répétées aussi 20 fois. Elles proviennent de notre laboratoire, et ont été utilisées dans de précédentes études électrophysiologiques (Aushana et al., 2018 ; Souffi et al., 2020 ; Royer et al., 2021).

### **Protocole expérimental**

Afin d'échantillonner au mieux le cortex auditif primaire, une matrice de 16 électrodes (TDT ou MicroProbes) est utilisée. Elle est disposée en 2 rangées de 8 électrodes espacées de 1000 $\mu$ m, deux électrodes d'une même rangée sont séparées de 350 $\mu$ m. Chaque électrode (en tungstène) fait 33 $\mu$ m de diamètre pour une impédance de 0.5-1 M $\Omega$ . Un fil d'argent servant de masse est placé entre l'os et la dure-mère. Le signal est amplifié (TDT, gain 10000) numérisé (25kHz) puis transmis par fibre optique à une station d'acquisition (TDT Pentusa 16 voies) où il est filtré (0,6-10kHz) pour ne garder que les potentiels d'action (PA). Pendant l'expérience, on visualise les décharges neuronales sur les 16 voies d'acquisition au moyen d'une interface graphique réalisée en Matlab. Un seuil d'amplitude (en microvolt) est déterminé individuellement pour chaque électrode afin de ne sélectionner que les PA les plus amples dont les formes sont visualisées directement pendant l'expérience. Sur la base des formes des PA, nous estimons que chaque électrode recueille extracellulairement l'activité d'un petit groupe de 2-6 neurones situés dans un rayon d'environ 50  $\mu$ m autour de l'électrode. La matrice d'électrodes est positionnée perpendiculairement au cortex afin d'avoir les 16 électrodes dans la même couche corticale. Nos enregistrements ont été réalisés à une profondeur d'environ 500 $\mu$ m, ce qui correspond au milieu de la couche IV du cortex auditif de la souris d'après Anderson et al 2009. Une implantation de la matrice d'électrodes correspond à une session d'enregistrement, et 2 à 6 sessions ont été réalisées sur un même animal. Les enregistrements seront représentés par des champs récepteurs spectro-temporel. Le champ récepteur du neurone est donc le taux de décharge des neurones en fonction du temps après la présentation du stimulus et de la fréquence d'un son. Le champ récepteur est classiquement utilisé de déterminer la plage de fréquences auxquelles les neurones répondent (voir revue Fritz et al., 2007 ; Froemke & Martins, 2011 ; Eggermont, 2011). Lorsque les enregistrements sous au moins 4 électrodes montrent des champs récepteurs significatifs (les réponses aux sons purs doivent être 6 écart-types au-dessus de l'activité spontanée), la stabilité des réponses est évaluée pendant au moins 15 minutes en comparant les champs récepteurs toutes les 5 minutes. Le protocole consiste alors à présenter les sons purs (de fréquences allant de 2,5 à 80 kHz) à 75 dB, puis le jeu de vocalisations de nouveau-nés et d'adultes, et enfin les vocalisations de cobayes. Ce protocole est utilisé à l'identique pour tous les groupes

WT et KO TPC, vierges et mères, avec ou sans administration intranasale. A la fin de ce protocole, la matrice d'électrode est relevée et insérée à un endroit différent du cortex auditif.

### **Quantification des réponses aux sons purs**

Pour les réponses aux sons purs, les champs récepteurs issus des enregistrements ont été obtenus en construisant des histogrammes de temps post-stimulus pour chaque fréquence avec des intervalles de temps de 1 ms. Le taux de décharge évoqué à chaque fréquence a été quantifiée en additionnant tous les potentiels d'action depuis le début de la présentation du son pur jusqu'à 50 ms après. Les taux de décharge significatifs sont automatiquement identifiés à l'aide d'un contour de significativité qui correspond au taux de décharge 6 écart-types au-dessus de l'activité spontanée. Pour chaque champ récepteur, la fréquence préférée des neurones (BF) a été définie comme la fréquence à laquelle le taux de décharge le plus élevé a été enregistré, la latence de réponse, la durée de la réponse et la largeur spectrale (la bande de fréquence auquel chaque champ récepteur répond) ont été mesurés grâce au contour de significativité.

### **Analyses des données issues des réponses aux vocalisations**

#### **a. Taux de décharge évoqué**

Pour chaque électrode et à chaque essai, le taux de décharge évoqué, qui correspond au nombre total de potentiels d'action se produisant du début de la présentation du stimulus jusqu'à 60 ms après, est calculé et mesuré s'il est significativement plus élevé que l'activité spontanée (en utilisant le test de Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ). La latence de réponse aux vocalisations et la durée de la réponse ont été aussi mesurés dans chaque essai.

#### **b. Information mutuelle**

La méthode développée par Schnupp et al. (2006) a été utilisée pour quantifier la quantité d'informations (Shannon, 1948) contenues dans les réponses aux vocalisations obtenues avec ces stimuli naturels. Cette méthode permet de quantifier dans quelle mesure l'identité de la vocalisation peut être déduite des réponses neuronales. Ici, les « réponses neuronales » font référence aux trains de potentiels d'action obtenus à partir d'un petit groupe de neurones sous une électrode (pour le calcul de l'information mutuelle individuelle, MI). Les réponses neuronales ont été représentées à l'aide de différentes échelles de temps allant de 65 ms pour les vocalisations de souris (durée de la vocalisation la plus longue) et 280 ms pour les vocalisations de cobayes, à une précision de 1 ms (modèles temporels précis), ce qui permet d'analyser dans quelle mesure le timing du pic contribue à l'information. Comme cette méthode est décrite de manière exhaustive dans Schnupp et al. (2006) et dans Gaucher et al. (2013a), nous ne présentons ci-dessous que les grands principes.

La méthode repose sur un algorithme de reconnaissance de motifs conçu pour « déterminer » quel stimulus a suscité un motif de réponse particulier » en passant par les étapes suivantes : De toutes les réponses d'un site cortical aux différents stimuli, une seule

réponse (motif « test ») est extrait et représenté sous la forme d'un histogramme de temps post-stimulus avec une taille de classe (bin) donnée (différentes tailles ont été considérées comme discuté plus loin). Ensuite, un modèle de réponse moyenne est calculé à partir des réponses restantes (ensemble d'apprentissage) pour chaque classe de stimulus. Le motif « test » est ensuite affecté à la classe de stimulus du motif de réponse moyen le plus proche. Cette opération est répétée pour toutes les réponses, générant une matrice de confusion où chaque réponse est affectée à une classe de stimulus donnée. A partir de cette matrice de confusion, l'Information Mutuelle (MI) est donnée par la formule de Shannon :

$$MI = \sum_{x,y} p(x,y) \times \log_2 \left( \frac{p(x,y)}{p(x) \times p(y)} \right)$$

où x et y sont les lignes et les colonnes de la matrice de confusion, ou en d'autres termes, les valeurs prises par les variables aléatoires « classe de stimulus présentée » et « classe de stimulus assignée », respectivement.

Dans notre cas, nous avons utilisé les réponses aux 18 vocalisations de souris nouveau-nés et 18 vocalisations de souris mâles adultes et sélectionné les réponses se produisant pendant les 65 ms après le début du stimulus (c'est-à-dire la durée maximale des vocalisations). Dans un scénario où les réponses ne portaient pas d'informations, les affectations de chaque réponse à un modèle de réponse moyen étaient équivalentes au niveau de chance (ici 0,055 car nous avons utilisé 18 stimuli différents et chaque stimulus a été présenté le même nombre de fois) et la MI serait alors proche de zéro. Dans le cas contraire, lorsque les réponses sont très différentes entre les classes de stimulus et très similaires au sein d'une classe de stimulus, la matrice de confusion serait diagonale et l'information mutuelle serait proche de  $\log_2(18) = 4,17$  bits. Au niveau cortical, plusieurs études ont rapporté qu'une taille de classe (bin) optimale pour obtenir une valeur maximale de MI était en moyenne de 8 ms (Schnupp et al., 2006 ; Gaucher et al., 2013 ; Gaucher & Edeline, 2015 ; Souffi et al., 2020). Cette valeur de classe (bin) sera d'ailleurs utilisée pour les réponses aux vocalisations de cobayes. Mais ici, parce que les vocalisations de souris sont très courtes (12-65 ms) lorsque nous avons calculé la MI pour une précision temporelle allant de 1 à 64 ms, la quantité maximale de MI a été obtenue pour une précision temporelle de 4 ms. Cette valeur a donc été utilisée pour toutes les analyses sur les réponses vocalisations de souris.

Les estimations de MI sont sujettes à des biais d'échantillonnage positifs non négligeables. Par conséquent, comme dans Schnupp et al. (2006), nous avons estimé la taille attendue de ce biais en calculant les valeurs MI pour les données « mélangées », dans lesquelles les modèles de réponse ont été réaffectés au hasard aux classes de stimulus. Le brassage a été répété 100 fois, ce qui a donné 100 estimations du biais de MI ( $MI_{\text{bias}}$ ). Ces estimations de  $MI_{\text{bias}}$  ont ensuite été utilisées comme estimateurs pour le calcul de la signification statistique de l'estimation de la MI pour les ensembles de données réelles (non mélangés) : l'estimation réelle a été considérée comme significative si sa valeur était statistiquement différente ( $p < 0,05$ ) de la distribution des estimations remaniées  $MI_{\text{bias}}$ .

## Statistiques

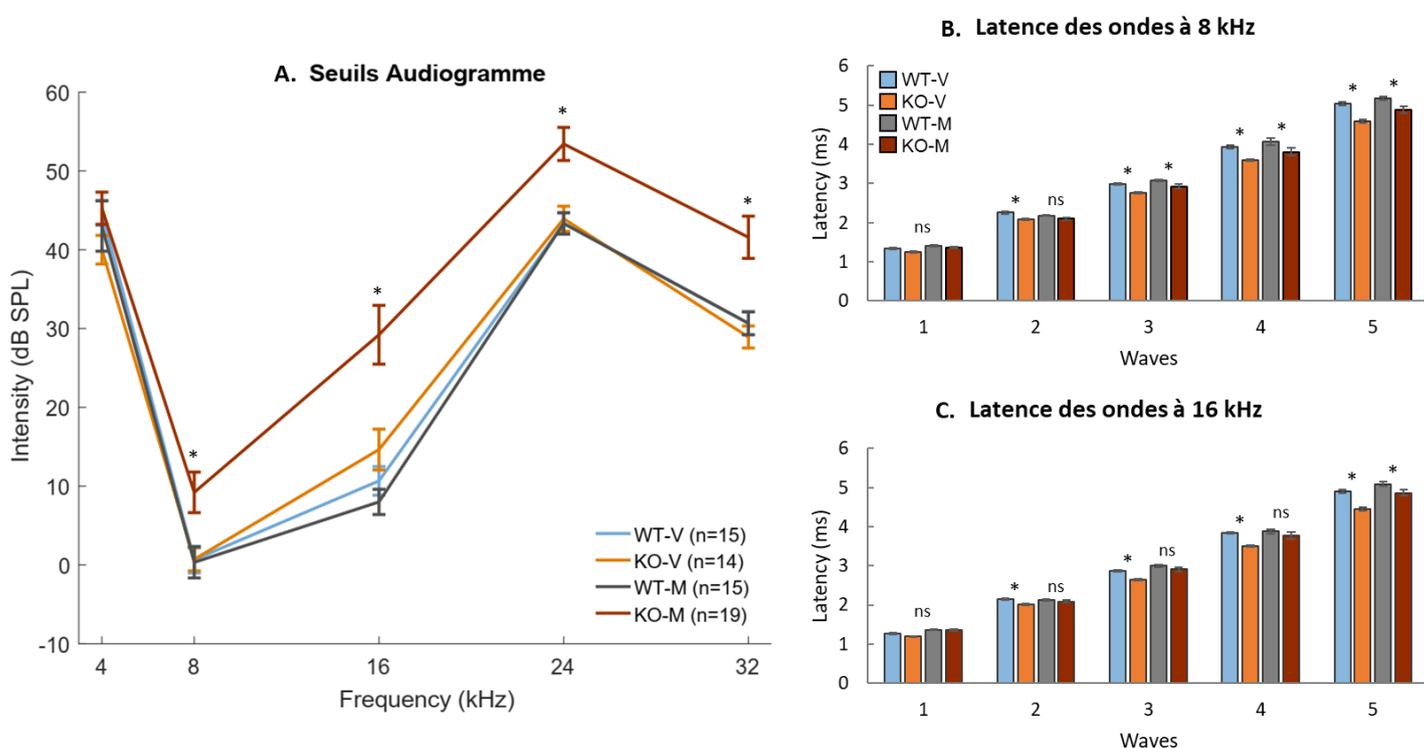
Pour comparer l'amplitude moyenne et la latence des cinq ondes ABR entre les groupes, une two-way ANOVA (effets fixes) a été réalisée pour chaque son (sons purs à 8 et 16 kHz). Des comparaisons post-hoc ont été effectuées avec des tests Student. Les tests ont été corrigés pour les comparaisons multiples à l'aide des corrections de Bonferroni et ont été considérés comme significatifs si leur valeur  $p$  était inférieure à 0,05. Nous avons d'abord testé si nous avions des distributions normales et des variances égales dans nos distributions échantillonnées pour chaque paramètre extrait des réponses neuronales. Dans tous les cas, les distributions étaient normales permettant de réaliser des tests paramétriques (t-tests non appariés). Lorsque toutes les données ont été comparées entre deux groupes, des tests de Student ont été utilisés. Dans toutes les figures affichant des données de groupe, nous avons indiqué par \* une valeur  $p < 0,05$ , par \*\* une valeur  $p < 0,01$  et par \*\*\* une valeur  $p < 0,001$ .

## Résultats

### Effets sur les seuils ABR des souris mères WT et KO TPC par rapport aux souris vierges

Avant de commencer les enregistrements électrophysiologiques corticaux, l'audiogramme de chaque souris a été systématiquement quantifié (par la mesure des seuils ABR) et nous avons exclu les animaux partiellement sourds (avec un seuil de clic  $\geq$  à 70dB SPL ; pour les souris WT :  $n = 3/33 = 10\%$ , pour les souris KO :  $n = 8/70 = 11\%$ ).

Chez les souris WT, les seuils ABR ne sont pas différents entre souris vierges (WT-V) et mères (WT-M) pour toutes les fréquences testées (4, 8, 16, 24 et 32 kHz). De plus, les seuils ABR des souris vierges KO-TPC (KO-V) ne sont pas différents des souris WT vierges et mères (figure 1A ; t-tests non appariés, toutes les valeurs  $p > 0,05$ ). Par contre, les seuils des souris mères KO TPC (KO-M) sont significativement plus élevés à 8, 16, 24 et 32 kHz que les trois autres groupes (t-test non appariés,  $p < 0,05$  pour toutes les fréquences hormis 4 kHz).



**Figure 1 : Résultats des seuils ABR et de la latence des ondes à 8 et 16 kHz**

**A :** Des sons purs (à 4, 8, 16, 24 et 32 kHz) ont été présentés à différentes intensités (entre 70 et -10 dB SPL) et les seuils auditifs du tronc cérébral (ABR) ont été déterminé pour chaque fréquence (mesure seuil de l'onde III). Chaque point représente le seuil moyen ( $\pm$  sem) de chaque groupe aux différentes fréquences. Les seuils ABR mesurés chez les souris vierges WT (bleu), vierges KO TPC (orange) et mères WT (gris), n'étaient pas différents entre les groupes. Seuls les seuils des souris mères KO TPC (marron) étaient significativement plus élevés à 8, 16, 24 et 32 kHz que les autres groupes.

**B :** Distribution de la latence des ondes I à V pour chaque groupe à 8 kHz. Les latences des ondes III à V étaient significativement plus courtes chez les mères (WT et KO TPC) par rapport aux vierges (WT et KO TPC). La latence était même plus courte dès l'onde II entre les mères WT et vierges WT.

**C :** Distribution de la latence des ondes I à V pour chaque groupe à 16 kHz. Les latences des ondes II à V étaient significativement plus courtes chez les mères WT par rapport aux vierges WT. La latence des ondes chez les souris mères KO TPC n'était courte qu'à l'onde V par rapport aux vierges KO TPC.

Nous avons aussi quantifié la latence moyenne des ondes ABR pour chaque groupe à 8 (figure 1B) et à 16 kHz (figure 1C) car c'est la gamme de fréquences qui montre les seuils les plus bas chez de nombreuses souches de souris (Zheng et al. 1999). Une analyse de variance (two-way ANOVA) a permis de comparer la latence des cinq ondes ABR entre les groupes. Entre les souris vierges et mères WT, il y a un effet « groupe » significatif à 8 kHz ( $F_{1,14}=6.94$ ,  $p<0.01$ ) et à 16 kHz ( $F_{1,14}=13.43$ ,  $p<0.001$ ), et il n'y a pas d'interaction entre « groupes » et « ondes » (valeur de p la plus faible :  $p=0.09$  pour 8 kHz). Entre les souris vierges et mères KO TPC, il y avait aussi un effet « groupe » significatif à 8 kHz ( $F_{1,15}=19.89$ ,  $p<0.001$ ) et à 16 kHz ( $F_{1,15}=49.84$ ,  $p<0.001$ ). On observe une interaction « groupe-ondes » ( $F_{1,15}=2.85$   $p<0.05$ ) à 16 kHz uniquement. Des analyses post-hoc ont révélé que les latences des ondes III à V étaient significativement plus courtes chez les mères (WT et KO TPC) par rapport aux vierges à 8kHz (t-test non appariés,  $p<0,05$ ). La latence était même plus courte dès l'onde II entre les mères WT et vierges WT (t-test non appariés,  $p<0,05$ ). A 16 kHz, les latences des ondes II à V sont significativement plus courtes chez les mères WT par rapport aux vierges WT (t-test appariés,  $p<0,05$ ), et une latence plus courte chez les souris mères KO TPC par rapport aux vierges n'a été observée que pour l'onde V (t-test non appariés,  $p<0,05$ ).

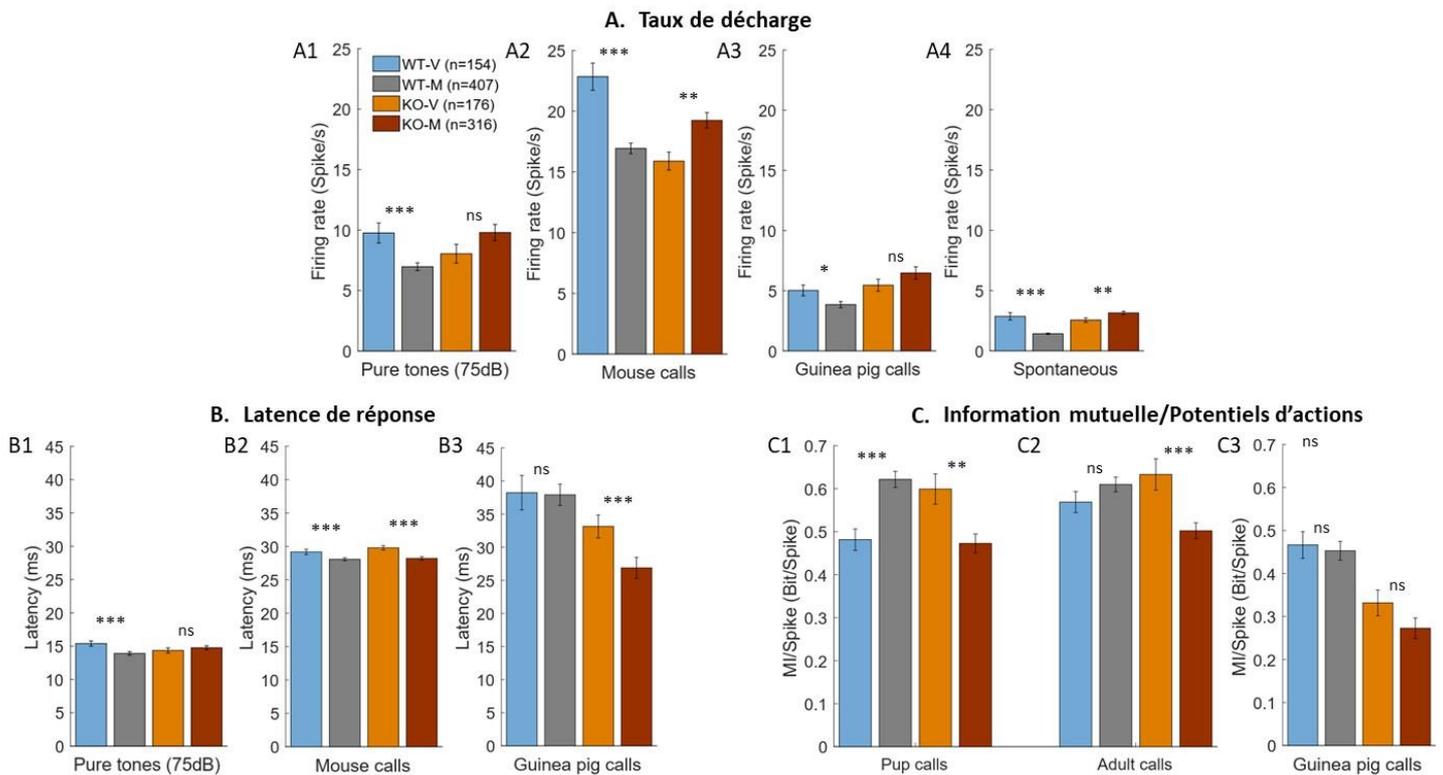
En conclusion, les seuils ABR sont significativement augmentés chez les mères KO TPC dans les moyennes et hautes fréquences. Par contre, des latences plus courtes sont observées chez les mères à la fois chez les WT et chez les KO TPC.

### **Effets opposés de la maternité sur les réponses évoquées chez les souris WT et TPC KO**

La figure 2 présente les paramètres quantifiés des réponses aux sons purs, aux vocalisations de souris (nouveau-nés et mâles adultes) et aux vocalisations de cobayes, des neurones corticaux des quatre groupes de souris : WT-V, WT-M, KO-V et KO-M.

Comme le montre la figure 2A, chez les souris WT, quel que soit le stimulus utilisé, le taux de décharge évoqué est systématiquement plus bas chez les souris mères par rapport au souris vierges (sons purs (A1), vocalisations de souris (A2),  $p<0.01$  ; vocalisation de cobaye(A3)  $p<0.05$ ). Le taux de décharge spontané est aussi plus bas (A4 ;  $p<0.01$ ). Au contraire, chez les souris KO TPC, le taux de décharge évoqué entre les vierges et les mères est soit inchangé (aux sons purs (A1)  $p=0.1013$  ; aux vocalisations de cobaye (A3)  $p=0.205$ ) soit augmenté (aux vocalisations de souris (A2)  $p<0.01$ )

La latence des réponses aux sons purs et aux vocalisations de souris sont significativement plus courtes chez les mères WT par rapport aux vierges WT (Figure 2 B1 et B2 ; t-test non appariés,  $p<0,001$ ) et elles ne sont pas significativement diminuées pour les réponses aux vocalisations de cobayes (B3 ;  $p=0.9212$ ). Des diminutions de latences s'observent aussi chez les mères KO TPC : elles sont significatives pour les vocalisations de souris et de cobayes (B2 et B3 ;  $p<0.001$  dans les deux cas) mais elles ne sont pas significatives pour les sons purs (B1 ;  $p=0.41$ ).



**Figure 2 : Réponses électrophysiologiques aux sons purs, vocalisations de souris et de cobayes**

**A :** Taux de décharge (potentiels d'action par seconde) évoqués (moins le spontané) en réponse aux sons purs, aux vocalisations de souris ou aux vocalisations de cobayes, et spontanés pour chaque groupe. Les taux de décharge spontané et évoqué en réponse aux sons purs, aux vocalisations de souris et de cobayes étaient significativement plus bas chez les souris mères WT par rapport aux vierges WT. A l'inverse, le taux de décharge spontané était significativement plus élevé chez les souris mères KO TPC par rapport aux vierges KO TPC, tout comme les réponses évoquées aux vocalisations de souris. Les réponses aux sons purs et aux vocalisations de cobayes ont tendance à être plus fortes chez les souris mères KO TPC par rapport aux vierges KO TPC, mais cela n'est pas significatif.

**B :** Latence de réponse aux sons purs, aux vocalisations de souris ou aux vocalisations de cobayes pour chaque groupe (vierges WT et KO PC, mères WT et KO TPC). La latence de réponse aux sons purs et aux vocalisations de souris étaient significativement plus courtes chez les mères WT par rapport aux vierges WT. La latence de réponse aux vocalisations de souris et de cobayes était aussi significativement plus courte chez les mères KO TPC par rapport aux vierges KO TPC, mais il n'y avait pas de différence en réponse aux sons purs.

**C :** Information mutuelle (MI)/potentiels d'actions mesurés lors de la présentation de vocalisations de souris (nouveau-nés et mâles adultes) ou de vocalisations de cobayes pour chaque groupe. La valeur de discrimination entre les vocalisations de souris nouveau-nés était significativement meilleure chez les souris mères WT par rapport aux vierges WT, mais pas pour celle des vocalisations de souris mâles adultes. Chez les souris KO TPC, ce sont à la fois les valeurs de discrimination des vocalisations de souris nouveau-nés et mâles adultes qui étaient significativement plus basses chez les mères par rapport aux vierges. Si la valeur de MI/potentiels d'actions pour les vocalisations de cobayes était plus basse chez les souris KO TPC comparé aux WT, il n'y avait pas de différence significative entre les vierges et les mères.

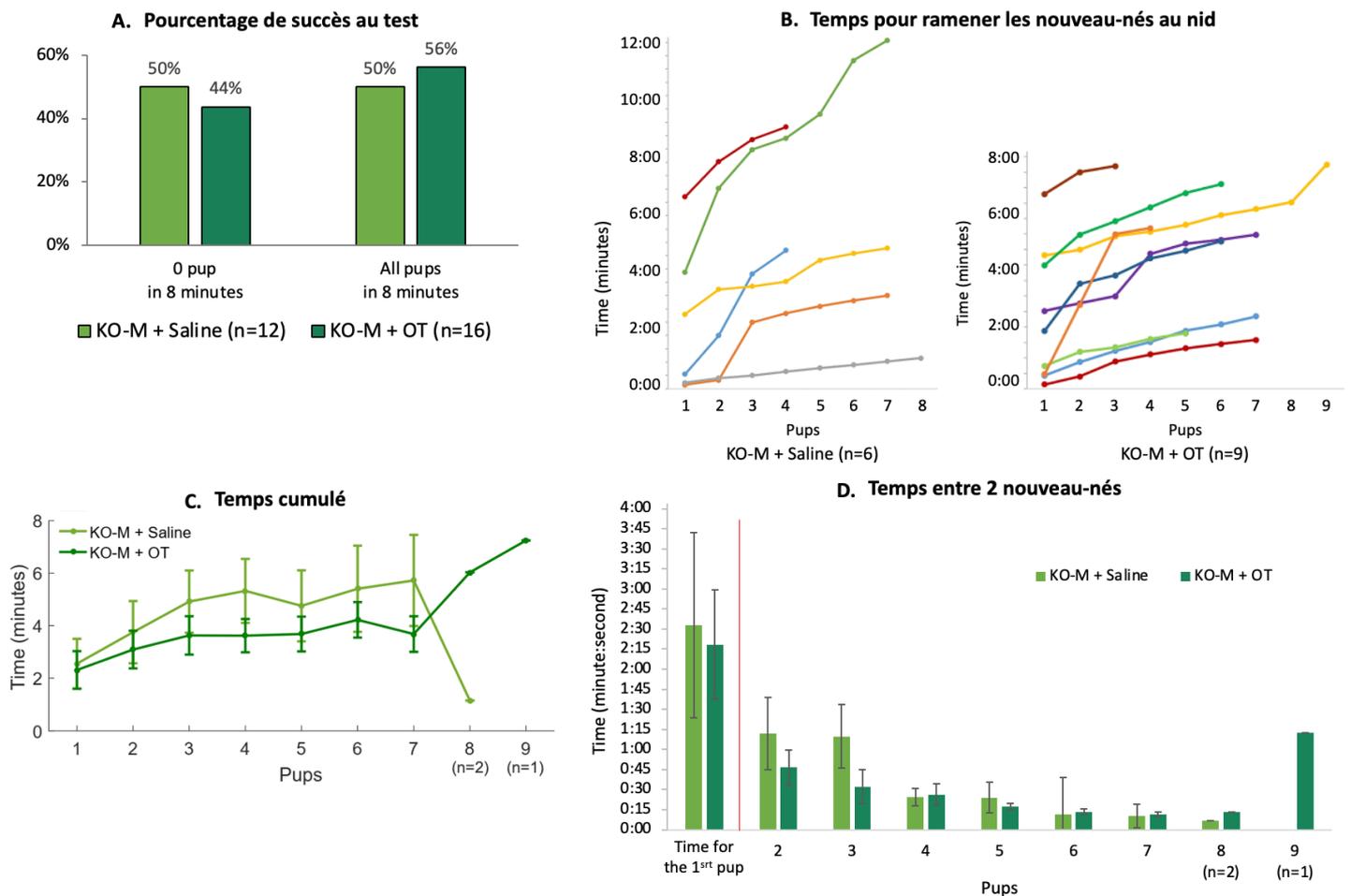
Nous avons ensuite quantifié la valeur d'information mutuelle (MI) par potentiels d'action à la présentation de vocalisations de souris (nouveau-nés et mâles adultes) ou de vocalisations de cobayes. Cette MI a été quantifiée sur la base de patterns temporels avec une précision de 4 ms pour les vocalisations de souris et de 8 ms pour les vocalisations de cobayes (voir méthodes). Chez les souris mère WT, la discrimination neuronale entre les vocalisations de souris nouveau-nés est augmentée par rapport aux vierges WT (Figure 2 C1 ; t-test non

appariés,  $p < 0,01$ ), mais pas pour celle des vocalisations de souris adultes (C2 ; t-test non appariés,  $p = 0,18$ ) ni pour les vocalisations de cobayes (C3 ; t-test non appariés,  $p = 0,7216$ ). Par contre chez les souris KO TPC mères par rapport aux vierges, les valeurs de discrimination neuronale sont plus faibles pour les vocalisations de souris nouveau-nés et d'adultes (vocalisations de nouveau-nés (C1) : t-test non appariés,  $p < 0,01$  ; vocalisations de mâles adultes (C2): t-test non appariés,  $p < 0,001$ ). Pour les valeurs de MI concernant les vocalisations de cobayes, il n'y a pas de différence significative entre les vierges et les mères KO TPC (C3 ; t-test non appariés,  $p = 0,78$ ).

### **Chez les mère KO TPC, l'administration intra-nasale d'OT diminue le temps initial mis pour ramener les nouveau-nés au nid**

La figure 3A montre le pourcentage de réussite au test de comportement maternel réalisé chez des souris mères KO TPC ayant des administrations chroniques intra-nasales d'OT (KO-M + OT) ou de la solution physiologique (KO-M + Saline). Le test est considéré comme réussi lorsque la souris mère a ramené tous ses nouveau-nés au nid, et raté lorsqu'elle n'a ramené aucun nouveau-né au bout de 8 minutes. Seule la moitié des souris KO-M + Saline ont réussi le test (6 souris sur 12). Avec l'administration d'OT, les souris KO-M + OT ont un taux de réussite au test de 56% (9 souris sur 16). Ces résultats ne montrent pas que l'OT améliore le taux de réussite au test, puisque près de la moitié (44%) des souris mères ayant reçu de OT ne ramènent aucun nouveau-né au nid.

Les résultats individuels des souris mères KO TPC ayant ramené tous leurs nouveau-nés au nid sont présentés dans la figure 3B. Les souris KO-M + Saline présentent une plus grande variabilité de latence de réponse, que ce soit en termes de temps initial pour ramener le premier nouveau-né au nid ou de temps entre deux nouveau-nés par rapport aux souris KO-M + OT. Nous avons donc quantifié le temps cumulé moyen que met chaque souris mère KO-TPC pour ramener tous les nouveau-nés au nid (Figure 3C). A partir du deuxième nouveau-né recherché, les souris KO-M + Saline semblent mettre en moyenne plus de temps à ramener leurs nouveau-nés aux nids par rapport aux souris KO-M + OT. Mais à cause d'une grande variabilité des résultats chez les souris KO-M + Saline et certainement d'un trop faible effectif dans chaque groupe, les différences ne sont pas significatives (t-test non appariés, 2ème :  $p = 0,6578$ , 3ème :  $p = 0,3979$  4ème :  $p = 0,2768$ ). Enfin, nous avons mesuré le temps moyen que met la souris à ramener chaque nouveau-né suivant leur ordre de « retour au nid » (Figure 3D : temps moyen entre deux nouveau-nés ramenés au nid). Si le temps pour aller chercher le premier nouveau-né n'est pas différent entre les deux groupes, le temps pour aller chercher le deuxième et le troisième nouveau-né semble plus important chez les souris KO-M + Saline par rapport aux souris KO-M + OT, mais là encore ce n'est pas significatif (t-test non appariés, 2ème :  $p = 0,3753$ , 3ème :  $p = 0,1613$ ). A partir du quatrième, nouveau-né, nous ne voyons plus de différence entre les deux groupes (t-test non apparié, 4ème :  $p = 0,8796$ ).



**Figure 3 : Résultats du test de comportement maternel**

**A :** Pourcentage de réussite au test de comportement maternel réalisé par des souris mères KO TPC à qui on a administré en intranasale de l'OT (KO-M + OT) ou de la solution saline (KO-M + Saline). Le test est considéré comme réussi lorsque la souris mère a ramené tous ses nouveau-nés au nid, et raté lorsqu'elle n'a ramené aucun nouveau-né au bout de 8 minutes. Seule la moitié des souris KO-M + Saline ont réussi le test (6 souris sur 12). Avec l'administration d'OT, les souris KO-M + OT ont un taux de réussite au test de 56% (9 souris sur 16).

**B :** Résultats individuels des souris mères KO TPC qui ont ramené tous leurs nouveau-nés au nid. Il semblerait que les souris KO-M + Saline avaient une plus grande variabilité de latence de réponse, que ce soit sur le temps pour ramener le premier nouveau-né au nid ou celui entre deux nouveau-nés par rapport aux souris KO-M + OT.

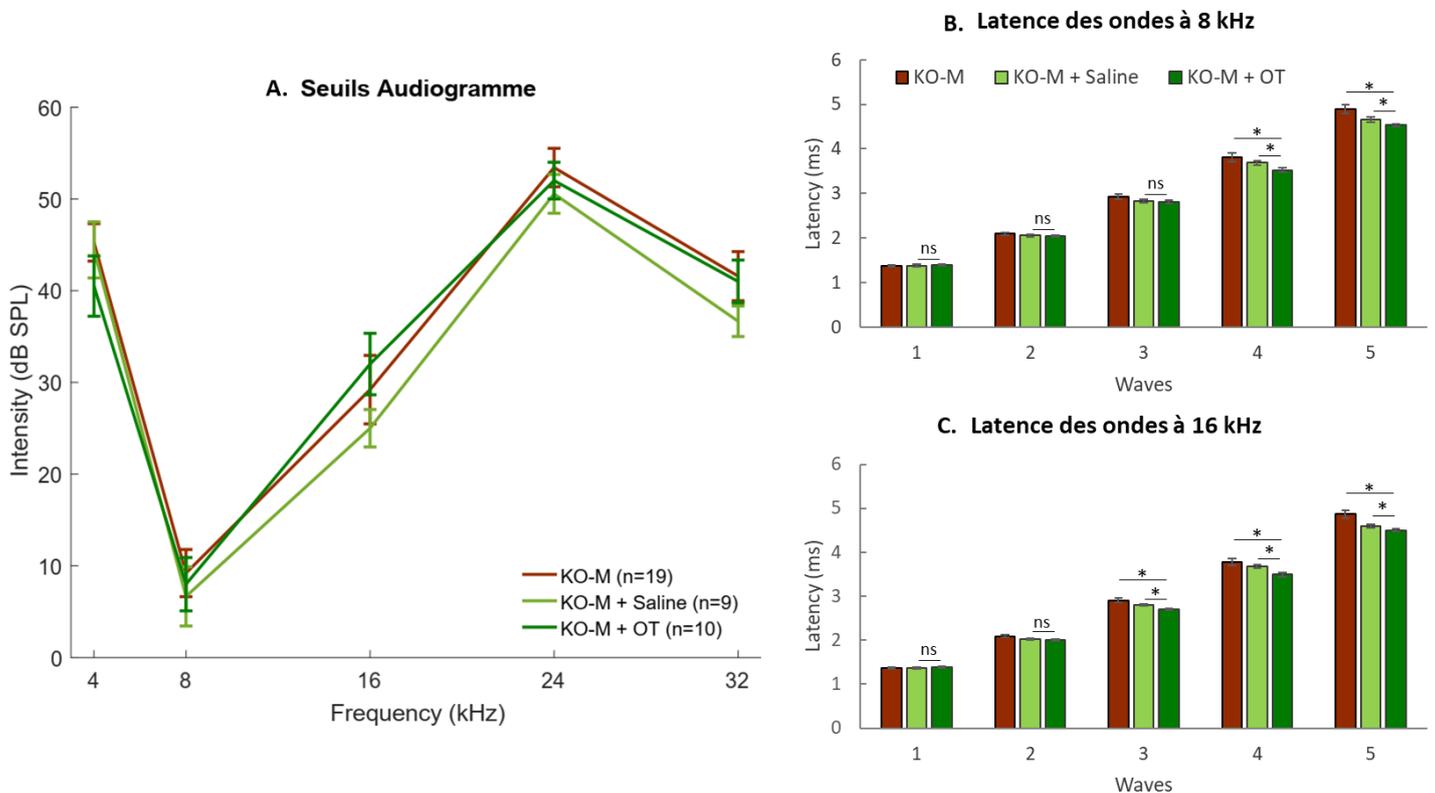
**C :** Temps cumulé moyen pour ramener tous les nouveau-nés au nid entre les souris KO-M + Saline et les souris KO-M + OT. A partir du deuxième nouveau-né recherché, les souris KO-M + Saline mettaient en moyenne plus de temps à ramener leurs nouveau-nés aux nids par rapport aux souris KO-M + OT. Due à la grande variabilité des résultats chez les souris KO-M + Saline et certainement du trop faible effectif dans chaque groupe, les différences ne sont pas significatives.

**D :** Temps moyen entre deux nouveau-nés ramenés au nid. Si le temps pour aller chercher le premier nouveau-né n'est pas différent entre les deux groupes, le temps pour aller chercher le deuxième et le troisième nouveau-né est plus important chez les souris KO-M + Saline par rapport aux souris KO-M + OT. A Partir du quatrième, nouveau-né, il n'y a plus de différence entre les deux groupes.

### Chez les souris mères KO TPC, l'administration chronique intra-nasale d'OT diminue la latence des réponses ABR aux sons purs

Les souris mères KO-TPC ayant reçu de l'OT (KO-M + OT) ou de la solution physiologique (KO-M + Saline) ont des seuils équivalents aux souris mères KO TPC (KO-M) sans

traitement (Figure 4A : t-test non appariés, toutes les valeurs  $p > 0,05$ ). Alors que les mères KO TPC ont des seuils significativement plus élevés que les souris mères WT, l'OT n'a pas permis de restaurer des seuils ABR similaires aux mères WT (Figure 1A). En revanche, l'administration d'OT a eu un effet sur les latences des ondes ABR à 8 et 16 kHz. Une two-way ANOVA a révélé un effet groupe significatif à 8 kHz ( $F_{1,9}=6.34$   $p < 0.05$ ) et 16 kHz ( $F_{1,9}=13.64$   $p < 0.001$ ), et une interaction entre les groupes et les ondes ( $p$ -value la plus faible :  $p = 0.1534$  pour 8 kHz). Des analyses post-hoc ont révélé qu'à 8 kHz, les latences des ondes IV et V étaient significativement plus courtes chez les KO-M + OT par rapport aux souris KO-M + Saline et KO-M (Figure 4B : t-test non appariés,  $p < 0,05$ ). De même à 16 kHz, les latences des ondes III à V étaient significativement plus courtes chez les KO-M + OT par rapport aux souris KO-M + Saline et KO-M (Figure 4B : t-test non appariés,  $p < 0,05$ ). Étonnamment, l'OT administré en intranasale semble diminuer encore plus les latences des ondes tardives des réponses du tronc cérébral chez les souris mères KO TPC.



**Figure 4 : Résultats des seuils ABR et de la latence des ondes à 8 et 16 kHz pour les souris KO mères (KO-M, KO-M + Saline, KO-M + OT)**

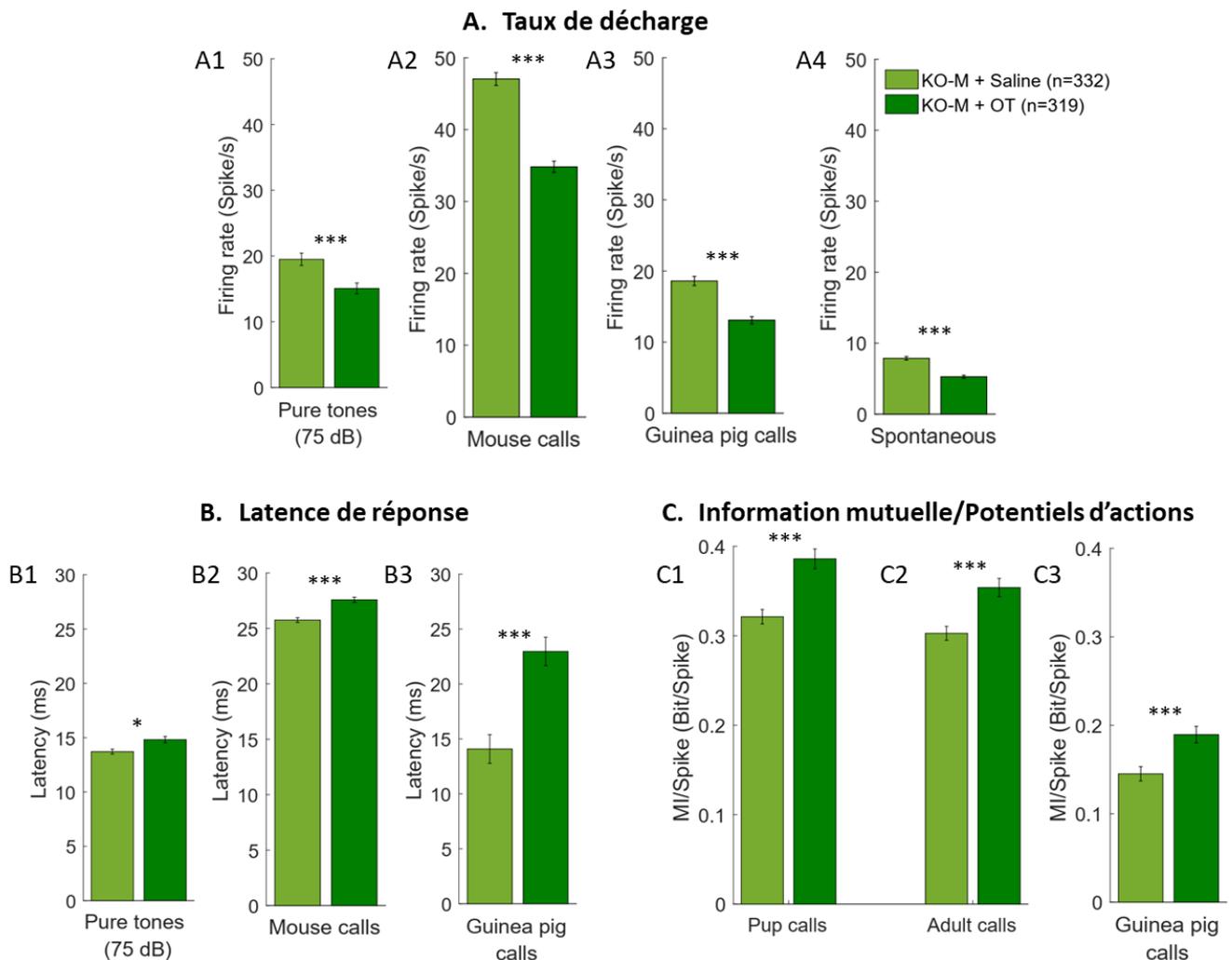
**A :** Mesure des seuils ABR chez les souris mères KO TPC : KO-M (marron), KO-M + Saline (vert clair) et KO-M + OT (vert foncé). Les seuils ABR mesurés n'étaient pas différents entre les trois groupes.

**B :** Distribution de la latence des ondes I à V pour chaque groupe à 8 kHz. Les latences des ondes IV et V étaient significativement plus courtes chez les KO-M + OT par rapport aux souris KO-M + Saline et KO-M.

**C :** Distribution de la latence des ondes I à V pour chaque groupe à 16 kHz. Les latences des ondes III à V étaient significativement plus courtes chez les KO-M + OT par rapport aux souris KO-M + Saline et KO-M.

## Chez des souris mères KO-TPC, l'administration chronique intranasale d'OT diminue les réponses évoquées et augmente l'information mutuelle par potentiels d'actions

Pour ces deux groupes nous avons aussi mesuré le taux de décharge évoquée et la latence des réponses aux sons purs et aux vocalisations, ainsi que la MI/potentiels d'action des réponses neuronales aux vocalisations pour déterminer l'effet au niveau cortical de l'administration chronique intra-nasale d'OT.



**Figure 5 : Réponses électrophysiologiques pour les souris KO-M + Saline et KO-M + OT**

**A :** Taux de décharge (potentiels d'action par seconde) évoqués (moins le spontané) en réponse aux sons purs, aux vocalisations de souris ou aux vocalisations de cobayes, et spontanés pour chaque groupe. Les taux de décharge spontané et évoqué en réponse aux sons purs, aux vocalisations de souris et de cobayes étaient significativement plus bas chez les KO-M + OT par rapport aux KO-M + Saline.

**B :** Latence de réponse aux sons purs, aux vocalisations de souris ou aux vocalisations de cobayes pour chaque groupe (KO-M, KO-M + Saline, KO-M + OT). La latence de réponse aux sons purs, aux vocalisations de souris, et aux vocalisations de cobayes étaient significativement plus élevés chez les KO-M + OT par rapport aux KO-M + Saline.

**C :** Information mutuelle (MI)/potentiels d'actions mesurés lors de la présentation de vocalisations de souris (nouveau-nés et mâles adultes) ou de vocalisations de cobayes pour chaque groupe. La valeur de discrimination entre les vocalisations de souris nouveau-nés, de souris mâles adultes et de cobayes était significativement meilleure chez les souris KO-M + OT par rapport aux souris KO-M + Saline.

La figure 5A montre que le taux de décharge évoqué en réponse aux sons purs, aux vocalisations de souris et de cobayes est significativement plus bas chez les souris mères KO TPC ayant reçues de l'OT (KO-M + OT) par rapport aux souris Saline (KO-M + Saline) (Figure 5 A1, A2, A3, pour tous les stimuli : t-test non appariés,  $p < 0,001$ ). Cet effet est donc similaire à ce qui s'observe chez les souris WT, lors du passage vierge-mère, et est l'inverse de ce qui s'observent chez les souris KO non traitées. Par contre, la latence de réponse aux sons purs, aux vocalisations de souris, et aux vocalisations de cobayes étaient significativement plus élevés chez les KO-M + OT par rapport aux KO-M + Saline (sons purs (B1): t-test non appariés,  $p < 0,05$  ; vocalisations de souris (B2): t-test non appariés,  $p < 0,001$  ; vocalisations de cobayes (B3): t-test non appariés,  $p < 0,001$ ). Cet effet sur les latences diffère à la fois des souris WT et des souris KO TPC non traitées. Enfin, la valeur de discrimination neuronale entre les vocalisations de souris nouveau-nés, de souris adultes et de cobayes est significativement plus élevée chez les souris KO-M + OT par rapport aux souris KO-M + Saline (Figure 5 C1, C2, C3, pour tous les stimuli : t-test non appariés,  $p < 0,001$ ).

Globalement, ces résultats révèlent plusieurs aspects différents du traitement chronique à l'OT : D'une part, il n'y a pas eu un effet comportemental sur le pourcentage de nouveau-nés ramené au nid dans le test de comportement maternel, seul le temps de rappel du 2eme et 3eme semble plus court chez les mères traitées. D'autre part, les seuils ABR n'ont pas été améliorés chez les mères KO TPC traitées à l'OT, mais les latences des ondes tardives de l'ABR (ondes III, IV et V) ont été diminuées. Enfin au niveau cortical, le taux de décharge spontané et évoqué a présenté des changements similaires à ceux observés chez les mères WT, à savoir une diminution des réponses évoquées par rapport au mère TPC KO recevant une solution physiologique. La conséquence la plus intéressante est que la MI/potentiels d'action qui indexe la discrimination neuronale a été augmenté par le traitement chronique à l'OT.

## Discussion

### Résumé des principaux résultats

1. Quels sont les effets physiologiques retrouvés entre les souris WT et KO TPC lors du passage de vierge à mère ? La latence des ondes ABR est diminuée lors du passage de vierges à mères, et ce pour les deux génotypes. On retrouve aussi une diminution de la latence de réponse des neurones du cortex auditif aux vocalisations de souris chez les souris mères KO TPC par rapport aux vierges, comme chez les mères WT.

2. Quels sont les effets différents observés lors du passage de vierge à mère entre les souris WT et KO TPC ? Au niveau du tronc cérébral, les seuils ABR sont significativement plus élevés chez les souris mères KO TPC, ce qui n'est pas le cas chez les mères WT. En mesurant les amplitudes des cinq ondes ABR à 8 et 16 kHz à 70dB, nous avons remarqué que les ondes I, III et IV étaient significativement plus faibles chez les souris mères KO TPC (KO-M, KO-M + Saline, et KO-M + OT) par rapport aux souris mères WT (WT-M). Il n'y a pas de différence significative pour l'onde II, mais la tendance est à la baisse aussi chez les souris mères KO TPC (résultats non montrés). Cette baisse d'amplitude des premières ondes ABR, qui n'a pas pu être restaurée grâce à l'administration d'OT, pourrait expliquer la diminution des seuils chez les souris mères KO TPC. Au niveau cortical, alors que les réponses aux vocalisations de souris diminuent lors du passage de vierge à mère chez les souris WT, elles augmentent chez les mères KO TPC. A valeurs de MI absolues constantes, la diminution des réponses évoquées chez les souris WT conduit à augmenter la valeur moyenne d'information mutuelle/Potentiels d'action (donc plus d'information par PA) alors que celle des souris mères KO TPC diminue par rapport aux vierges.

3. Le traitement à l'OT restore-t-il un phénotype WT chez les souris mères KO TPC ? Même s'il n'y a pas d'amélioration de performance au test de comportement maternel, l'administration d'OT (à la dose de 8UI) semble augmenter la rapidité des souris mères, lorsqu'elles ont compris la tâche, pour ramener leurs premiers petits au nid. Au niveau cortical, le traitement à l'OT a aussi diminué le taux de décharge aux sons purs comme aux sons de communication acoustique et a permis une augmentation de la valeur de MI/Potentiels d'action chez les souris mères KO traitées à l'OT par rapport aux mères KO traitées au sérum physiologique. Enfin, l'administration d'OT a accentué encore plus la diminution des latences des ondes ABR déjà observée lors du passage de vierge à mère sur les deux génotypes, mais elle n'a pas permis d'améliorer les seuils ABR des souris mères KO TPC.

### Comparaison avec les réponses corticales aux cris de nouveau-nés obtenues chez d'autres souches de souris

La première étude électrophysiologique sur l'analyse des réponses aux vocalisations de souris (nouveau-nés) au niveau du cortex auditif a été réalisée en 2006 par Liu et collègues, chez la souris (de souche CBA/Cal). Leurs résultats ont montré que les neurones des souris mères ont développé un meilleur suivi temporel pour la cadence naturelle d'émission des

vocalisations par les nouveau-nés (Liu et al., 2006). Cette même équipe a aussi rapporté en 2007 que les neurones du cortex auditif des mères avaient des capacités supérieures à ceux des souris vierges pour détecter et discriminer les vocalisations de nouveau-nés, surtout dans les 10-20 premières ms de la réponse (Liu & Schreiner, 2007). Ils ont observé une réduction de la latence de réponse entre les souris vierges et mères mais pas de différence de taux de décharge en réponse aux vocalisations. Chez les souris NMRI, Rothschild et collègues (2013) ont observé des « noise correlations » (NC) plus élevées chez les souris mères et une diminution de la latence de réponse aux vocalisations chez les mères, mais aucune différence significative n'a été trouvée entre l'activité évoquée et spontanée entre les souris vierges et mères. De même, dans l'étude de Cohen et Mizrahi (2015) chez la souris C57BL/6, seules des diminutions légères et non significatives de l'activité évoquée ont été détectées dans les neurones pyramidaux et les interneurons positifs pour la parvalbumine.

L'étude de Shepard et al. (2016) a, quant à elle, montré que les enregistrements obtenus à partir des aires AI et AAF, affichaient des réponses plus faibles chez les souris mères que chez les souris naïves (en particulier les neurones affichant une fréquence préférée inférieure à 40 kHz). Cette diminution des réponses pourrait s'expliquer sur la base de l'hypothèse décrite par Galindo-Leon et al. (2009) selon laquelle la plasticité liée à la maternité induirait des réponses inhibitrices pour les neurones corticaux ayant des fréquences éloignées de la gamme USV des vocalisations de nouveau-nés. A l'inverse, les travaux de Marlin et al. (2015) a été la seule étude rapportant une forte augmentation des réponses évoquées et de la reproductibilité temporelle d'un essai à l'autre chez les mères par rapport aux vierges. Plus récemment, Tasaka et al. (2018) ont également trouvé une augmentation transitoire du taux de décharge mais pour les neurones spécifiquement activés par les USV de nouveau-nés lors d'une préexposition effectuée 5 à 6 jours auparavant. D'autre part, ils ont proposé que les neurones de AI jouent principalement un rôle dans la détection des cris de nouveau-nés sans participer à leur discrimination fine, une fonction qui peut se produire dans les régions cérébrales supérieures.

### **Mécanismes potentiels aux effets observés chez la souris KO TPC**

Chez nos souris KO TPC nous avons observé, lors du passage de vierge à mère, une augmentation du taux de décharge évoqué et spontané des neurones et une baisse de l'information mutuelle/potentiels d'actions, qui sont des résultats opposés à ceux observés lors du passage des souris vierges à des souris mère WT. Il est possible que l'absence du canal TPC modifie en partie les propriétés physiologiques de la cellule (ce canal a pour rôle de réguler la concentration intracellulaire de  $Ca^{2+}$ ), ce qui se traduirait au niveau cortical par un taux de décharge diminué chez les vierges mais augmenté chez les mères par rapport aux WT en réponse aux stimuli auditifs.

Des données non publiées de notre équipe (Martucci et al., soumis) indiquent que le canal TPC joue un rôle dans la libération calcium dépendante des vésicules de neurohormones et de neuropeptides, dont l'OT et la VP au niveau de l'hypothalamus. Il est donc possible que les différences de réponses corticales soient dues à une absence de neuromodulation par l'OT

(ou la VP) au niveau cortical. L'étude de Marlin et collègues (2015) émet l'idée que l'OT augmenterait la balance excitation-inhibition des neurones du cortex auditif en réponse aux vocalisations de nouveau-nés (en désinhibant les neurones corticaux) à la suite d'un « pairing » (administration d'OT et présentation de vocalisations de nouveau-nés de façon simultanée). Cette hypothèse n'est pas compatible avec nos données puisque sur nos souris KO TPC le traitement à l'OT a augmenté les réponses évoquées corticales.

Enfin, il a été montré que l'OT pouvait moduler la libération de monoamines (Karpova et al., 2016). L'absence d'OT chez nos souris KO TPC pourrait donc modifier l'effet neuromodulateur des monoamines sur le cortex auditif. L'hypothèse d'une neuromodulation modifiée a déjà été abordée lorsque nous avons discuté des altérations du traitement cortical des souris KO TPC vierges par rapport au souris WT vierges (Royer et al., soumis). Elle pourrait donc s'accroître lors du passage de vierges à mères chez les souris KO TPC. Par exemple, il a été démontré que la noradrénaline diminue l'activité spontanée et évoquée en agissant sur les récepteurs alpha1 (Manunta & Edeline, 1997 ; Gaucher & Edeline, 2015). De plus, les protocoles de pairing associant l'application de NA ou la stimulation du locus coeruleus et un stimulus auditif ont permis d'induire des diminutions des réponses évoquées spécifiques à ce stimulus (Manunta & Edeline, 2004 ; Edeline et al., 2011). Enfin, l'étude de Shepard et al. (2015b) a montré que la Norépinéphrine (NE) était nécessaire pour la plasticité développementale de la carte corticale auditive survenant pendant la période critique lors de l'exposition à un milieu anormal, grâce à l'utilisation de souris  $Dbh^{-/-}$  (Récepteurs à la NE absents) exposées ou non à un milieu sonore anormal pendant la période critique (P12–P15 pour la C57BL/6 (Barkat et al., 2011)). Ainsi, NE pourrait aussi être nécessaire à phénomène de plasticité survenant chez les souris femelles lors de la période post-partum. En effet, lors de cette période, les mères sont exposées aux vocalisations de nouveau-nés (jusqu'à leur sevrage) et à des augmentations de concentration en neurohormones et neuromodulateurs. L'absence de NE pourrait empêcher l'apparition de cette plasticité.

### **Effets comportementaux de l'administration d'OT chez les souris**

Il est surprenant de voir que nous avons des effets de l'OT significatifs au niveau du tronc cérébral (latence des ondes diminuée) et au niveau cortical (taux de décharge diminué et MI/PA augmenté) chez des souris KO TPC administrée chroniquement, alors que l'effet au niveau comportemental est peu ou pas visible : Nous n'observons pas d'effets sur la réussite au test de comportement maternel avec l'administration d'OT à cette dose pendant 8 jours, seulement une tendance à une plus grande rapidité à ramener les premiers nouveau-nés au nid. Notons toutefois que la dose de 8UI est une valeur plutôt haute par rapport à celles utilisées dans d'autres études (entre 0.008 et 8UI administré chez le campagnol des prairies : Bales et al., 2013 ; Guoynes et al., 2017).

Cependant une étude (Bales et al., 2014) ayant réalisée des tests de comportement sociaux (mais pas de comportement maternel) sur un modèle souris d'autisme après administration d'OT pendant 30 jours avec une dose a observé des effets comportementaux dans ces conditions. Il est donc possible que l'OT administré de façon chronique ait des effets

sur la rapidité à ramener les nouveau-nés au nid mais n'ai pas suffisamment d'effet pour améliorer le taux de réussite au test de comportement. D'ailleurs, une étude a montré que des souris mutantes pour le récepteur à l'OT ( $Oxtr^{-/-}$ ) n'avaient pas de déficit dans le retour des nouveau-nés au nid mais uniquement une augmentation de la latence à ramener ses nouveau-nés au nid et moins de temps passé dans le nid à les lécher (Takayanagi et al., 2005). Une autre étude (McBeth et al., 2010) n'a révélé aucune différence de latence à ramener le premier nouveau-né ou de réussite au test de comportement maternel entre des souris KO conditionnelles pour le récepteur à l'OT ( $Oxtr^{FB/FB}$ ) et des souris normales ( $Oxtr^{+/+}$ ). Le test a été réalisé seulement pendant les trois premiers jours post-partum. De ce fait, notre absence d'effet comportemental du traitement chronique à l'OT n'est pas forcément en désaccord avec la littérature.

Enfin, si un grand nombre de travaux étudient le lien entre l'OT et le comportement social, fort peu se posent la question de savoir qu'elles sont les structures du SNC où l'action de l'OT permettrait d'expliquer un effet comportemental. Deux autres études, en plus de Marlin et al. 2015 sur le rôle de l'OT au niveau du cortex auditif, abordent cependant cette question. En 2016, Oetli et ses collègues ont montré que la libération endogène d'OT (par optogénétique) par les neurones du PVN augmentait l'exploration olfactive puis la reconnaissance de deux rats de même sexe, ainsi que le taux de décharge des neurones du noyau antérieur olfactif (AON) qui projettent vers les cellules inhibitrices granulaires du bulbe olfactif (Oetli et al., 2016). De plus, le taux de décharge des neurones AON a aussi été augmenté lorsqu'ils ont appliqué un agoniste des récepteurs à l'OT (TGOT) avec une augmentation du rapport signal sur bruit des cellules granulaires, ce qui suggère que les OTRs agissent sur les neurones AON pour moduler finement les informations olfactives nouvelles impliquées dans la mémoire sociale. Plus récemment, Tan et collègues en 2019 ont montré qu'une population mixte d'interneurones GABAergiques (32,6%) et de neurones pyramidaux glutamatergiques (46,5%) exprimant le récepteur à l'OT (OXTR) dans le cortex préfrontal (PFC), avaient un taux de décharge plus élevé lors de l'application d'ocytocine. Des expériences en optogénétiques réalisées *in vivo* ont montré que la dépolarisation sélective des neurones du PFC connectés aux noyaux de l'amygdale (BLA) et sensibles à l'OT diminuait la préférence pour la nouveauté sociale (sans affecter le comportement social), la préférence pour les nouveaux objets, et le comportement anxieux (Tan et al., 2019). Cette étude a permis de révéler une nouvelle population distincte de neurones dans le PFC qui sont sensibles à l'OT et envoient des projections glutamatergiques directes aux noyaux de l'amygdale, pour mettre en jeu le système cortico-limbique.

Ces deux dernières études montrent donc que l'action de l'OT peut se faire à plusieurs niveaux dans le SNC : son action peut se faire directement dans le système sensoriel impliqué dans la tâche comportementale demandée à l'animal mais aussi dans des structures plus intégrées comme le cortex préfrontal ou l'amygdale.

## Références

- Anderson, L.A., Christianson, G.B., Linden, J.F., 2009. Mouse auditory cortex differs from visual and somatosensory cortices in the laminar distribution of cytochrome oxidase and acetylcholinesterase. *Brain Res.* 1252, 130–142. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.11.037>
- Aushana, Y., Souffi, S., Edeline, J.-M., Lorenzi, C., Huetz, C., 2018. Robust Neuronal Discrimination in Primary Auditory Cortex Despite Degradations of Spectro-temporal Acoustic Details: Comparison Between Guinea Pigs with Normal Hearing and Mild Age-Related Hearing Loss. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.* 19, 163–180. <https://doi.org/10.1007/s10162-017-0649-1>
- Bales, K.L., Perkeybile, A.M., Conley, O.G., Lee, M.H., Guoynes, C.D., Downing, G.M., Yun, C.R., Solomon, M., Jacob, S., Mendoza, S.P., 2013. Chronic intranasal oxytocin causes long-term impairments in partner preference formation in male prairie voles. *Biol Psychiatry* 74, 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.08.025>
- Bales, K.L., Solomon, M., Jacob, S., Crawley, J.N., Silverman, J.L., Larke, R.H., Sahagun, E., Puhger, K.R., Pride, M.C., Mendoza, S.P., 2014. Long-term exposure to intranasal oxytocin in a mouse autism model. *Transl Psychiatry* 4, e480. <https://doi.org/10.1038/tp.2014.117>
- Barkat, T.R., Polley, D.B., Hensch, T.K., 2011. A critical period for auditory thalamocortical connectivity. *Nat Neurosci* 14, 1189–1194. <https://doi.org/10.1038/nn.2882>
- Cang, C., Zhou, Y., Navarro, B., Seo, Y.-J., Aranda, K., Shi, L., Battaglia-Hsu, S., Nissim, I., Clapham, D.E., Ren, D., 2013. mTOR regulates lysosomal ATP-sensitive two-pore Na(+) channels to adapt to metabolic state. *Cell* 152, 778–790. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.01.023>
- Chen, Q., Deister, C.A., Gao, X., Guo, B., Lynn-Jones, T., Chen, N., Wells, M.F., Liu, R., Goard, M.J., Dimidschstein, J., Feng, S., Shi, Y., Liao, W., Lu, Z., Fishell, G., Moore, C.I., Feng, G., 2020. Dysfunction of cortical GABAergic neurons leads to sensory hyper-reactivity in a Shank3 mouse model of ASD. *Nat Neurosci* 23, 520–532. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-0598-6>
- Chilian, B., Abdollahpour, H., Bierhals, T., Haltrich, I., Fekete, G., Nagel, I., Rosenberger, G., Kutsche, K., 2013. Dysfunction of SHANK2 and CHRNA7 in a patient with intellectual disability and language impairment supports genetic epistasis of the two loci. *Clin Genet* 84, 560–565. <https://doi.org/10.1111/cge.12105>
- Cohen, L., Mizrahi, A., 2015. Plasticity during motherhood: changes in excitatory and inhibitory layer 2/3 neurons in auditory cortex. *J. Neurosci.* 35, 1806–1815. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1786-14.2015>
- Dunlap, A.G., Besosa, C., Pascual, L.M., Chong, K.K., Walum, H., Kacsoh, D.B., Tankeu, B.B., Lu, K., Liu, R.C., 2020. Becoming a better parent: Mice learn sounds that improve a stereotyped maternal behavior. *Horm Behav* 124, 104779. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2020.104779>
- Edeline, J.-M., 2011. Physiological properties of neurons in the medial geniculate body., in: *The Auditory Cortex* (Eds. Winer, J. A. and Schreiner, C. E.). Springer, New York, pp. 251–274.
- Eggermont, J.J., 2011. Context dependence of spectro-temporal receptive fields with implications for neural coding. *Hear Res* 271, 123–132. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2010.01.014>
- Ehret, G., 2006. Common rules of communication sound perception. *Behavior and Neurodynamics for Auditory Communication* 85–114.
- Ehret, G., 1992. Categorical perception of mouse-pup ultrasounds in the temporal domain. *Animal Behaviour* 43, 409–416. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(05\)80101-0](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(05)80101-0)
- Ehret, G., Haack, B., 1982. Ultrasound recognition in house mice: Key-Stimulus configuration and recognition mechanism. *J. Comp. Physiol.* 148, 245–251. <https://doi.org/10.1007/BF00619131>
- Ehret, G., Haack, B., 1981. Categorical perception of mouse pup ultrasound by lactating females. *Naturwissenschaften* 68, 208–209. <https://doi.org/10.1007/BF01047208>
- Ehret, G., Koch, M., Haack, B., Markl, H., 1987. Sex and parental experience determine the onset of an instinctive behavior in mice. *Naturwissenschaften* 74, 47. <https://doi.org/10.1007/BF00367047>
- Fritz, J.B., Elhilali, M., David, S.V., Shamma, S.A., 2007. Does attention play a role in dynamic receptive field adaptation to changing acoustic salience in A1? *Hear Res* 229, 186–203. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2007.01.009>

- Frome, R.C., Martins, A.R.O., 2011. Spectrotemporal dynamics of auditory cortical synaptic receptive field plasticity. *Hear Res* 279, 149–161. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2011.03.005>
- Galindo-Leon, E.E., Lin, F.G., Liu, R.C., 2009. Inhibitory plasticity in a lateral band improves cortical detection of natural vocalizations. *Neuron* 62, 705–716. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.05.001>
- Galione, A., 2019. NAADP Receptors. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 11, a035071. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a035071>
- Gaucher, Q., Edeline, J.-M., 2015. Stimulus-specific effects of noradrenaline in auditory cortex: implications for the discrimination of communication sounds. *J. Physiol. (Lond.)* 593, 1003–1020. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.282855>
- Gaucher, Q., Huetz, C., Gourévitch, B., Edeline, J.-M., 2013. Cortical inhibition reduces information redundancy at presentation of communication sounds in the primary auditory cortex. *J Neurosci* 33, 10713–10728. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0079-13.2013>
- Geramita, M.A., Wen, J.A., Rannals, M.D., Urban, N.N., 2020. Decreased amplitude and reliability of odor-evoked responses in two mouse models of autism. *J Neurophysiol* 123, 1283–1294. <https://doi.org/10.1152/jn.00277.2019>
- Gerndt, S., Chen, C.-C., Chao, Y.-K., Yuan, Y., Burgstaller, S., Scotto Rosato, A., Krogsaeter, E., Urban, N., Jacob, K., Nguyen, O.N.P., Miller, M.T., Keller, M., Vollmar, A.M., Gudermann, T., Zierler, S., Schredelseker, J., Schaefer, M., Biel, M., Malli, R., Wahl-Schott, C., Bracher, F., Patel, S., Grimm, C., 2020. Agonist-mediated switching of ion selectivity in TPC2 differentially promotes lysosomal function. *Elife* 9, e54712. <https://doi.org/10.7554/eLife.54712>
- Guoynes, C.D., Simmons, T.C., Downing, G.M., Jacob, S., Solomon, M., Bales, K.L., 2018. Chronic Intranasal Oxytocin has Dose-dependent Effects on Central Oxytocin and Vasopressin Systems in Prairie Voles (*Microtus ochrogaster*). *Neuroscience* 369, 292–302. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.11.037>
- Haack, B., Markl, H., Ehret, G., 1983. Sound communication between parents and offspring. In: Willott, J.F. (Ed.). *The Auditory Psychobiology of the Mouse*. Charles C. Thomas, Springfield, IL, 57–97.
- Joachimsthaler, B., Uhlmann, M., Miller, F., Ehret, G., Kurt, S., 2014. Quantitative analysis of neuronal response properties in primary and higher-order auditory cortical fields of awake house mice (*Mus musculus*). *Eur J Neurosci* 39, 904–918. <https://doi.org/10.1111/ejn.12478>
- Karpova, I.V., Mikheev, V.V., Marysheva, V.V., Bychkov, E.R., Proshin, S.N., 2016. Oxytocin-Induced Changes in Monoamine Level in Symmetric Brain Structures of Isolated Aggressive C57Bl/6 Mice. *Bull Exp Biol Med* 160, 605–609. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3228-2>
- Khan, S.Y., Riazuddin, Saima, Tariq, M., Anwar, S., Shabbir, M.I., Riazuddin, S.A., Khan, S.N., Husnain, T., Ahmed, Z.M., Friedman, T.B., Riazuddin, Sheikh, 2007. Autosomal recessive nonsyndromic deafness locus DFNB63 at chromosome 11q13.2-q13.3. *Hum Genet* 120, 789–793. <https://doi.org/10.1007/s00439-006-0275-1>
- Liu, R.C., Linden, J.F., Schreiner, C.E., 2006. Improved cortical entrainment to infant communication calls in mothers compared with virgin mice. *Eur J Neurosci* 23, 3087–3097. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04840.x>
- Liu, R.C., Miller, K.D., Merzenich, M.M., Schreiner, C.E., 2003. Acoustic variability and distinguishability among mouse ultrasound vocalizations. *J Acoust Soc Am* 114, 3412–3422. <https://doi.org/10.1121/1.1623787>
- Liu, R.C., Schreiner, C.E., 2007. Auditory cortical detection and discrimination correlates with communicative significance. *PLoS Biol.* 5, e173. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050173>
- Macbeth, A.H., Stepp, J.E., Lee, H.-J., Young, W.S., Caldwell, H.K., 2010. Normal maternal behavior, but increased pup mortality, in conditional oxytocin receptor knockout females. *Behav Neurosci* 124, 677–685. <https://doi.org/10.1037/a0020799>
- Manunta, Y., Edeline, J.-M., 2004. Noradrenergic induction of selective plasticity in the frequency tuning of auditory cortex neurons. *J Neurophysiol* 92, 1445–1463. <https://doi.org/10.1152/jn.00079.2004>
- Manunta, Y., Edeline, J.M., 1997. Effects of noradrenaline on frequency tuning of rat auditory cortex neurons. *Eur. J. Neurosci.* 9, 833–847. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1997.tb01433.x>

- Marlin, B.J., Mitre, M., D'amour, J.A., Chao, M.V., Froemke, R.C., 2015. Oxytocin enables maternal behaviour by balancing cortical inhibition. *Nature* 520, 499–504. <https://doi.org/10.1038/nature14402>
- Martucci, L.L., Amar, M., Chausseot, R., Benet, G., Bauer, O., de Zélicourt, A., Nosjean, A., Launay, J.-M., Callebert, J., Sebríe, C., Galione, A., Edeline, J.-M., de la Porte, S., Fossier, P., Granon, S., Vaillend, C., Cancela, J.-M., 2019. A multiscale analysis in CD38<sup>-/-</sup> mice unveils major prefrontal cortex dysfunctions. *FASEB J* 33, 5823–5835. <https://doi.org/10.1096/fj.201800489R>
- Mei, Y., Monteiro, P., Zhou, Y., Kim, J.-A., Gao, X., Fu, Z., Feng, G., 2016. Adult restoration of Shank3 expression rescues selective autistic-like phenotypes. *Nature* 530, 481–484. <https://doi.org/10.1038/nature16971>
- Nguyen, R.L., Medvedeva, Y.V., Ayyagari, T.E., Schmunk, G., Gargus, J.J., 2018. Intracellular calcium dysregulation in autism spectrum disorder: An analysis of converging organelle signaling pathways. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 1865, 1718–1732. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.08.003>
- Noirot, E., 1966. Ultra-sounds in young rodents. I. Changes with age in albino mice. *Anim Behav* 14, 459–462. [https://doi.org/10.1016/s0003-3472\(66\)80045-3](https://doi.org/10.1016/s0003-3472(66)80045-3)
- Oettl, L.-L., Ravi, N., Schneider, M., Scheller, M.F., Schneider, P., Mitre, M., da Silva Gouveia, M., Froemke, R.C., Chao, M.V., Young, W.S., Meyer-Lindenberg, A., Grinevich, V., Shusterman, R., Kelsch, W., 2016. Oxytocin Enhances Social Recognition by Modulating Cortical Control of Early Olfactory Processing. *Neuron* 90, 609–621. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.03.033>
- Rothschild, G., Cohen, L., Mizrahi, A., Nelken, I., 2013. Elevated correlations in neuronal ensembles of mouse auditory cortex following parturition. *J. Neurosci.* 33, 12851–12861. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4656-12.2013>
- Royer, J., Huetz, C., Occelli, F., Cancela, J.-M., Edeline, J.-M., 2021. Enhanced Discriminative Abilities of Auditory Cortex Neurons for Pup Calls Despite Reduced Evoked Responses in C57BL/6 Mother Mice. *Neuroscience* 453, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.11.031>
- Schnupp, J.W.H., Hall, T.M., Kokelaar, R.F., Ahmed, B., 2006. Plasticity of temporal pattern codes for vocalization stimuli in primary auditory cortex. *J. Neurosci.* 26, 4785–4795. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4330-05.2006>
- Scott, K.E., Kazazian, K., Mann, R.S., Möhrle, D., Schormans, A.L., Schmid, S., Allman, B.L., 2020. Loss of Cntnap2 in the Rat Causes Autism-Related Alterations in Social Interactions, Stereotypic Behavior, and Sensory Processing. *Autism Res* 13, 1698–1717. <https://doi.org/10.1002/aur.2364>
- Scott, K.E., Schormans, A.L., Pacoli, K.Y., De Oliveira, C., Allman, B.L., Schmid, S., 2018. Altered Auditory Processing, Filtering, and Reactivity in the Cntnap2 Knock-Out Rat Model for Neurodevelopmental Disorders. *J Neurosci* 38, 8588–8604. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0759-18.2018>
- Sewell, G.D., 1970. Ultrasonic communication in rodents. *Nature* 227, 410. <https://doi.org/10.1038/227410a0>
- Sewell, G.D., 1968. Ultrasound in Rodents. *Nature* 217, 682–683. <https://doi.org/10.1038/217682a0>
- Shannon, C.E., 1948. A Mathematical Theory of Communication. *Bell System Technical Journal* 27, 379–423. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
- Shepard, K.N., Chong, K.K., Liu, R.C., 2016. Contrast Enhancement without Transient Map Expansion for Species-Specific Vocalizations in Core Auditory Cortex during Learning. *eNeuro* 3. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0318-16.2016>
- Shepard, K.N., Liles, L.C., Weinshenker, D., Liu, R.C., 2015a. Norepinephrine is necessary for experience-dependent plasticity in the developing mouse auditory cortex. *J Neurosci* 35, 2432–2437. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0532-14.2015>
- Shepard, K.N., Lin, F.G., Zhao, C.L., Chong, K.K., Liu, R.C., 2015b. Behavioral relevance helps untangle natural vocal categories in a specific subset of core auditory cortical pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 35, 2636–2645. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3803-14.2015>
- Shink, E., Morissette, J., Sherrington, R., Barden, N., 2005. A genome-wide scan points to a susceptibility locus for bipolar disorder on chromosome 12. *Mol Psychiatry* 10, 545–552. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001601>
- Souffi, S., Lorenzi, C., Varnet, L., Huetz, C., Edeline, J.-M., 2020. Noise-sensitive but more precise subcortical representations co-exist with robust cortical encoding of natural vocalizations. *J. Neurosci.* <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2731-19.2020>

- Takayanagi, Y., Yoshida, M., Bielsky, I.F., Ross, H.E., Kawamata, M., Onaka, T., Yanagisawa, T., Kimura, T., Matzuk, M.M., Young, L.J., Nishimori, K., 2005. Pervasive social deficits, but normal parturition, in oxytocin receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 16096–16101. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505312102>
- Tan, Y., Singhal, S.M., Harden, S.W., Cahill, K.M., Nguyen, D.-T.M., Colon-Perez, L.M., Sahagian, T.J., Thinschmidt, J.S., de Kloet, A.D., Febo, M., Frazier, C.J., Krause, E.G., 2019. Oxytocin Receptors Are Expressed by Glutamatergic Prefrontal Cortical Neurons That Selectively Modulate Social Recognition. *J Neurosci* 39, 3249–3263. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2944-18.2019>
- Tasaka, G.-I., Guenther, C.J., Shalev, A., Gilday, O., Luo, L., Mizrahi, A., 2018. Genetic tagging of active neurons in auditory cortex reveals maternal plasticity of coding ultrasonic vocalizations. *Nat Commun* 9, 871. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03183-2>
- Thye, M.D., Bednarz, H.M., Herringshaw, A.J., Sartin, E.B., Kana, R.K., 2018. The impact of atypical sensory processing on social impairments in autism spectrum disorder. *Dev Cogn Neurosci* 29, 151–167. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2017.04.010>
- Wang, X., Zhang, X., Dong, X.-P., Samie, M., Li, X., Cheng, X., Goschka, A., Shen, D., Zhou, Y., Harlow, J., Zhu, M.X., Clapham, D.E., Ren, D., Xu, H., 2012. TPC proteins are phosphoinositide- activated sodium-selective ion channels in endosomes and lysosomes. *Cell* 151, 372–383. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.08.036>
- Zheng, Q.Y., Johnson, K.R., Erway, L.C., 1999. Assessment of hearing in 80 inbred strains of mice by ABR threshold analyses. *Hear. Res.* 130, 94–107. [https://doi.org/10.1016/s0378-5955\(99\)00003-9](https://doi.org/10.1016/s0378-5955(99)00003-9)

## **Discussion générale**



Au cours de cette discussion générale, après un rappel des résultats majeurs détaillés dans les 3 articles, j'aborderai successivement la question sur les paramètres à utiliser pour analyser au mieux la capacité des neurones corticaux à traiter des sons de communication acoustiques, puis je tenterai de répondre à la question sur les liens possibles entre les résultats comportementaux observés et les résultats enregistrés dans le cortex auditif en électrophysiologie. Je parlerai ensuite de ce que nos analyses ont permis de mettre en lumière sur le rôle du canal TPC dans le traitement des signaux de communication, et enfin, je traiterai la question sur la possibilité que la souris TPC puisse être un nouveau modèle d'autisme dans la recherche.

## **I. Synthèse des résultats**

Pour synthétiser mes principaux résultats, il est utile de comparer deux à deux les différents groupes qui correspondent à des situations physiologiques différentes.

### a. Chez les souris vierges KO TPC (par rapport aux vierges WT)

En imagerie calcique biphotonique nous avons remarqué que les neurones corticaux des souris KO TPC étaient moins sélectifs pour les vocalisations de souris (répondent à plus de vocalisations de souris) et avaient tendance à répondre à plus de catégories de stimuli (sons purs et vocalisations) par rapport aux WT.

En électrophysiologie, nous avons observé que les neurones corticaux des souris KO TPC ont une reproductibilité temporelle moins bonne aux sons de communication et montrent des réponses moins fortes aux vocalisations de souris que les neurones des souris WT.

Les données électrophysiologiques et d'imagerie calcique ont montré que les neurones des souris KO TPC ont un « rapport signal sur bruit » (SNR, défini comme étant la réponse évoquée moyenne divisée par la SD) plus faible et une discrimination neuronale (MI) plus faible entre les vocalisations de souris nouveau-nés par rapport aux neurones WT.

### b. Chez les souris mères WT (par rapport aux vierges WT)

Chez les souris mères WT, nous avons observé que le taux de décharge évoqué en réponse aux sons purs était diminué et des champs récepteurs plus étroits par rapport aux souris vierges WT.

Nous avons détecté des réponses aux vocalisations de nouveau-nés et d'adultes également diminués chez les mères WT. Pourtant, la valeur d'information mutuelle par potentiels d'action (MI/Spike) calculée sur les vocalisations de souris nouveau-nés est augmentée par rapport aux vierges, ce qui indique que chaque PA émis porte un peu plus d'information sur l'identité des vocalisations. De plus, la latence de réponse aux vocalisations de nouveau-nés et des adultes était significativement plus courte.

Malgré une diminution similaire du taux de décharge des réponses aux vocalisations de cobayes, la latence de réponse et la MI/Spike ne différaient pas entre les vierges et les mères pour ces vocalisations hétérosécifiques, indiquant un traitement différent des vocalisations consécifiques et hétérosécifiques.

Enfin, nous avons remarqué que les valeurs de « noise correlations » (NC) enregistrés chez les souris mères WT étaient diminués par rapport aux vierges, suggérant une émission de PA des neurones distants plus indépendants les uns des autres chez les souris mères WT par rapport aux vierges WT.

#### c. Chez les souris mères KO TPC (par rapport aux mères WT)

Nos résultats ont montré que les réponses corticales aux vocalisations de souris augmentaient lors du passage de vierge à mère chez les souris KO TPC alors qu'elles diminuaient chez les WT. Cela a conduit à une diminution de la valeur moyenne d'information mutuelle par potentiels d'action (MI/Spike) chez les mères KO TPC alors que celle des souris mères WT augmente par rapport aux vierges.

#### d. L'administration d'OT chez les souris mères KO TPC

Même s'il n'y a pas eu d'amélioration de performance au test de comportement maternel, l'administration d'OT semblait augmenter la rapidité des souris mères à ramener leurs premiers petits au nid.

De plus, nous avons observé que le traitement à l'OT a permis de diminuer les réponses évoquées aux sons purs et aux sons de communication acoustique, et d'augmenter la valeur de MI par potentiels d'action chez les souris mères KO traitées à l'OT par rapport à celles traitées au sérum physiologique.

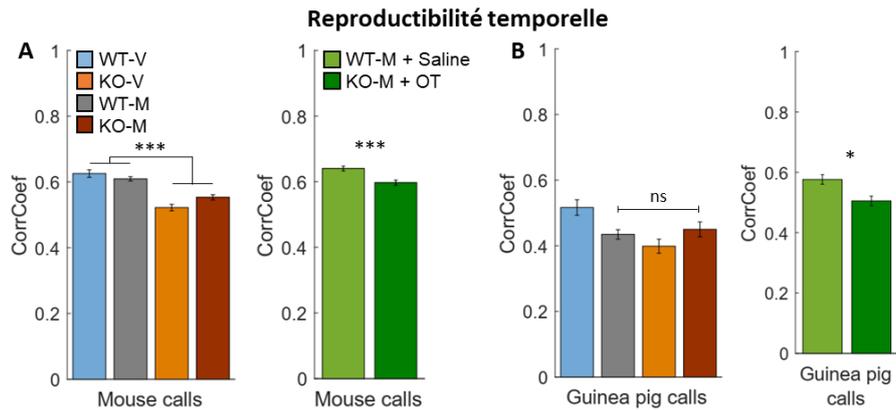
En conclusion, il y a bien eu des modifications du traitement des signaux de communication, et plus particulièrement des vocalisations de souris, chez les souris KO TPC lors du passage vierge à mère. Cependant, il faut distinguer des changements qui étaient déjà présents chez les souris WT de ceux qui diffèrent par rapport aux WT. La diminution de la latence des réponses aux sons purs au niveau du tronc cérébral et des réponses aux vocalisations de souris au niveau cortical avait déjà été observée chez les souris mères WT. Par contre, l'augmentation du taux de décharge des neurones et de l'information mutuelle par potentiels d'action qui diminue sont deux effets présents seulement chez les souris mères KO TPC. Notons que la variabilité des réponses plus importante, la moindre sélectivité des neurones et la moindre reproductibilité temporelle des réponses aux vocalisations de souris existait déjà chez les souris KO TPC vierges par rapport aux WT vierges.

## II. Quels paramètres utiliser pour déterminer et connaître la capacité des neurones corticaux à traiter des sons de communication acoustiques ?

Traditionnellement, la physiologie sensorielle a utilisé le taux de décharge pour quantifier la sélectivité des réponses évoquées des neurones aux différents paramètres des stimuli auditifs (la fréquence ou l'intensité d'un son pur, la fréquence de la modulation en amplitude ou en fréquence d'un son complexe). Même si le taux de décharge reste un indice très utilisé pour quantifier les réponses évoquées, y compris à des stimuli naturels (Wang et al., 1995 ; Grimsley et al., 2012), d'autres paramètres ont aussi été développés pour comprendre à quel point les réponses neuronales participaient à un code neuronal des stimuli de l'environnement, qui prennent en compte d'autres indices que le nombre de PA émis par les neurones.

### a. La reproductibilité temporelle des réponses (CorrCoef) :

Les neurones peuvent transmettre des informations sur les stimuli auditifs via leur taux de décharge, la latence du premier potentiel d'action (PA) ou via des motifs temporels. Il a été montré que des trains de potentiels d'action émis en réponse à un stimulus sont reproductibles d'une présentation à l'autre dans le système auditif (revue de Huetz et al., 2011 ; Gaucher et al., 2013b). Les motifs temporels observés dans les réponses neuronales à des stimuli naturels seraient propres à chaque stimulus, et donc susceptibles d'être le support d'un codage de l'identité des stimuli, même s'il est vrai que ces motifs temporels sont dépendants des paramètres acoustiques comme la modulation d'amplitude ou de fréquence, le front de montée, etc... Cette reproductibilité de l'émissions des PAs à chaque essai de présentation du stimulus peut être quantifié par des indices qui mesurent la précision avec laquelle un neurone émet un ou plusieurs PA exactement au même moment pour chaque essai. Dans notre équipe, nous utilisons le coefficient de reproductibilité temporelle (CorrCoef) car il a été montré par des simulations qu'il était indépendant du taux de décharge des neurones (Gaucher et al., 2013a) contrairement au  $R_{corr}$  que nous avons utilisé dans des études précédentes (Huetz et al., 2006, 2009). Ce CorrCoef a été utilisé dans notre article « *Altered cortical discrimination between communication sounds in a mouse lacking two-pore channels: a two-photon and electrophysiological study.* » pour savoir si ces neurones du cortex auditif des souris KO TPC présentaient une aussi bonne reproductibilité temporelle des réponses au vocalisations de souris ou hétérospécifiques que les neurones des souris WT.



**Figure 14 : Reproductibilité temporelle des réponses aux vocalisations de souris (A) ou de cobayes (B) mesurée selon un coefficient (CorrCoef) pour chaque groupe.**

**A** : Le CorrCoef est significativement plus bas chez les souris KO TPC (KO-V et KO-M) par rapport aux souris WT (WT-V et WT-M) en réponse aux vocalisations de souris (t-tests non appariés,  $p < 0.001$ ). De même pour les souris KO-M + OT par rapport aux souris KO-M + Saline (t-tests non appariés,  $p < 0.001$ ).  
**B** : En revanche, pour les vocalisations de cobayes, il n’y a plus de différence significative entre les souris KO TPC et les souris mères WT. La différence est toujours significative entre les souris KO-M + OT par rapport aux souris KO-M + Saline (t-tests non appariés,  $p < 0.05$ ) pour les vocalisations de cobayes.

Même si la reproductibilité temporelle est significativement plus faible chez les souris vierges KO TPC par rapport aux souris WT pour les vocalisations de souris (Royer et al., soumis), dans ce projet nous n’avons pas trouvé de différences significatives lors du passage de vierges à mères chez les souris WT comme pour les souris KO TPC. Nous avons même trouvé une plus faible reproductibilité temporelle pour les neurones des souris mères KO TPC qui ont reçu de l’OT intranasale par rapport à celles qui ont reçu du sérum physiologique (figure ci-dessus). Ces résultats semblent contredire les résultats montrant une amélioration de la reproductibilité temporelle des neurones corticaux des souris mères par rapport à des souris vierges naïves en réponses aux vocalisations de nouveau-nés (Marlin et al., 2015).

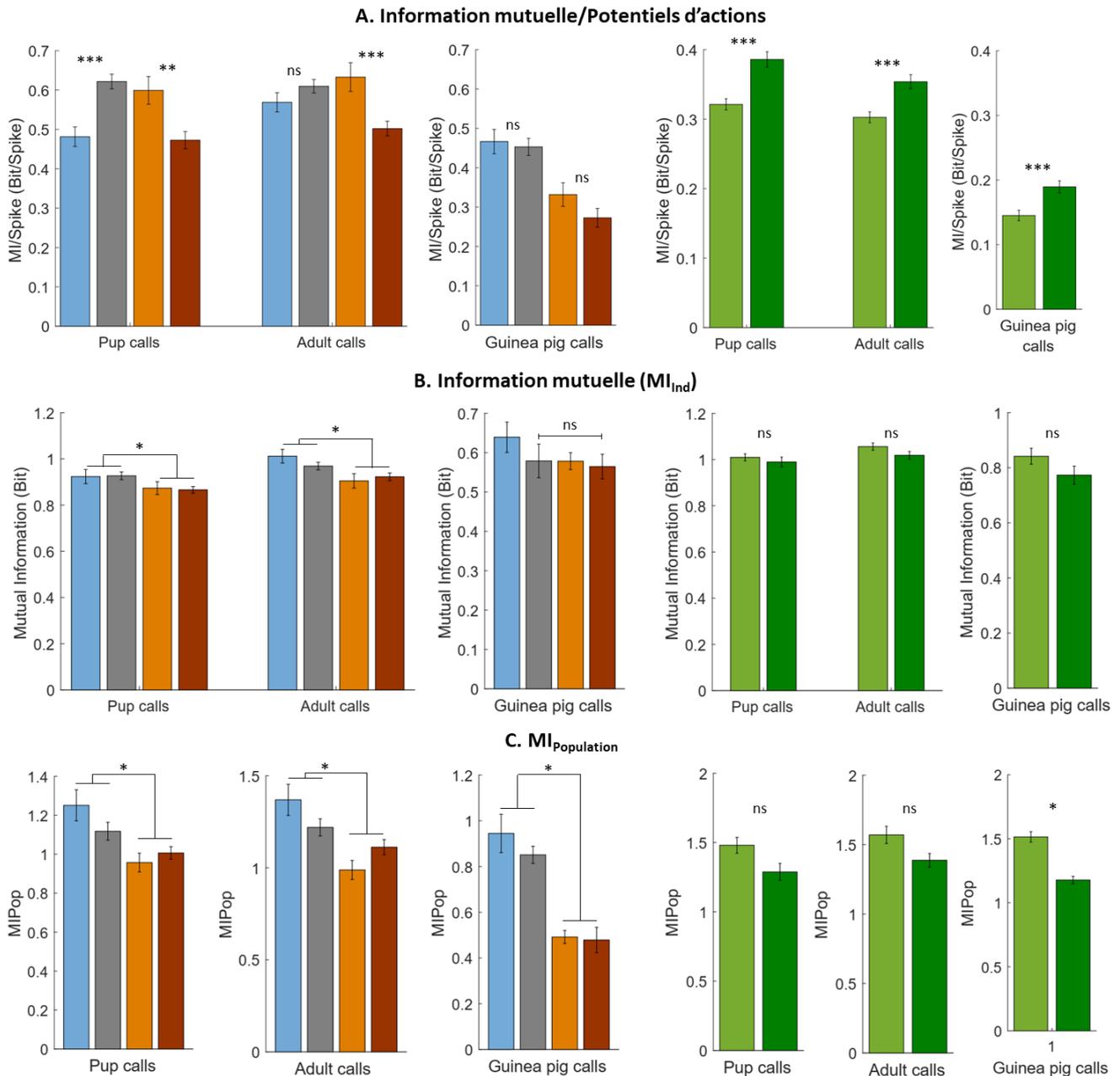
La question qui se pose est de savoir quels sont les mécanismes qui permettent une reproductibilité temporelle des décharges neuronales et comment elle peut être modulée pas des neuromodulateurs et/ou des situations physiologiques. Il semble que les situations de diminutions de réponses évoquées favorisent les augmentations de reproductibilité temporelle. Par exemple, dans le cortex somesthésique la stimulation des afférences noradrénergiques augmente la précision temporelle des réponses (Lecas, 2004), un effet qui se retrouve dans le système auditif depuis le noyau cochléaire (Kossl & Vater, 1989) jusqu’au cortex auditif (Manunta & Edeline 1997, Edeline, 2012).

### b. L'information mutuelle (MI) :

On peut supposer que les traitements opérant dans les systèmes sensoriels ont pour but de permettre une discrimination des stimuli environnementaux. De ce fait, quantifier les capacités de codage des neurones corticaux est devenu un enjeu fondamental en physiologie sensorielle. Il existe de nombreuses méthodes permettant de quantifier l'information portée par les neurones sur l'identité des différentes vocalisations (Borst & Theunissen, 1999 ; Nelken et al., 2005). Dans le cortex auditif, Nelken et collègues (2005) ont évalué différents paramètres qui peuvent être extraits des réponses neuronales (taux de décharges, latence, motifs temporels) et qui peuvent servir à discriminer les stimuli sur la base des réponses neuronales. En appliquant cette méthode, Schnupp et collègues (2006) ont quantifié la capacité des neurones du ACx à discriminer des vocalisations selon les motifs temporels présents dans les réponses évoquées. Dans ce travail, l'information Mutuelle (MI) n'est plus calculée sur la base du taux de décharge mais sur la base de motifs temporels. Cette méthode quantifie dans quelle mesure l'identité de la vocalisation peut être déduite à partir des réponses neuronales. Plus les motifs temporels de réponse diffèrent entre stimuli, plus les réponses portent de l'information, et donc plus le neurone peut discriminer les différents stimuli (Schnupp et al., 2006).

Il est aussi possible de quantifier l'information portée par une population de neurones enregistrés simultanément avec un indice qui calcule une MI de population ( $MI_{Pop}$ ). Pour cela, on concatène les histogrammes temporels post-stimulus (PSTHs) correspondant aux réponses d'enregistrements simultanés (issus d'une matrice d'électrodes) et on considère le PSTH concaténé comme une seule réponse. Cela permet, en théorie, d'augmenter l'information portée par les réponses des neurones pour discriminer des vocalisations (une valeur de MI souvent plus élevée), (par exemple ici nous avons pris 5 enregistrements simultanés). Dans notre équipe, cette méthode d'analyse appliquée à des enregistrements simultanés provenant de 5-9 électrodes différentes a révélé de meilleures capacités de discrimination des vocalisations qu'avec la  $MI_{Individuelle}$  (Aushana et al., 2018 ; Souffi et al., 2020).

Enfin, comme l'information mutuelle n'est pas basée sur le taux de décharge, mais que le taux de décharge peut aussi apporter de l'information supplémentaire sur la façon dont le stimulus est codé par le neurone, d'autres études ont travaillé sur la mesure du nombre de PA ou la latence des réponses à un stimulus, en rapportant l'information mutuelle à l'un de ces deux paramètres (Nelken et al., 2005). Une mesure souvent utilisée (Borst & Theunissen, 1999) est la MI rapportée au nombre de potentiel d'action ( $MI/Spike$ ), qui revient à mesurer la valeur d'information dans chaque potentiel d'action. Si la valeur de MI n'est pas différente entre deux situations, alors que les réponses neuronales contiennent moins de PA dans une situation que dans l'autre, alors le neurone transmet plus d'information à chaque émission de PA que dans l'autre situation. Dans notre étude nous avons comparé la  $MI_{ind}$ , la  $MI/spike$  et la  $MI_{pop}$  comme mesures de la capacité de la discrimination entre des vocalisations des neurones du cortex auditif chez les souris WT et KO TPC.



**Figure 15 : Valeurs de discriminations neuronales ( $MI/Spike$ ,  $MI_{Ind}$  et  $MI_{Pop}$ ) mesurées lors de la présentation de vocalisations de souris (nouveau-nés et mâles adultes) ou de vocalisations de cobayes pour chaque groupe.**

**A :** La  $MI/Spike$  pour les vocalisations de souris nouveau-nés (uniquement) est significativement meilleure chez les souris WT mères (WT-M) par rapport aux vierges (WT-V), alors que chez les souris KO TPC ce sont à la fois les valeurs de  $MI/Spike$  des vocalisations de souris nouveau-nés et mâles adultes qui sont significativement plus faibles chez les mères (KO-M) par rapport aux vierges (KO-V). La  $MI/Spike$  est augmentée chez les souris KO-M + OT par rapport aux KO-M + Saline.

**B et C :** LA  $MI_{Ind}$  et la  $MI_{Pop}$  est significativement moins bonne chez les souris KO TPC (KO-V et KO-M) par rapport aux souris WT (WT-V et WT-M) pour les vocalisations de souris nouveau-nés et d'adultes souris (t-tests non appariés,  $p < 0.05$ ). En revanche, il n'y a plus de différence significative entre les souris KO-M + OT par rapport aux KO-M + Saline. La moins bonne  $MI_{Pop}$  (C) entre les souris KO-TPC (KO-V et KO-M) et WT (WT-V et WT-M) existe aussi pour les vocalisations de cobayes.

### c. Pourquoi nous avons décidé de travailler sur la MI/Spike plutôt que la MI<sub>Ind</sub> ?

Même si nous avons observé une valeur plus faible d'information mutuelle (MI<sub>Ind</sub>) pour les neurones des souris KO TPC par rapport aux WT (données non publiées, figure 15) pour les vocalisations de souris, nous n'avons pas observé de différences lors du passage de vierge à mère chez les souris WT et les KO TPC, de même entre les souris mères KO TPC qui ont reçu de l'OT ou du sérum physiologique intranasal.

La valeur de MI de population (MI<sub>Pop</sub>) est certes encore meilleure chez les souris WT par rapport aux souris KO TPC, mais il n'existe toujours pas de différences lors du passage de vierge à mère. Cette analyse de la MI<sub>Pop</sub> a tout de même été utilisée dans l'article « *Altered cortical discrimination between communication sounds in a mouse lacking two-pore channels: a two-photon and electrophysiological study.* », car c'est ce calcul qui théoriquement se rapprochait le plus du classifieur utilisé pour évaluer la discrimination entre des vocalisations de souris ou de cobayes faite en imagerie calcique sur la base des réponses d'une population de neurones (en moyenne 200 neurones) pour chaque session d'enregistrement (Royer et al., soumis).

En revanche, nous avons observé des différences importantes entre les groupes pour le taux de décharge et donc sur le nombre de potentiels d'action émis en moyenne pour chaque stimulus (cf. figure 2 de l'article en préparation : *Modifications liées à la maternité dans le traitement cortical des signaux de communication : Altérations chez la souris n'exprimant pas de canal TPC et restauration partielle par un traitement chronique d'Ocytocine*). Cela nous a incité à analyser la valeur de MI/Spike pour étudier la discrimination neuronale des sons de communication lors du passage de vierges à mères chez les souris WT (Royer et al., 2021) et les souris KO TPC.

Dans notre étude, plusieurs facteurs limitent la valeur de d'information mutuelle calculée à partir des réponses aux vocalisations de souris, qui n'est pas très élevée par rapport à la valeur maximale possible si les neurones étaient capables de discriminer 18 vocalisations entre elles (Valeur maximale de la MI =  $\log_2(18) = 4,17$  Bit ; valeur moyenne de la MI calculée réelle : environ 0,9 Bit). D'une part, les vocalisations de souris présentées sont de courte durée (entre 12 et 60 ms), ce qui ne permet pas aux neurones de développer des motifs temporels de décharges suffisamment différents entre les 18 vocalisations. Les neurones corticaux pourraient être uniquement sensibles aux fronts de montée des vocalisations qui sont très rapides (la vocalisation étant déjà courte). Les neurones auraient donc une très bonne capacité de détection des vocalisations, mais une faible capacité à discriminer ces courtes vocalisations. De plus, les neurones corticaux n'émettent que 1 ou 2 potentiels d'actions à chaque essai en réponse à ces courtes vocalisations. Il y a donc peu de possibilités pour développer des motifs temporels propres à chaque vocalisation (car ces motifs possèdent peu de PA). Notre valeur de MI serait surtout liée à la latence de la réponse qui peut être différente entre les vocalisations (cf. figure 4C : Royer et al., 2021) puisque l'énergie maximale du stimulus apparaît à des moments différents d'une vocalisation à l'autre (cf. Liu & Schreiner,

2007 ; et Lin & Liu, 2010). Enfin, même en calculant la MI sur les réponses aux vocalisations hétérospécifiques de cobayes qui durent environ 300ms, les valeurs de MI restent faibles. Cela pourrait s'expliquer également par le fait que nous avons enregistré des neurones corticaux dont les fréquences préférées (BF) sont sur 2 octaves (entre 4 et 16 kHz, résultats non publiés). La diversité des réponses est très limitée par rapport au cortex auditif d'autres souches de souris (par exemple chez la souris CBA/CaJ les BFs sont entre 4 et 64 kHz) ou d'autres espèces où les fréquences préférées sont sur plus d'octaves (par exemple chez le cobaye les BFs sont entre 0.25 et 36 kHz).

#### d. Calcul du score de discrimination en imagerie calcique :

En imagerie calcique, nous avons calculé la capacité de discrimination des vocalisations sur une population de neurones (en moyenne 200 neurones par séance d'enregistrement) en utilisant un classificateur centroïde entraîné à discriminer des vecteurs d'activité de cette population de neurones. Lorsque le classificateur est testé sur des vecteurs encore jamais présentés, un score de discrimination (pouvant aller de 0 à 100% de réussite) est obtenu pour cette population de neurones. Avec cette technique, nous arrivons à des scores élevés de classification correcte entre les vocalisations (entre 80 et 100% de réussite, cf. figure 1E : Royer et al., soumis). Cela peut être dû à plusieurs facteurs. D'abord, nous avons travaillé en imagerie calcique sur des souris éveillées alors que nous avons travaillé en électrophysiologie sur des souris anesthésiées, ce qui pourrait conduire à des valeurs plus élevées de MI en imagerie calcique par rapport à l'électrophysiologie (mais voir Huetz et al., 2009 pour des exemples inverses). De plus, nous avons travaillé sur une population de neurones en imagerie calcique beaucoup plus importante qu'en électrophysiologie : Alors que nous avons en moyenne 200 neurones par séances d'enregistrement en imagerie calcique, nous n'avons que 5-6 enregistrements simultanés avec des réponses aux vocalisations pour calculer la  $MI_{Pop}$  en électrophysiologie (avec en plus des fréquences préférées très similaires). Il est donc fort probable d'avoir des réponses populationnelles plus différentes les unes des autres pour chaque vocalisation, lorsque la réponse populationnelle est calculée à partir de 200 neurones plutôt que sur 5-6 enregistrements.

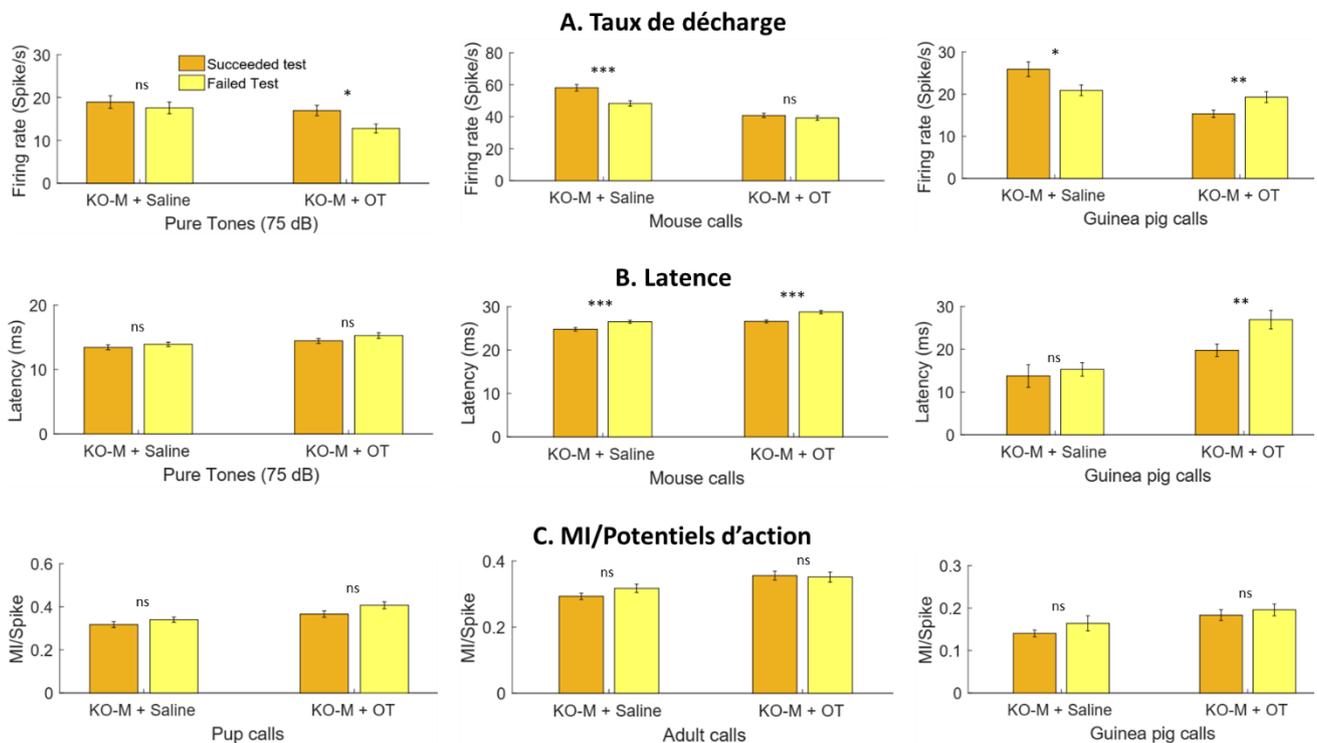
### **III. Quels liens peut-on faire entre les résultats comportementaux observés et les résultats enregistrés dans le cortex auditif en électrophysiologie ?**

Même s'il n'y a pas de différence entre les groupes de souris mères KO TPC qui ont reçu de l'OT ou du sérum physiologique en termes de taux de réussite au test de comportement maternel (cf figure 3A de l'article en préparation : *Les modifications corticales liées à la maternité dans le traitement des sons de communication sont altérées chez la souris n'exprimant pas le canal TPC mais sont partiellement restaurées par le traitement chronique d'Ocytocine*) ce test nous a permis de diviser deux groupes distincts de souris : celles qui réussissaient le test de comportement maternel (c'est-à-dire qui ramenaient tous leurs

nouveau-nés au nid au bout de 8 minutes) et celles qui ne ramenaient aucun nouveau-nés au nid au bout de 8 minutes. Et ce, à la fois chez les souris qui avaient reçu de l'OT et celles qui avaient reçu du sérum physiologique. Les enregistrements électrophysiologiques obtenus sur ces souris mères KO TPC se répartissent comme suit :

- 5 souris KO-M + Saline qui ont réussi le test
- 4 souris KO-M + Saline qui n'ont pas réussi le test
- 5 souris KO-M + OT qui ont réussi le test
- 5 souris KO-M + OT qui n'ont pas réussi le test

Nous avons donc évalué s'il existait des différences entre les réponses corticales entre les souris qui avaient réussi la tâche de comportement maternel par rapport à celles qui n'avaient pas réussi le test. La figure suivante présente les résultats séparément pour les KO-M traitées au sérum physiologique et à l'OT ayant réussi au test (Succeeded test) ou pas (Failed test).



**Figure 16 : Réponses électrophysiologiques aux sons purs, aux vocalisations de souris (nouveau-nés et mâles adultes) ou de cobayes chez les souris KO-M + Saline ou KO-M + OT ayant réussi le test de comportement maternel (Succeeded test) ou n'ayant pas réussi le test (Failed test).**

**A :** La taux de décharge moyen est augmenté chez les souris KO-M + Saline qui ont réussi le test (jaune foncé) pour les sons de communication (t-test non apparié,  $p < 0.001$  pour les vocalisations de souris et  $p < 0.01$  pour les vocalisations de cobayes). Il est aussi augmenté chez les souris KO-M + OT qui ont réussi le test (jaune foncé) pour les réponses aux sons purs, mais au contraire il est diminué pour les vocalisations de cobayes (t-test non apparié,  $p < 0.05$  pour les sons purs et  $p < 0.01$  pour les vocalisations de cobayes).

**B :** Les souris qui ont réussi le test de comportement maternel (jaune foncé) ont en moyenne une latence de réponse inférieure aux vocalisations de souris ou de cobayes (t-test non apparié,  $p < 0.001$  pour les vocalisations de souris et  $p < 0.01$  pour les vocalisations de cobayes).

**C :** La MI/Spike n'est pas différente pour les souris entre les souris qui ont réussi le test et celles qui ne l'ont pas réussi.

Les mêmes paramètres ont été quantifiés que ceux étudiés dans l'article en préparation : *Modifications liées à la maternité dans le traitement cortical des signaux de communication : Altérations chez la souris n'exprimant pas de canal TPC et restauration partielle par un traitement chronique d'Ocytocine*. Les résultats nous montrent que :

Le taux de décharge est augmenté chez les souris KO-M + Saline qui ont réussi le test (jaune foncé) pour les sons de communication (t-test non apparié,  $p < 0.001$  pour les vocalisations de souris et  $p < 0.01$  pour les vocalisations de cobayes). Il est aussi augmenté chez les souris KO-M + OT qui ont réussi le test (jaune foncé) pour les réponses aux sons purs, mais au contraire il est diminué pour les vocalisations de cobayes (t-test non apparié,  $p < 0.05$  pour les sons purs et  $p < 0.01$  pour les vocalisations de cobayes).

En termes de latence des réponses évoquées, on observe que les neurones des souris qui ont réussi le test de comportement maternel ont une latence de réponse inférieure aux vocalisations de souris ou de cobayes (t-test non apparié,  $p < 0.001$  pour les vocalisations de souris et  $p < 0.01$  pour les vocalisations de cobayes). En termes de valeurs moyennes de MI/Spike, nous ne voyons pas de différence entre les souris qui ont réussi le test et celles qui ne l'ont pas réussi.

Sur la base de ces résultats nous concluons que ni le taux de décharge ni de la MI/Spike des neurones corticaux des souris KO TPC n'est en rapport avec leur réussite au test de comportement maternel. En d'autres termes, le taux de décharge et la MI mesuré au niveau du cortex auditif n'est pas un paramètre qui indique si la souris a réussi ou pas le test comportemental. Les résultats sur la latence des réponses aux vocalisations (de souris notamment) suggèrent que les souris qui réussissent le test de comportement maternel ont en moyenne des latences de réponse plus courtes mais cela est vrai pour les souris traitées à l'OT et au sérum physiologique.

En résumé, ces résultats confirment que l'OT n'a pas permis de modifier le comportement maternel des souris KO TPC. Dans l'article en préparation (*Modifications liées à la maternité dans le traitement cortical des signaux de communication : Altérations chez la souris n'exprimant pas de canal TPC et restauration partielle par un traitement chronique d'Ocytocine*), il apparaît que les souris mères KO TPC qui ont reçu de l'OT n'ont pas un taux de réussite au test comportemental plus élevé que celles traitées au sérum physiologique, bien que le taux de décharge des neurones corticaux soit diminué et que la MI/Spike soit augmentée par rapport aux souris qui ont reçu du sérum physiologique. Potentiellement, les souris KO-M + OT qui avaient réussi le test de comportement maternel auraient dû être celles où l'effet cortical de l'administration d'OT mime le plus celui observé chez les souris WT. Or ce n'est pas le cas ni en terme de taux de décharge ni de MI/Spike. Seuls les latences plus courtes pour les neurones des souris ayant réussi le test vont dans le sens de nos hypothèses, mais comme cet effet s'observe aussi avec l'administration de sérum physiologique il n'est pas dû à l'OT.

Comme nous ne voyons pas de différences au niveau de la MI/Spike entre les souris qui ont réussi le test ou non, nous devons nous demander s'il est pertinent de comparer les résultats d'un test de comportement maternel avec l'analyse de la discrimination fine entre des vocalisations effectuées par les neurones du cortex auditif. En effet, au niveau cortical nous cherchons à évaluer si les neurones discriminent entre les vocalisations, mais le test de comportement maternel est un test de détection des cris de nouveau-nés et non un test de discrimination. La souris n'a pas besoin de discriminer les cris de nouveau-nés pour comprendre qu'il y en a en dehors du nid (et en état d'hypothermie). De ce fait, au niveau cortical, il serait peut-être plus intéressant de travailler sur des paramètres permettant de quantifier la détection par les neurones des cris de communication chez les souris mères KO TPC (et de comparer les valeurs obtenues avec celles des souris WT). Par exemple, la quantification de courbes ROC (Receiver Operating Characteristic) qui a déjà été utilisée précédemment dans notre équipe (Massaux et al., 2004), pourrait être un outil approprié pour savoir si les neurones corticaux des souris KO TPC sont moins performants que ceux des souris WT pour la détection des vocalisations de souris nouveau-nés ou d'adultes. Potentiellement, au niveau comportemental, il serait aussi intéressant de mettre au point un test de discrimination entre deux vocalisations chez les souris KO TPC (et les souris WT) pour déterminer si le déficit observé au niveau cortical sur la valeur de MI/Spike (et son amélioration grâce à l'administration d'OT) est en rapport avec un déficit comportemental. Un tel test sera peut-être difficile à mettre au point car acoustiquement les vocalisations de souris nouveau-nés utilisées sont très similaires entre elles (tout comme les vocalisations de souris mâles adultes) et nous ne sommes pas sûrs que nos souris, même WT, dont la fréquence préférée (BF) des neurones corticaux ne va pas au-delà de 24kHz (avec donc une absence de représentation des ultra-haute fréquences), puissent réussir ce test sur des USV.

#### **IV. Que nous apportent ces résultats sur le rôle du canal TPC dans le traitement des signaux de communication ?**

Le canal TPC est un canal ubiquitaire situé sur la membrane des endolysosomes (endosomes/lysosomes) des cellules, dont les neurones. Des données non publiées de notre équipe (Martucci et al., soumis) indiquent que le canal TPC jouerait un rôle crucial dans la libération  $Ca^{2+}$  dépendante des vésicules de neurohormones et de neuropeptides, dont l'OT et la vasopressine (VP) au niveau de l'hypothalamus. Des récepteurs à l'OT ont été mis en évidence au niveau des neurones du cortex auditif de souris vierges et surtout de souris mères (Mitre et al., 2016). Il est donc possible que les différences de réponses corticales chez ces souris KO TPC soient dues à une absence de neuromodulation par l'OT (ou la VP) au niveau cortical. Nos données montrent aussi que les souris KO TPC ont des taux de monoamines (DA, 5-HT et leur métabolites 5-HIAA, HVA et DOPAC) significativement plus faibles que les souris WT (Royer et al, soumis). Il serait donc pertinent de déterminer si le canal TPC joue aussi un rôle dans la libération de ces neuromodulateurs. Enfin, il faut souligner qu'il existe d'importantes projection des neurones PVN et SON de l'hypothalamus vers les structures

synthétisant les monoamines (Knobloch et al., 2012). De ce fait, l'OT pourrait moduler la libération de ces monoamines (Karpova et al., 2016) grâce aux projections hypothalamiques, en se fixant sur les neurones libérant des neuromodulateurs comme la noradrénaline (Fliers et al., 1985, 1986 ; Petersson et al., 1998), la dopamine (Xiao et al., 2017), ou la sérotonine (Yoshida et al., 2009 ; Mottolèse et al., 2014. En d'autres termes, selon cette hypothèse, les taux bas en OT dans le cerveau des souris KO TPC réduiraient la libération des neuromodulateurs au niveau du cortex auditif.

Indépendamment de son action, sur les neurohormone et les neuromodulateurs, une autre hypothèse serait que le canal TPC joue un rôle direct sur la physiologie des neurones corticaux en modifiant localement (au niveau des dendrites et/ou des synapses) le taux de  $Ca^{2+}$  intracellulaire en réponse à l'activité neuronale. Nous n'avons pas remarqué de différence dans l'élévation de la fluorescence moyenne des neurones (et donc de changements en termes de variations détectables du  $Ca^{2+}$ ) en réponse à des sons en imagerie calcique (Figure 1 : Royer et al., soumis) mais nous n'avons étudié que les variations de fluorescence somatiques, et ce uniquement chez des souris vierges KO TPC et WT. Il serait particulièrement intéressant d'évaluer en imagerie calcique les réponses de neurones du cortex auditif chez des souris mères, pour déterminer si les différences observées en WT et KO TPC sont amplifiées ou au contraire atténuées lors du passage vierge-mère, ou bien encore si d'autres différences peuvent être observées entre WT et TPC KO.

Enfin, l'administration chronique d'OT chez des mères KO TPC a induit des effets intéressants dans le cortex auditif. Par rapport à des souris mère KO TPC traitées au sérum physiologique, l'OT a diminué le taux de décharge et a augmenté la MI/Spike des neurones des mères KO TPC. Pour autant, l'OT n'a pas permis de restaurer un phénotype WT chez les souris mères KO TPC : L'OT a même fait baisser la reproductibilité temporelle, a augmenté la latence de réponse et n'a pas amélioré la valeur brute d'information mutuelle (individuelle et de population) chez les souris mères KO TPC. Comme nous avons constaté des diminutions significatives de monoamines chez les souris KO TPC, il serait intéressant d'appliquer un neuromodulateur (comme la dopamine ou la noradrénaline) au niveau du cortex auditif pour restaurer certains paramètres des réponses évoquées corticales à la fois chez la souris KO TPC mère mais aussi chez la souris KO TPC vierge. Pour finir, une autre possibilité pour restaurer au niveau cortical, mais aussi au niveau comportemental, un phénotype WT serait d'administrer chroniquement un agoniste de la 5HT ou de la DA en plus de l'OT. Nous pourrions peut-être voir, par exemple, une amélioration du taux de réussite au test comportement maternel chez les souris mères KO TPC grâce à l'administration d'OT et de monoamines.

## V. La souris TPC peut-elle être un nouveau modèle d'autisme ?

Notre équipe a montré que la souris KO TPC avait des taux d'OT, de VP et de monoamines plus bas que des souris WT. Par ailleurs, un déficit de comportement social et maternel a aussi été décrit chez ces souris (Martucci et al., soumis). De plus, il a été découvert que deux régions chromosomiques codant des isoformes du canal TPC (TPC1, Chr. 12 q24.13 et TPC2, Chr. 11q13.3) exprimées chez l'homme, ont été identifiées comme des régions du génome humain liées à une variation du nombre de copies (CNV) dans l'autisme et chez les enfants présentant un retard de développement du langage ou de perte auditive (Khan et al., 2007, Shink et al., 2005 ; Chilian et al., 2013). Enfin chez l'Homme, de faibles niveaux d'acétylcholine ou d'ocytocine ont également été trouvés chez les patients atteints de troubles du spectre autistique (TSA) (Perry et al., 2001; Husarova et al., 2016).

Etant donné les altérations observées chez la souris KO TPC, la question se pose de savoir si cette souris peut être considérée comme un modèle de TSA. Dans d'autres modèles animaux présentant une déficience du comportement social, des altérations du traitement sensoriel ont été observées (Geramita et al., 2020 ; Mei et al., 2016 ; Chen et al., 2020 ; Scott et al., 2018, 2020 ; Thye et al., 2018), bien que les mécanismes neuronaux sous-jacents à ces altérations ont été rarement étudiés. Plusieurs types de données suggèrent que des altérations de la régulation des réserves de calcium intracellulaires peuvent avoir un impact important sur la façon dont les neurones traitent les entrées synaptiques, et une étude a montré qu'ils peuvent être impliqués dans les TSA (Nguyen et al., 2018).

Chez l'Homme, le traitement des stimuli acoustiques dans le système auditif est maintenant de plus en plus étudié chez les patients atteints de TSA (revue dans O'Connor, 2012). Des études humaines utilisant l'IRMf ont quantifié les réponses corticales à de la parole ou des sons, et les résultats indiquent une fiabilité de réponse et un rapport signal/bruit plus faible chez des personnes atteintes de TSA par rapport aux témoins (Distein et al., 2012, Haigh et al., 2014). Les recherches visant à comprendre le lien entre autisme et perception auditive se sont également concentrées sur la discrimination de la parole dans des conditions bruyantes (Teder-Salejavri et al., 2005 ; Lepistö et al., 2009), et ces patients atteints de TSA semblent être moins capables de discriminer les signaux vocaux que les témoins en condition bruitée. Les études animales nous permettraient donc une approche plus précise pour comprendre les mécanismes du traitement des stimuli acoustiques impliqués dans les troubles du spectre autistique.

Mon projet de thèse a permis d'observer des altérations du traitement des signaux de communication acoustique au niveau du cortex auditif primaire, chez ces souris femelles KO TPC. Notre étude a permis de montrer que par rapport à une souris WT, le taux de décharge, la reproductibilité temporelle, la latence de réponse, et surtout la discrimination entre des vocalisations de souris sont altérés chez ces souris KO TPC vierges et mères. Cela suggère que le canal TPC joue un rôle dans le traitement cortical des signaux acoustiques de communication et peut-être dans le traitement des stimuli sensoriels en général. Ces résultats

apportent donc informations supplémentaires importantes, qui complètent les données sur les taux de neurohormones ou neuromodulateurs ainsi que les résultats comportementaux. Tous ces résultats vont dans le sens d'altérations en lien avec les TSA. Cependant, ils ne nous permettent pas de préciser le rôle potentiel du canal TPC dans les mécanismes impliqués dans les TSA. En effet, nous ne pouvons pas savoir si les déficits en traitement cortical des signaux acoustiques de communications sont dus soit à un effet direct du canal TPC sur la physiologie des neurones du cortex auditif, soit à un effet indirect résultant d'une neuromodulation altérée (avec de faibles taux de neuromodulateurs et neurohormones). De plus, nous ne savons pas non plus si ces altérations sont dues à un déficit en un seul neuromodulateur ou bien à plusieurs, ni si elles peuvent être compensés.

Pour réponse à ces questions, nous pourrions par exemple réaliser les mêmes expériences chez une souris qui n'exprime pas le canal TPC uniquement dans l'hypothalamus (OT et VP) ou le locus coeruleus (NA). Du fait de l'absence du canal TPC dans les cellules libérant ces neuromodulateurs, nous pourrions déterminer si le faible taux d'OT seul, ou de noradrénaline seul, induit un déficit dans le traitement cortical des signaux de communication au niveau du cortex auditif de ces souris et/ou une altération du comportement social et maternel. Si les altérations observées dans traitement cortical des signaux de communication ne sont pas retrouvées chez ces souris, cela voudrait dire que, soit ce ne sont pas un mais plusieurs neuromodulateurs qui sont impliqués dans ces déficits, soit c'est l'absence du canal TPC au niveau du cortex auditif (ou système auditif) qui induit le déficit observé chez nos animaux. Enfin, il est évident que l'étude des altérations du cortex auditif ne permet pas d'expliquer à elle seule les réponses comportementales d'un modèle murin d'autisme. Il serait intéressant d'étudier d'autres structures comme le cortex pyriforme (car la souris utilise beaucoup son odorat pour le comportement social) ou le cortex somatosensoriel (le « barrel » cortex) pour savoir si nous retrouvons des altérations comparables à celle observées dans le cortex auditif. Si nous retrouvons des altérations similaires dans d'autres cortex cela montrerait que le canal TPC a un rôle général dans le traitement des informations sensorielles nécessaires à un comportement social « normal ». Pour finir, nous pourrions aussi étudier des structures plus intégrées comme le cortex préfrontal pour déceler peut-être chez ces souris KO TPC des déficits dans les mécanismes liés à la prise de décision ou au comportement social modifiés. Cependant, il risque d'être très difficile de déterminer précisément l'activation neuronale associée à la prise de décision d'autant plus que, comme il existe des altérations du traitement cortical des signaux de communication, il sera difficile de savoir si les différences observées au niveau du cortex préfrontal entre les souris KO TPC et WT sont dues aux déficits de traitement des informations sensorielles transmises au cortex préfrontal ou à un déficit de traitement au sein des réseaux neuronaux du cortex préfrontal.

## Références bibliographiques :

- Ackerman, A.E., Lange, G.M., Clemens, L.G., 1997. Effects of paraventricular lesions on sex behavior and seminal emission in male rats. *Physiol Behav* 63, 49–53. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(97\)00386-7](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(97)00386-7)
- Adebanjo, O.A., Koval, A., Moonga, B.S., Wu, X.B., Yao, S., Bevis, P.J., Kumegawa, M., Zaidi, M., Sun, L., 2000. Molecular cloning, expression, and functional characterization of a novel member of the CD38 family of ADP-ribosyl cyclases. *Biochem Biophys Res Commun* 273, 884–889. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3041>
- Amaral, D.G., Kurz, J., 1985. An analysis of the origins of the cholinergic and noncholinergic septal projections to the hippocampal formation of the rat. *J Comp Neurol* 240, 37–59. <https://doi.org/10.1002/cne.902400104>
- Andari, E., Duhamel, J.-R., Zalla, T., Herbrecht, E., Leboyer, M., Sirigu, A., 2010. Promoting social behavior with oxytocin in high-functioning autism spectrum disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 4389–4394. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910249107>
- Andersen, R.A., Snyder, R.L., Merzenich, M.M., 1980. The topographic organization of corticocollicular projections from physiologically identified loci in the AI, AII, and anterior auditory cortical fields of the cat. *J Comp Neurol* 191, 479–494. <https://doi.org/10.1002/cne.901910310>
- Anderson, L.A., Christianson, G.B., Linden, J.F., 2009. Mouse auditory cortex differs from visual and somatosensory cortices in the laminar distribution of cytochrome oxidase and acetylcholinesterase. *Brain Res* 1252, 130–142. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.11.037>
- Antonijevic, I.A., Douglas, A.J., Dye, S., Bicknell, R.J., Leng, G., Russell, J.A., 1995. Oxytocin antagonists delay the initiation of parturition and prolong its active phase in rats. *J Endocrinol* 145, 97–103. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1450097>
- Aoki, C., Go, C.G., Venkatesan, C., Kurose, H., 1994. Perikaryal and synaptic localization of alpha 2A-adrenergic receptor-like immunoreactivity. *Brain Res* 650, 181–204. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91782-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91782-5)
- Ashe, J.H., McKenna, T.M., Weinberger, N.M., 1989. Cholinergic modulation of frequency receptive fields in auditory cortex: II. Frequency-specific effects of anticholinesterases provide evidence for a modulatory action of endogenous ACh. *Synapse* 4, 44–54. <https://doi.org/10.1002/syn.890040106>
- Aushana, Y., Souffi, S., Edeline, J.-M., Lorenzi, C., Huetz, C., 2018. Robust Neuronal Discrimination in Primary Auditory Cortex Despite Degradations of Spectro-temporal Acoustic Details: Comparison Between Guinea Pigs with Normal Hearing and Mild Age-Related Hearing Loss. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.* 19, 163–180. <https://doi.org/10.1007/s10162-017-0649-1>
- Bajo, V.M., Merchán, M.A., Malmierca, M.S., Nodal, F.R., Bjaalie, J.G., 1999. Topographic organization of the dorsal nucleus of the lateral lemniscus in the cat. *J Comp Neurol* 407, 349–366. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(19990510\)407:3<349::aid-cne4>3.0.co;2-5](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(19990510)407:3<349::aid-cne4>3.0.co;2-5)
- Bajo, V.M., Villa, A.E., de Ribaupierre, F., Rouiller, E.M., 1998. Discharge properties of single neurons in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus of the rat. *Brain Res Bull* 47, 595–610. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(98\)00127-0](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(98)00127-0)
- Bakermans-Kranenburg, M.J., van IJzendoorn, M.H., 2013. Sniffing around oxytocin: review and meta-analyses of trials in healthy and clinical groups with implications for pharmacotherapy. *Transl Psychiatry* 3, e258. <https://doi.org/10.1038/tp.2013.34>
- Bakin, J.S., Weinberger, N.M., 1996. Induction of a physiological memory in the cerebral cortex by stimulation of the nucleus basalis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 11219–11224. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.20.11219>
- Bandyopadhyay, S., Shamma, S.A., Kanold, P.O., 2010. Dichotomy of functional organization in the mouse auditory cortex. *Nat Neurosci* 13, 361–368. <https://doi.org/10.1038/nn.2490>
- Bao, S., Chan, V.T., Merzenich, M.M., 2001. Cortical remodelling induced by activity of ventral tegmental dopamine neurons. *Nature* 412, 79–83. <https://doi.org/10.1038/35083586>
- Bao, S., Chan, V.T., Zhang, L.I., Merzenich, M.M., 2003. Suppression of cortical representation through backward conditioning. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 1405–1408. <https://doi.org/10.1073/pnas.0337527100>

- Barak, S., 2009. Modeling cholinergic aspects of schizophrenia: focus on the antimuscarinic syndrome. *Behav Brain Res* 204, 335–351. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.04.006>
- Bardo, S., Cavazzini, M.G., Emptage, N., 2006. The role of the endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> store in the plasticity of central neurons. *Trends Pharmacol Sci* 27, 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2005.12.008>
- Barkat, T.R., Polley, D.B., Hensch, T.K., 2011. A critical period for auditory thalamocortical connectivity. *Nat Neurosci* 14, 1189–1194. <https://doi.org/10.1038/nn.2882>
- Bear, M.F., Connors, B.W., Paradiso, M.A., 2016. *Neurosciences: à la découverte du cerveau*, Pradel. ed.
- Beckmann, H., Lang, R.E., Gattaz, W.F., 1985. Vasopressin--oxytocin in cerebrospinal fluid of schizophrenic patients and normal controls. *Psychoneuroendocrinology* 10, 187–191. [https://doi.org/10.1016/0306-4530\(85\)90056-3](https://doi.org/10.1016/0306-4530(85)90056-3)
- Behrens, E.G., Schofield, B.R., Thompson, A.M., 2002. Aminergic projections to cochlear nucleus via descending auditory pathways. *Brain Res* 955, 34–44. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(02\)03351-6](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)03351-6)
- Berridge, C.W., Waterhouse, B.D., 2003. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev* 42, 33–84. [https://doi.org/10.1016/s0165-0173\(03\)00143-7](https://doi.org/10.1016/s0165-0173(03)00143-7)
- Beyerl, B.D., 1978. Afferent projections to the central nucleus of the inferior colliculus in the rat. *Brain Res* 145, 209–223. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(78\)90858-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(78)90858-2)
- Bezin, S., Charpentier, G., Lee, H.C., Baux, G., Fossier, P., Cancela, J.-M., 2008. Regulation of nuclear Ca<sup>2+</sup> signaling by translocation of the Ca<sup>2+</sup> messenger synthesizing enzyme ADP-ribosyl cyclase during neuronal depolarization. *J Biol Chem* 283, 27859–27870. <https://doi.org/10.1074/jbc.M804701200>
- Bicks, L.K., Koike, H., Akbarian, S., Morishita, H., 2015. Prefrontal Cortex and Social Cognition in Mouse and Man. *Front Psychol* 6, 1805. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2015.01805>
- Bizley, J.K., Nodal, F.R., Bajo, V.M., Nelken, I., King, A.J., 2007. Physiological and anatomical evidence for multisensory interactions in auditory cortex. *Cereb Cortex* 17, 2172–2189. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhl128>
- Bjordahl, T.S., Dimyan, M.A., Weinberger, N.M., 1998. Induction of long-term receptive field plasticity in the auditory cortex of the waking guinea pig by stimulation of the nucleus basalis. *Behav Neurosci* 112, 467–479. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.112.3.467>
- Bolam, J.P., Francis, C.M., Henderson, Z., 1991. Cholinergic input to dopaminergic neurons in the substantia nigra: a double immunocytochemical study. *Neuroscience* 41, 483–494. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(91\)90343-m](https://doi.org/10.1016/0306-4522(91)90343-m)
- Borst, A., Theunissen, F.E., 1999. Information theory and neural coding. *Nat Neurosci* 2, 947–957. <https://doi.org/10.1038/14731>
- Brailoiu, E., Hooper, R., Cai, X., Brailoiu, G.C., Keebler, M.V., Dun, N.J., Marchant, J.S., Patel, S., 2010. An ancestral deuterostome family of two-pore channels mediates nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate-dependent calcium release from acidic organelles. *J Biol Chem* 285, 2897–2901. <https://doi.org/10.1074/jbc.C109.081943>
- Brambilla, M., Cotelli, M., Manenti, R., Dagani, J., Sisti, D., Rocchi, M., Balestrieri, M., Pini, S., Raimondi, S., Saviotti, F.M., Scocco, P., de Girolamo, G., 2016. Oxytocin to modulate emotional processing in schizophrenia: A randomized, double-blind, cross-over clinical trial. *Eur Neuropsychopharmacol* 26, 1619–1628. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2016.08.001>
- Brosch, M., Selezneva, E., Scheich, H., 2005. Nonauditory events of a behavioral procedure activate auditory cortex of highly trained monkeys. *J Neurosci* 25, 6797–6806. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1571-05.2005>
- Brunk, M.G.K., Deane, K.E., Kisse, M., Deliano, M., Vieweg, S., Ohl, F.W., Lippert, M.T., Happel, M.F.K., 2019. Optogenetic stimulation of the VTA modulates a frequency-specific gain of thalamocortical inputs in infragranular layers of the auditory cortex. *Sci Rep* 9, 20385. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56926-6>
- Buckley, N.J., Bonner, T.I., Brann, M.R., 1988. Localization of a family of muscarinic receptor mRNAs in rat brain. *J Neurosci* 8, 4646–4652.
- Buhot, M.C., 1997. Serotonin receptors in cognitive behaviors. *Curr Opin Neurobiol* 7, 243–254. [https://doi.org/10.1016/s0959-4388\(97\)80013-x](https://doi.org/10.1016/s0959-4388(97)80013-x)

- Burgoyne, T., Patel, S., Eden, E.R., 2015. Calcium signaling at ER membrane contact sites. *Biochim Biophys Acta* 1853, 2012–2017. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2015.01.022>
- Busnelli, M., Chini, B., 2018. Molecular Basis of Oxytocin Receptor Signalling in the Brain: What We Know and What We Need to Know. *Curr Top Behav Neurosci* 35, 3–29. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2017\\_6](https://doi.org/10.1007/7854_2017_6)
- Calcraft, P.J., Ruas, M., Pan, Z., Cheng, X., Arredouani, A., Hao, X., Tang, J., Rietdorf, K., Teboul, L., Chuang, K.-T., Lin, P., Xiao, R., Wang, C., Zhu, Y., Lin, Y., Wyatt, C.N., Parrington, J., Ma, J., Evans, A.M., Galione, A., Zhu, M.X., 2009. NAADP mobilizes calcium from acidic organelles through two-pore channels. *Nature* 459, 596–600. <https://doi.org/10.1038/nature08030>
- Caldwell, J.D., 1992. Central oxytocin and female sexual behavior. *Ann N Y Acad Sci* 652, 166–179. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1992.tb34353.x>
- Caldwell, J.D., Greer, E.R., Johnson, M.F., Prange, A.J., Pedersen, C.A., 1987. Oxytocin and vasopressin immunoreactivity in hypothalamic and extrahypothalamic sites in late pregnant and postpartum rats. *Neuroendocrinology* 46, 39–47. <https://doi.org/10.1159/000124794>
- Cancela, J.M., 2001. Specific Ca<sup>2+</sup> signaling evoked by cholecystokinin and acetylcholine: the roles of NAADP, cADPR, and IP<sub>3</sub>. *Annu Rev Physiol* 63, 99–117. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.63.1.99>
- Cancela, J.M., Charpentier, G., Petersen, O.H., 2003. Co-ordination of Ca(2+) signalling in mammalian cells by the new Ca(2+)-releasing messenger NAADP. *Pflugers Arch* 446, 322–327. <https://doi.org/10.1007/s00424-003-1035-x>
- Cancela, J.M., Churchill, G.C., Galione, A., 1999. Coordination of agonist-induced Ca<sup>2+</sup>-signalling patterns by NAADP in pancreatic acinar cells. *Nature* 398, 74–76. <https://doi.org/10.1038/18032>
- Cang, C., Zhou, Y., Navarro, B., Seo, Y.-J., Aranda, K., Shi, L., Battaglia-Hsu, S., Nissim, I., Clapham, D.E., Ren, D., 2013. mTOR regulates lysosomal ATP-sensitive two-pore Na(+) channels to adapt to metabolic state. *Cell* 152, 778–790. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.01.023>
- Cappe, C., Barone, P., 2005. Heteromodal connections supporting multisensory integration at low levels of cortical processing in the monkey. *Eur J Neurosci* 22, 2886–2902. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04462.x>
- Carruthers, I.M., Laplagne, D.A., Jaegle, A., Briguglio, J.J., Mwilambwe-Tshilobo, L., Natan, R.G., Geffen, M.N., 2015. Emergence of invariant representation of vocalizations in the auditory cortex. *J Neurophysiol* 114, 2726–2740. <https://doi.org/10.1152/jn.00095.2015>
- Carter, C.S., 2014. Oxytocin pathways and the evolution of human behavior. *Annu Rev Psychol* 65, 17–39. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010213-115110>
- Carter, C.S., 2007. Sex differences in oxytocin and vasopressin: implications for autism spectrum disorders? *Behav Brain Res* 176, 170–186. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.08.025>
- Chance, B., Cohen, P., Jobsis, F., Schoener, B., 1962. Intracellular oxidation-reduction states in vivo. *Science* 137, 499–508. <https://doi.org/10.1126/science.137.3529.499>
- Chang, E.F., Merzenich, M.M., 2003. Environmental noise retards auditory cortical development. *Science* 300, 498–502. <https://doi.org/10.1126/science.1082163>
- Chang, M., Kawai, H.D., 2018. A characterization of laminar architecture in mouse primary auditory cortex. *Brain Struct Funct* 223, 4187–4209. <https://doi.org/10.1007/s00429-018-1744-8>
- Chen, Q., Deister, C.A., Gao, X., Guo, B., Lynn-Jones, T., Chen, N., Wells, M.F., Liu, R., Goard, M.J., Dimidschstein, J., Feng, S., Shi, Y., Liao, W., Lu, Z., Fishell, G., Moore, C.I., Feng, G., 2020. Dysfunction of cortical GABAergic neurons leads to sensory hyper-reactivity in a Shank3 mouse model of ASD. *Nat Neurosci* 23, 520–532. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-0598-6>
- Chilian, B., Abdollahpour, H., Bierhals, T., Haltrich, I., Fekete, G., Nagel, I., Rosenberger, G., Kutsche, K., 2013. Dysfunction of SHANK2 and CHRNA7 in a patient with intellectual disability and language impairment supports genetic epistasis of the two loci. *Clin Genet* 84, 560–565. <https://doi.org/10.1111/cge.12105>
- Chini, B., Verhage, M., Grinevich, V., 2017. The Action Radius of Oxytocin Release in the Mammalian CNS: From Single Vesicles to Behavior. *Trends Pharmacol Sci* 38, 982–991. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2017.08.005>

- Chini, E.N., Chini, C.C.S., Kato, I., Takasawa, S., Okamoto, H., 2002. CD38 is the major enzyme responsible for synthesis of nicotinic acid-adenine dinucleotide phosphate in mammalian tissues. *Biochem J* 362, 125–130. <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3620125>
- Choe, H.K., Reed, M.D., Benavidez, N., Montgomery, D., Soares, N., Yim, Y.S., Choi, G.B., 2015. Oxytocin Mediates Entrainment of Sensory Stimuli to Social Cues of Opposing Valence. *Neuron* 87, 152–163. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.06.022>
- Chong, K.K., Anandakumar, D.B., Dunlap, A.G., Kacsoh, D.B., Liu, R.C., 2020. Experience-Dependent Coding of Time-Dependent Frequency Trajectories by Off Responses in Secondary Auditory Cortex. *J Neurosci* 40, 4469–4482. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2665-19.2020>
- Churchill, G.C., Okada, Y., Thomas, J.M., Genazzani, A.A., Patel, S., Galione, A., 2002. NAADP mobilizes Ca<sup>2+</sup> from reserve granules, lysosome-related organelles, in sea urchin eggs. *Cell* 111, 703–708. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)01082-6](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)01082-6)
- Cochran, D.M., Fallon, D., Hill, M., Frazier, J.A., 2013. The role of oxytocin in psychiatric disorders: a review of biological and therapeutic research findings. *Harv Rev Psychiatry* 21, 219–247. <https://doi.org/10.1097/HRP.0b013e3182a75b7d>
- Code, R.A., Winer, J.A., 1986. Columnar organization and reciprocity of commissural connections in cat primary auditory cortex (AI). *Hear Res* 23, 205–222. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(86\)90110-3](https://doi.org/10.1016/0378-5955(86)90110-3)
- Cohen, L., Mizrahi, A., 2015. Plasticity during motherhood: changes in excitatory and inhibitory layer 2/3 neurons in auditory cortex. *J. Neurosci.* 35, 1806–1815. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1786-14.2015>
- Cosker, F., Cheviron, N., Yamasaki, M., Menteyne, A., Lund, F.E., Moutin, M.-J., Galione, A., Cancela, J.-M., 2010. The ecto-enzyme CD38 is a nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate (NAADP) synthase that couples receptor activation to Ca<sup>2+</sup> mobilization from lysosomes in pancreatic acinar cells. *J Biol Chem* 285, 38251–38259. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.125864>
- Davis, L.C., Morgan, A.J., Chen, J.-L., Snead, C.M., Bloor-Young, D., Shenderov, E., Stanton-Humphreys, M.N., Conway, S.J., Churchill, G.C., Parrington, J., Cerundolo, V., Galione, A., 2012. NAADP activates two-pore channels on T cell cytolytic granules to stimulate exocytosis and killing. *Curr Biol* 22, 2331–2337. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.10.035>
- Deliano, M., Brunk, M.G.K., El-Tabbal, M., Zempeltzi, M.M., Happel, M.F.K., Ohl, F.W., 2020. Dopaminergic neuromodulation of high gamma stimulus phase-locking in gerbil primary auditory cortex mediated by D1/D5-receptors. *Eur J Neurosci* 51, 1315–1327. <https://doi.org/10.1111/ejn.13898>
- Dinstein, I., Heeger, D.J., Lorenzi, L., Minshew, N.J., Malach, R., Behrmann, M., 2012. Unreliable evoked responses in autism. *Neuron* 75, 981–991. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.07.026>
- Disney, A.A., Aoki, C., Hawken, M.J., 2007. Gain modulation by nicotine in macaque v1. *Neuron* 56, 701–713. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.09.034>
- Doron, N.N., Ledoux, J.E., 2000. Cells in the posterior thalamus project to both amygdala and temporal cortex: a quantitative retrograde double-labeling study in the rat. *J Comp Neurol* 425, 257–274.
- Doron, N.N., Ledoux, J.E., 1999. Organization of projections to the lateral amygdala from auditory and visual areas of the thalamus in the rat. *J Comp Neurol* 412, 383–409.
- Doucet, J.R., Molavi, D.L., Ryugo, D.K., 2003. The source of corticocollicular and corticobulbar projections in area Te1 of the rat. *Exp Brain Res* 153, 461–466. <https://doi.org/10.1007/s00221-003-1604-4>
- Douglas, A.J., Leng, G., Russell, J.A., 2002. The importance of oxytocin mechanisms in the control of mouse parturition. *Reproduction* 123, 543–552. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1230543>
- Duchemin, A., Seelke, A.M.H., Simmons, T.C., Freeman, S.M., Bales, K.L., 2017. Localization of oxytocin receptors in the prairie vole (*Microtus ochrogaster*) neocortex. *Neuroscience* 348, 201–211. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.02.017>
- Ebert, U., Ostwald, J., 1992. Serotonin modulates auditory information processing in the cochlear nucleus of the rat. *Neurosci Lett* 145, 51–54. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(92\)90201-h](https://doi.org/10.1016/0304-3940(92)90201-h)

- Edeline, J.-M., 2012. Beyond traditional approaches to understanding the functional role of neuromodulators in sensory cortices. *Front Behav Neurosci* 6, 45. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2012.00045>
- Edeline, J.-M., 2011. Physiological properties of neurons in the medial geniculate body., in: *The Auditory Cortex* (Eds. Winer, J. A. and Schreiner, C. E.). Springer, New York, pp. 251–274.
- Edeline, J.-M., 2003. The thalamo-cortical auditory receptive fields: regulation by the states of vigilance, learning and the neuromodulatory systems. *Exp Brain Res* 153, 554–572. <https://doi.org/10.1007/s00221-003-1608-0>
- Edeline, J.M., Maho, C., Hars, B., Hennevin, E., 1994. Non-awaking basal forebrain stimulation enhances auditory cortex responsiveness during slow-wave sleep. *Brain Res* 636, 333–337. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91033-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91033-2)
- Edeline, J.-M., Manunta, Y., Hennevin, E., 2011. Induction of selective plasticity in the frequency tuning of auditory cortex and auditory thalamus neurons by locus coeruleus stimulation. *Hear Res* 274, 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2010.08.005>
- Ehret, G., 2006. Common rules of communication sound perception. *Behavior and Neurodynamics for Auditory Communication* 85–114.
- Ehret, G., 1975. Masked auditory thresholds, critical ratios, and scales of the basilar membrane of the housemouse (*Mus musculus*). *Journal of Comparative Physiology* 103, 329–341. <https://doi.org/10.1007/BF00612025>
- Ehret, G., Haack, B., 1981. Categorical perception of mouse pup ultrasound by lactating females. *Naturwissenschaften* 68, 208–209. <https://doi.org/10.1007/BF01047208>
- Ehret, G., Koch, M., Haack, B., Markl, H., 1987. Sex and parental experience determine the onset of an instinctive behavior in mice. *Naturwissenschaften* 74, 47. <https://doi.org/10.1007/BF00367047>
- Eliava, M., Melchior, M., Knobloch-Bollmann, H.S., Wahis, J., da Silva Gouveia, M., Tang, Y., Ciobanu, A.C., Triana Del Rio, R., Roth, L.C., Althammer, F., Chavant, V., Goumon, Y., Gruber, T., Petit-Demoulière, N., Busnelli, M., Chini, B., Tan, L.L., Mitre, M., Froemke, R.C., Chao, M.V., Giese, G., Sprengel, R., Kuner, R., Poisbeau, P., Seeburg, P.H., Stoop, R., Charlet, A., Grinevich, V., 2016. A New Population of Parvocellular Oxytocin Neurons Controlling Magnocellular Neuron Activity and Inflammatory Pain Processing. *Neuron* 89, 1291–1304. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.01.041>
- Emiliano, A.B.F., Cruz, T., Pannoni, V., Fudge, J.L., 2007. The interface of oxytocin-labeled cells and serotonin transporter-containing fibers in the primate hypothalamus: a substrate for SSRIs therapeutic effects? *Neuropsychopharmacology* 32, 977–988. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301206>
- Empson, R.M., Galione, A., 1997. Cyclic ADP-ribose enhances coupling between voltage-gated Ca<sup>2+</sup> entry and intracellular Ca<sup>2+</sup> release. *J Biol Chem* 272, 20967–20970. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.34.20967>
- Esteban, S., Lladó, J., García-Sevilla, J.A., 1996. Alpha 2-autoreceptors and alpha 2-heteroreceptors modulating tyrosine and tryptophan hydroxylase activity in the rat brain in vivo: an investigation into the alpha 2-adrenoceptor subtypes. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 353, 391–399. <https://doi.org/10.1007/BF00261435>
- Fang, C., Li, T., Li, Y., Xu, G.J., Deng, Q.W., Chen, Y.J., Hou, Y.N., Lee, H.C., Zhao, Y.J., 2018. CD38 produces nicotinic acid adenosine dinucleotide phosphate in the lysosome. *J Biol Chem* 293, 8151–8160. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.002113>
- Farley, G.R., Morley, B.J., Javel, E., Gorga, M.P., 1983. Single-unit responses to cholinergic agents in the rat inferior colliculus. *Hear Res* 11, 73–91. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(83\)90046-1](https://doi.org/10.1016/0378-5955(83)90046-1)
- Favia, A., Desideri, M., Gambarà, G., D'Alessio, A., Ruas, M., Esposito, B., Del Bufalo, D., Parrington, J., Ziparo, E., Palombi, F., Galione, A., Filippini, A., 2014. VEGF-induced neoangiogenesis is mediated by NAADP and two-pore channel-2-dependent Ca<sup>2+</sup> signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111, E4706-4715. <https://doi.org/10.1073/pnas.1406029111>
- Feldmeyer, D., 2012. Excitatory neuronal connectivity in the barrel cortex. *Front Neuroanat* 6, 24. <https://doi.org/10.3389/fnana.2012.00024>
- Ferguson, J.N., Aldag, J.M., Insel, T.R., Young, L.J., 2001. Oxytocin in the medial amygdala is essential for social recognition in the mouse. *J Neurosci* 21, 8278–8285.

- Ferguson, J.N., Young, L.J., Hearn, E.F., Matzuk, M.M., Insel, T.R., Winslow, J.T., 2000. Social amnesia in mice lacking the oxytocin gene. *Nat Genet* 25, 284–288. <https://doi.org/10.1038/77040>
- Fernández, J.E., Deaglio, S., Donati, D., Beusan, I.S., Corno, F., Aranega, A., Forni, M., Falini, B., Malavasi, F., 1998. Analysis of the distribution of human CD38 and of its ligand CD31 in normal tissues. *J Biol Regul Homeost Agents* 12, 81–91.
- Fichtel, I., Ehret, G., 1999. Perception and recognition discriminated in the mouse auditory cortex by c-Fos labeling. *Neuroreport* 10, 2341–2345. <https://doi.org/10.1097/00001756-199908020-00022>
- Fliers, E., De Vries, G.J., Swaab, D.F., 1985. Changes with aging in the vasopressin and oxytocin innervation of the rat brain. *Brain Res* 348, 1–8. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)90351-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)90351-8)
- Forsling, M.L., Kalló, I., Hartley, D.E., Heinze, L., Ladek, R., Coen, C.W., File, S.E., 2003. Oestrogen receptor-beta and neurohypophysial hormones: functional interaction and neuroanatomical localisation. *Pharmacol Biochem Behav* 76, 535–542. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2003.09.013>
- Foster, W.J., Taylor, H.B.C., Padamsey, Z., Jeans, A.F., Galione, A., Emptage, N.J., 2018. Hippocampal mGluR1-dependent long-term potentiation requires NAADP-mediated acidic store Ca<sup>2+</sup> signaling. *Sci Signal* 11, eaat9093. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aat9093>
- Fritz, J., Elhilali, M., Shamma, S., 2005. Active listening: task-dependent plasticity of spectrotemporal receptive fields in primary auditory cortex. *Hear Res* 206, 159–176. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2005.01.015>
- Fritz, J.B., Elhilali, M., David, S.V., Shamma, S.A., 2007a. Does attention play a role in dynamic receptive field adaptation to changing acoustic salience in A1? *Hear Res* 229, 186–203. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2007.01.009>
- Fritz, J.B., Elhilali, M., Shamma, S.A., 2007b. Adaptive changes in cortical receptive fields induced by attention to complex sounds. *J Neurophysiol* 98, 2337–2346. <https://doi.org/10.1152/jn.00552.2007>
- Galione, A., Churchill, G.C., 2002. Interactions between calcium release pathways: multiple messengers and multiple stores. *Cell Calcium* 32, 343–354. <https://doi.org/10.1016/s0143416002001902>
- Galione, A., Evans, A.M., Ma, J., Parrington, J., Arredouani, A., Cheng, X., Zhu, M.X., 2009. The acid test: the discovery of two-pore channels (TPCs) as NAADP-gated endolysosomal Ca(2+) release channels. *Pflugers Arch* 458, 869–876. <https://doi.org/10.1007/s00424-009-0682-y>
- Games, K.D., Winer, J.A., 1988. Layer V in rat auditory cortex: projections to the inferior colliculus and contralateral cortex. *Hear Res* 34, 1–25. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(88\)90047-0](https://doi.org/10.1016/0378-5955(88)90047-0)
- García-Lazaro, J.A., Shepard, K.N., Miranda, J.A., Liu, R.C., Lesica, N.A., 2015. An Overrepresentation of High Frequencies in the Mouse Inferior Colliculus Supports the Processing of Ultrasonic Vocalizations. *PLoS One* 10, e0133251. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133251>
- García-Oscos, F., Torres-Ramírez, O., Dinh, L., Galindo-Charles, L., Pérez Padilla, E.A., Pineda, J.C., Atzori, M., Salgado, H., 2015. Activation of 5-HT receptors inhibits GABAergic transmission by pre- and post-synaptic mechanisms in layer II/III of the juvenile rat auditory cortex. *Synapse* 69, 115–127. <https://doi.org/10.1002/syn.21794>
- Gaucher, Q., Huetz, C., Gourévitch, B., Edeline, J.-M., 2013a. Cortical inhibition reduces information redundancy at presentation of communication sounds in the primary auditory cortex. *J. Neurosci.* 33, 10713–10728. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0079-13.2013>
- Gaucher, Q., Huetz, C., Gourévitch, B., Laudanski, J., Occelli, F., Edeline, J.-M., 2013b. How do auditory cortex neurons represent communication sounds? *Hear Res* 305, 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2013.03.011>
- Gaucher, Q., Panniello, M., Ivanov, A.Z., Dahmen, J.C., King, A.J., Walker, K.M., 2020. Complexity of frequency receptive fields predicts tonotopic variability across species. *Elife* 9, e53462. <https://doi.org/10.7554/eLife.53462>
- Geissler, D.B., Ehret, G., 2004. Auditory perception vs. recognition: representation of complex communication sounds in the mouse auditory cortical fields. *Eur J Neurosci* 19, 1027–1040. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03205.x>
- Geissler, D.B., Ehret, G., 2002. Time-critical integration of formants for perception of communication calls in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 9021–9025. <https://doi.org/10.1073/pnas.122606499>

- Geramita, M.A., Wen, J.A., Rannals, M.D., Urban, N.N., 2020. Decreased amplitude and reliability of odor-evoked responses in two mouse models of autism. *J Neurophysiol* 123, 1283–1294. <https://doi.org/10.1152/jn.00277.2019>
- Gerasimenko, M., Lopatina, O., Munesue, S., Harashima, A., Yokoyama, S., Yamamoto, Y., Higashida, H., 2021. Receptor for advanced glycation end-products (RAGE) plays a critical role in retrieval behavior of mother mice at early postpartum. *Physiol Behav* 235, 113395. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113395>
- Gerndt, S., Chen, C.-C., Chao, Y.-K., Yuan, Y., Burgstaller, S., Scotto Rosato, A., Krogsaeter, E., Urban, N., Jacob, K., Nguyen, O.N.P., Miller, M.T., Keller, M., Vollmar, A.M., Gudermann, T., Zierler, S., Schredelseker, J., Schaefer, M., Biel, M., Malli, R., Wahl-Schott, C., Bracher, F., Patel, S., Grimm, C., 2020. Agonist-mediated switching of ion selectivity in TPC2 differentially promotes lysosomal function. *Elife* 9, e54712. <https://doi.org/10.7554/eLife.54712>
- Ghazanfar, A.A., Chandrasekaran, C., Logothetis, N.K., 2008. Interactions between the superior temporal sulcus and auditory cortex mediate dynamic face/voice integration in rhesus monkeys. *J Neurosci* 28, 4457–4469. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0541-08.2008>
- Gibbs, D.M., 1984. Dissociation of oxytocin, vasopressin and corticotropin secretion during different types of stress. *Life Sci* 35, 487–491. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(84\)90241-8](https://doi.org/10.1016/0024-3205(84)90241-8)
- Gilbert, C.D., Wiesel, T.N., 1979. Morphology and intracortical projections of functionally characterised neurones in the cat visual cortex. *Nature* 280, 120–125. <https://doi.org/10.1038/280120a0>
- Gimpl, G., Fahrenholz, F., 2001. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol Rev* 81, 629–683. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.2.629>
- Gittelman, J.X., Perkel, D.J., Portfors, C.V., 2013. Dopamine modulates auditory responses in the inferior colliculus in a heterogeneous manner. *J Assoc Res Otolaryngol* 14, 719–729. <https://doi.org/10.1007/s10162-013-0405-0>
- Glovinsky, D., Kalogeras, K.T., Kirch, D.G., Suddath, R., Wyatt, R.J., 1994. Cerebrospinal fluid oxytocin concentration in schizophrenic patients does not differ from control subjects and is not changed by neuroleptic medication. *Schizophr Res* 11, 273–276. [https://doi.org/10.1016/0920-9964\(94\)90021-3](https://doi.org/10.1016/0920-9964(94)90021-3)
- Goldman, M., Marlow-O'Connor, M., Torres, I., Carter, C.S., 2008. Diminished plasma oxytocin in schizophrenic patients with neuroendocrine dysfunction and emotional deficits. *Schizophr Res* 98, 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2007.09.019>
- Goo, M.S., Sancho, L., Slepak, N., Boassa, D., Deerinck, T.J., Ellisman, M.H., Bloodgood, B.L., Patrick, G.N., 2017. Activity-dependent trafficking of lysosomes in dendrites and dendritic spines. *J Cell Biol* 216, 2499–2513. <https://doi.org/10.1083/jcb.201704068>
- Gordon, I., Jack, A., Pretzsch, C.M., Vander Wyk, B., Leckman, J.F., Feldman, R., Pelphrey, K.A., 2016. Intranasal Oxytocin Enhances Connectivity in the Neural Circuitry Supporting Social Motivation and Social Perception in Children with Autism. *Sci Rep* 6, 35054. <https://doi.org/10.1038/srep35054>
- Gould, E., Farris, T.W., Butcher, L.L., 1989. Basal forebrain neurons undergo somatal and dendritic remodeling during postnatal development: a single-section Golgi and choline acetyltransferase analysis. *Brain Res Dev Brain Res* 46, 297–302. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(89\)90293-9](https://doi.org/10.1016/0165-3806(89)90293-9)
- Grimm, C., Holdt, L.M., Chen, C.-C., Hassan, S., Müller, C., Jörs, S., Cuny, H., Kissing, S., Schröder, B., Butz, E., Northoff, B., Castonguay, J., Lubber, C.A., Moser, M., Spahn, S., Lüllmann-Rauch, R., Fendel, C., Klugbauer, N., Griesbeck, O., Haas, A., Mann, M., Bracher, F., Teupser, D., Saftig, P., Biel, M., Wahl-Schott, C., 2014. High susceptibility to fatty liver disease in two-pore channel 2-deficient mice. *Nat Commun* 5, 4699. <https://doi.org/10.1038/ncomms5699>
- Grimsley, J.M.S., Shanbhag, S.J., Palmer, A.R., Wallace, M.N., 2012. Processing of communication calls in Guinea pig auditory cortex. *PLoS One* 7, e51646. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051646>
- Grinevich, V., Desarménien, M.G., Chini, B., Tauber, M., Muscatelli, F., 2014. Ontogenesis of oxytocin pathways in the mammalian brain: late maturation and psychosocial disorders. *Front Neuroanat* 8, 164. <https://doi.org/10.3389/fnana.2014.00164>
- Grinevich, V., Stoop, R., 2018. Interplay between Oxytocin and Sensory Systems in the Orchestration of Socio-Emotional Behaviors. *Neuron* 99, 887–904. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.016>

- Guastella, A.J., Einfeld, S.L., Gray, K.M., Rinehart, N.J., Tonge, B.J., Lambert, T.J., Hickie, I.B., 2010. Intranasal oxytocin improves emotion recognition for youth with autism spectrum disorders. *Biol Psychiatry* 67, 692–694. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.09.020>
- Guastella, A.J., Hickie, I.B., 2016. Oxytocin Treatment, Circuitry, and Autism: A Critical Review of the Literature Placing Oxytocin Into the Autism Context. *Biol Psychiatry* 79, 234–242. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.06.028>
- Guastella, A.J., Mitchell, P.B., Dadds, M.R., 2008. Oxytocin increases gaze to the eye region of human faces. *Biol Psychiatry* 63, 3–5. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.06.026>
- Guastella, A.J., Ward, P.B., Hickie, I.B., Shahrestani, S., Hodge, M.A.R., Scott, E.M., Langdon, R., 2015. A single dose of oxytocin nasal spray improves higher-order social cognition in schizophrenia. *Schizophr Res* 168, 628–633. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2015.06.005>
- Guo, W., Chambers, A.R., Darrow, K.N., Hancock, K.E., Shinn-Cunningham, B.G., Polley, D.B., 2012. Robustness of cortical topography across fields, laminae, anesthetic states, and neurophysiological signal types. *J Neurosci* 32, 9159–9172. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0065-12.2012>
- Haack, B., Markl, H., Ehret, G., 1983. Sound communication between parents and offspring. In: Willott, J.F. (Ed.). *The Auditory Psychobiology of the Mouse*. Charles C. Thomas, Springfield, IL, 57–97.
- Habbicht, H., Vater, M., 1996. A microiontophoretic study of acetylcholine effects in the inferior colliculus of horseshoe bats: implications for a modulatory role. *Brain Res* 724, 169–179. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00224-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00224-7)
- Hackett, T.A., Barkat, T.R., O'Brien, B.M.J., Hensch, T.K., Polley, D.B., 2011. Linking topography to tonotopy in the mouse auditory thalamocortical circuit. *J Neurosci* 31, 2983–2995. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5333-10.2011>
- Haigh, S.M., Gupta, A., Barb, S.M., Glass, S.A.F., Minshew, N.J., Dinstein, I., Heeger, D.J., Eack, S.M., Behrmann, M., 2016. Differential sensory fMRI signatures in autism and schizophrenia: Analysis of amplitude and trial-to-trial variability. *Schizophr Res* 175, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2016.03.036>
- Hall, I.C., Sell, G.L., Hurley, L.M., 2011. Social regulation of serotonin in the auditory midbrain. *Behav Neurosci* 125, 501–511. <https://doi.org/10.1037/a0024426>
- Hars, B., Maho, C., Edeline, J.M., Hennevin, E., 1993. Basal forebrain stimulation facilitates tone-evoked responses in the auditory cortex of awake rat. *Neuroscience* 56, 61–74. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(93\)90562-t](https://doi.org/10.1016/0306-4522(93)90562-t)
- Heinrichs, M., Baumgartner, T., Kirschbaum, C., Ehlert, U., 2003. Social support and oxytocin interact to suppress cortisol and subjective responses to psychosocial stress. *Biol Psychiatry* 54, 1389–1398. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(03\)00465-7](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(03)00465-7)
- Henry, K.R., Chole, R.A., 1980. Genotypic differences in behavioral, physiological and anatomical expressions of age-related hearing loss in the laboratory mouse. *Audiology* 19, 369–383. <https://doi.org/10.3109/00206098009070071>
- Henschke, J.U., Noesselt, T., Scheich, H., Budinger, E., 2015. Possible anatomical pathways for short-latency multisensory integration processes in primary sensory cortices. *Brain Struct Funct* 220, 955–977. <https://doi.org/10.1007/s00429-013-0694-4>
- Higashida, H., Hashii, M., Tanaka, Y., Matsukawa, S., Higuchi, Y., Gabata, R., Tsubomoto, M., Seishima, N., Teramachi, M., Kamijima, T., Hattori, T., Hori, O., Tsuji, C., Cherepanov, S.M., Shabalova, A.A., Gerasimenko, M., Minami, K., Yokoyama, S., Munesue, S.-I., Harashima, A., Yamamoto, Y., Salmina, A.B., Lopatina, O., 2019. CD38, CD157, and RAGE as Molecular Determinants for Social Behavior. *Cells* 9, E62. <https://doi.org/10.3390/cells9010062>
- Higashida, H., Hashii, M., Yokoyama, S., Hoshi, N., Chen, X.L., Egorova, A., Noda, M., Zhang, J.S., 2001. Cyclic ADP-ribose as a second messenger revisited from a new aspect of signal transduction from receptors to ADP-ribosyl cyclase. *Pharmacol Ther* 90, 283–296. [https://doi.org/10.1016/s0163-7258\(01\)00142-5](https://doi.org/10.1016/s0163-7258(01)00142-5)
- Higashida, H., Yokoyama, S., Huang, J.-J., Liu, L., Ma, W.-J., Akther, S., Higashida, C., Kikuchi, M., Minabe, Y., Munesue, T., 2012a. Social memory, amnesia, and autism: brain oxytocin secretion is regulated by NAD<sup>+</sup> metabolites and single nucleotide polymorphisms of CD38. *Neurochem Int* 61, 828–838. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.01.030>
- Higashida, H., Yokoyama, S., Kikuchi, M., Munesue, T., 2012b. CD38 and its role in oxytocin secretion and social behavior. *Horm Behav* 61, 351–358. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2011.12.011>

- Hockey, L.N., Kilpatrick, B.S., Eden, E.R., Lin-Moshier, Y., Brailoiu, G.C., Brailoiu, E., Futter, C.E., Schapira, A.H., Marchant, J.S., Patel, S., 2015. Dysregulation of lysosomal morphology by pathogenic LRRK2 is corrected by TPC2 inhibition. *J Cell Sci* 128, 232–238. <https://doi.org/10.1242/jcs.164152>
- Hollander, E., Bartz, J., Chaplin, W., Phillips, A., Sumner, J., Soorya, L., Anagnostou, E., Wasserman, S., 2007. Oxytocin increases retention of social cognition in autism. *Biol Psychiatry* 61, 498–503. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.05.030>
- Hollander, E., Novotny, S., Hanratty, M., Yaffe, R., DeCaria, C.M., Aronowitz, B.R., Mosovich, S., 2003. Oxytocin infusion reduces repetitive behaviors in adults with autistic and Asperger's disorders. *Neuropsychopharmacology* 28, 193–198. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300021>
- Horie, M., Tsukano, H., Hishida, R., Takebayashi, H., Shibuki, K., 2013. Dual compartments of the ventral division of the medial geniculate body projecting to the core region of the auditory cortex in C57BL/6 mice. *Neurosci Res* 76, 207–212. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2013.05.004>
- Horton, J.S., Wakano, C.T., Speck, M., Stokes, A.J., 2015. Two-pore channel 1 interacts with citron kinase, regulating completion of cytokinesis. *Channels (Austin)* 9, 21–29. <https://doi.org/10.4161/19336950.2014.978676>
- Houser, C.R., Crawford, G.D., Salvaterra, P.M., Vaughn, J.E., 1985. Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase in rat cerebral cortex: a study of cholinergic neurons and synapses. *J Comp Neurol* 234, 17–34. <https://doi.org/10.1002/cne.902340103>
- Hoyt, J.M., Perkel, D.J., Portfors, C.V., 2019. Dopamine Acts via D2-Like Receptors to Modulate Auditory Responses in the Inferior Colliculus. *eNeuro* 6, ENEURO.0350-19.2019. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0350-19.2019>
- Hrabovszky, E., Kalló, I., Steinhauser, A., Merchenthaler, I., Coen, C.W., Petersen, S.L., Liposits, Z., 2004. Estrogen receptor-beta in oxytocin and vasopressin neurons of the rat and human hypothalamus: Immunocytochemical and in situ hybridization studies. *J Comp Neurol* 473, 315–333. <https://doi.org/10.1002/cne.20127>
- Huang, C.L., Winer, J.A., 2000. Auditory thalamocortical projections in the cat: laminar and areal patterns of input. *J Comp Neurol* 427, 302–331. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20001113\)427:2<302::aid-cne10>3.0.co;2-j](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20001113)427:2<302::aid-cne10>3.0.co;2-j)
- Huetz, C., Del Negro, C., Lebas, N., Tarroux, P., Edeline, J.-M., 2006. Contribution of spike timing to the information transmitted by HVC neurons. *Eur J Neurosci* 24, 1091–1108. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04967.x>
- Huetz, C., Gourévitch, B., Edeline, J.-M., 2011. Neural codes in the thalamocortical auditory system: from artificial stimuli to communication sounds. *Hear Res* 271, 147–158. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2010.01.010>
- Huetz, C., Philibert, B., Edeline, J.-M., 2009. A spike-timing code for discriminating conspecific vocalizations in the thalamocortical system of anesthetized and awake guinea pigs. *J Neurosci* 29, 334–350. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3269-08.2009>
- Hung, L.W., Neuner, S., Polepalli, J.S., Beier, K.T., Wright, M., Walsh, J.J., Lewis, E.M., Luo, L., Deisseroth, K., Dölen, G., Malenka, R.C., 2017. Gating of social reward by oxytocin in the ventral tegmental area. *Science* 357, 1406–1411. <https://doi.org/10.1126/science.aan4994>
- Hurley, L.M., Pollak, G.D., 2005a. Serotonin modulates responses to species-specific vocalizations in the inferior colliculus. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 191, 535–546. <https://doi.org/10.1007/s00359-005-0623-y>
- Hurley, L.M., Pollak, G.D., 2005b. Serotonin shifts first-spike latencies of inferior colliculus neurons. *J Neurosci* 25, 7876–7886. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1178-05.2005>
- Hurley, L.M., Pollak, G.D., 2001. Serotonin effects on frequency tuning of inferior colliculus neurons. *J Neurophysiol* 85, 828–842. <https://doi.org/10.1152/jn.2001.85.2.828>
- Hurley, L.M., Pollak, G.D., 1999. Serotonin differentially modulates responses to tones and frequency-modulated sweeps in the inferior colliculus. *J Neurosci* 19, 8071–8082.
- Husarova, V.M., Lakatosova, S., Pivovarciova, A., Babinska, K., Bakos, J., Durdiakova, J., Kubranska, A., Ondrejka, I., Ostatnikova, D., 2016a. Plasma Oxytocin in Children with Autism and Its Correlations with Behavioral Parameters in Children and Parents. *Psychiatry Investig* 13, 174–183. <https://doi.org/10.4306/pi.2016.13.2.174>

- Husarova, V.M., Lakatosova, S., Pivovarciova, A., Babinska, K., Bakos, J., Durdiakova, J., Kubranska, A., Ondrejka, I., Ostatnikova, D., 2016b. Plasma Oxytocin in Children with Autism and Its Correlations with Behavioral Parameters in Children and Parents. *Psychiatry Investig* 13, 174–183. <https://doi.org/10.4306/pi.2016.13.2.174>
- Imig, T.J., Morel, A., Kauer, C.D., 1982. Covariation of distributions of callosal cell bodies and callosal axon terminals in layer III of cat primary auditory cortex. *Brain Res* 251, 157–159. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(82\)91283-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(82)91283-5)
- Insel, T.R., 1992. Oxytocin--a neuropeptide for affiliation: evidence from behavioral, receptor autoradiographic, and comparative studies. *Psychoneuroendocrinology* 17, 3–35. [https://doi.org/10.1016/0306-4530\(92\)90073-g](https://doi.org/10.1016/0306-4530(92)90073-g)
- Insel, T.R., 1986. Postpartum increases in brain oxytocin binding. *Neuroendocrinology* 44, 515–518. <https://doi.org/10.1159/000124694>
- Insel, T.R., Gelhard, R., Shapiro, L.E., 1991. The comparative distribution of forebrain receptors for neurohypophyseal peptides in monogamous and polygamous mice. *Neuroscience* 43, 623–630. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(91\)90321-e](https://doi.org/10.1016/0306-4522(91)90321-e)
- Insel, T.R., Shapiro, L.E., 1992. Oxytocin receptor distribution reflects social organization in monogamous and polygamous voles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 5981–5985. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.13.5981>
- Issa, J.B., Haeffele, B.D., Agarwal, A., Bergles, D.E., Young, E.D., Yue, D.T., 2014. Multiscale optical Ca<sup>2+</sup> imaging of tonal organization in mouse auditory cortex. *Neuron* 83, 944–959. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.07.009>
- Jaramillo, S., Zador, A.M., 2011. The auditory cortex mediates the perceptual effects of acoustic temporal expectation. *Nat Neurosci* 14, 246–251. <https://doi.org/10.1038/nn.2688>
- Jezova, D., Skultetyova, I., Tokarev, D.I., Bakos, P., Vigas, M., 1995. Vasopressin and oxytocin in stress. *Ann N Y Acad Sci* 771, 192–203. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1995.tb44681.x>
- Ji, X.-Y., Zingg, B., Mesik, L., Xiao, Z., Zhang, L.I., Tao, H.W., 2016. Thalamocortical Innervation Pattern in Mouse Auditory and Visual Cortex: Laminar and Cell-Type Specificity. *Cereb Cortex* 26, 2612–2625. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhv099>
- Jin, D., Liu, H.-X., Hirai, H., Torashima, T., Nagai, T., Lopatina, O., Shnayder, N.A., Yamada, K., Noda, M., Seike, T., Fujita, K., Takasawa, S., Yokoyama, S., Koizumi, K., Shiraiishi, Y., Tanaka, S., Hashii, M., Yoshihara, T., Higashida, K., Islam, M.S., Yamada, N., Hayashi, K., Noguchi, N., Kato, I., Okamoto, H., Matsushima, A., Salmina, A., Munesue, T., Shimizu, N., Mochida, S., Asano, M., Higashida, H., 2007. CD38 is critical for social behaviour by regulating oxytocin secretion. *Nature* 446, 41–45. <https://doi.org/10.1038/nature05526>
- Joachimsthaler, B., Uhlmann, M., Miller, F., Ehret, G., Kurt, S., 2014. Quantitative analysis of neuronal response properties in primary and higher-order auditory cortical fields of awake house mice (*Mus musculus*). *Eur J Neurosci* 39, 904–918. <https://doi.org/10.1111/ejn.12478>
- Jones, E.G., 1991. The anatomy of sensory relay functions in the thalamus. *Prog Brain Res* 87, 29–52. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)63046-0](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)63046-0)
- Jones, P.M., Robinson, I.C., 1982. Differential clearance of neurophysin and neurohypophysial peptides from the cerebrospinal fluid in conscious guinea pigs. *Neuroendocrinology* 34, 297–302. <https://doi.org/10.1159/000123316>
- Joris, P.X., Schreiner, C.E., Rees, A., 2004. Neural processing of amplitude-modulated sounds. *Physiol Rev* 84, 541–577. <https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2003>
- Jurek, B., Neumann, I.D., 2018. The Oxytocin Receptor: From Intracellular Signaling to Behavior. *Physiol Rev* 98, 1805–1908. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2017>
- Karpova, I.V., Mikheev, V.V., Marysheva, V.V., Bychkov, E.R., Proshin, S.N., 2016. Oxytocin-Induced Changes in Monoamine Level in Symmetric Brain Structures of Isolated Aggressive C57Bl/6 Mice. *Bull Exp Biol Med* 160, 605–609. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3228-2>
- Keebaugh, A.C., Barrett, C.E., Laprairie, J.L., Jenkins, J.J., Young, L.J., 2015. RNAi knockdown of oxytocin receptor in the nucleus accumbens inhibits social attachment and parental care in monogamous female prairie voles. *Soc Neurosci* 10, 561–570. <https://doi.org/10.1080/17470919.2015.1040893>
- Keesom, S.M., Hurley, L.M., 2016. Socially induced serotonergic fluctuations in the male auditory midbrain correlate with female behavior during courtship. *J Neurophysiol* 115, 1786–1796. <https://doi.org/10.1152/jn.00742.2015>

- Kelly, J.P., Wong, D., 1981. Laminae connections of the cat's auditory cortex. *Brain Res* 212, 1–15. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)90027-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)90027-5)
- Kendrick, K.M., Guastella, A.J., Becker, B., 2018. Overview of Human Oxytocin Research. *Curr Top Behav Neurosci* 35, 321–348. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2017\\_19](https://doi.org/10.1007/7854_2017_19)
- Khan, S.Y., Riazuddin, Saima, Tariq, M., Anwar, S., Shabbir, M.I., Riazuddin, S.A., Khan, S.N., Husnain, T., Ahmed, Z.M., Friedman, T.B., Riazuddin, Sheikh, 2007. Autosomal recessive nonsyndromic deafness locus DFNB63 at chromosome 11q13.2-q13.3. *Hum Genet* 120, 789–793. <https://doi.org/10.1007/s00439-006-0275-1>
- Khoo, K.M., Chang, C.F., 1999. Characterization and localization of CD38 in the vertebrate eye. *Brain Res* 821, 17–25. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(98\)01347-X](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)01347-X)
- Khoo, K.M., Han, M.K., Park, J.B., Chae, S.W., Kim, U.H., Lee, H.C., Bay, B.H., Chang, C.F., 2000. Localization of the cyclic ADP-ribose-dependent calcium signaling pathway in hepatocyte nucleus. *J Biol Chem* 275, 24807–24817. <https://doi.org/10.1074/jbc.M908231199>
- Kilgard, M.P., Merzenich, M.M., 1998a. Cortical map reorganization enabled by nucleus basalis activity. *Science* 279, 1714–1718. <https://doi.org/10.1126/science.279.5357.1714>
- Kilgard, M.P., Merzenich, M.M., 1998b. Plasticity of temporal information processing in the primary auditory cortex. *Nat Neurosci* 1, 727–731. <https://doi.org/10.1038/3729>
- Kim, S.-Y., Cho, B.H., Kim, U.-H., 2010. CD38-mediated Ca<sup>2+</sup> signaling contributes to angiotensin II-induced activation of hepatic stellate cells: attenuation of hepatic fibrosis by CD38 ablation. *J Biol Chem* 285, 576–582. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.076216>
- Kim, Y., Venkataraju, K.U., Pradhan, K., Mende, C., Taranda, J., Turaga, S.C., Arganda-Carreras, I., Ng, L., Hawrylycz, M.J., Rockland, K.S., Seung, H.S., Osten, P., 2015. Mapping social behavior-induced brain activation at cellular resolution in the mouse. *Cell Rep* 10, 292–305. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.12.014>
- Kimura, A., 2020. Cross-modal modulation of cell activity by sound in first-order visual thalamic nucleus. *J Comp Neurol* 528, 1917–1941. <https://doi.org/10.1002/cne.24865>
- Klepper, A., Herbert, H., 1991. Distribution and origin of noradrenergic and serotonergic fibers in the cochlear nucleus and inferior colliculus of the rat. *Brain Res* 557, 190–201. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)90134-h](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)90134-h)
- Knobloch, H.S., Charlet, A., Hoffmann, L.C., Eliava, M., Khrluev, S., Cetin, A.H., Osten, P., Schwarz, M.K., Seeburg, P.H., Stoop, R., Grinevich, V., 2012. Evoked axonal oxytocin release in the central amygdala attenuates fear response. *Neuron* 73, 553–566. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.11.030>
- Kogan, J.H., Frankland, P.W., Silva, A.J., 2000. Long-term memory underlying hippocampus-dependent social recognition in mice. *Hippocampus* 10, 47–56. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(2000\)10:1<47::AID-HIPO5>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(2000)10:1<47::AID-HIPO5>3.0.CO;2-6)
- Koguma, T., Takasawa, S., Tohgo, A., Karasawa, T., Furuya, Y., Yonekura, H., Okamoto, H., 1994. Cloning and characterization of cDNA encoding rat ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase (homologue to human CD38) from islets of Langerhans. *Biochim Biophys Acta* 1223, 160–162. [https://doi.org/10.1016/0167-4889\(94\)90087-6](https://doi.org/10.1016/0167-4889(94)90087-6)
- Kössl, M., Vater, M., 1989. Noradrenaline enhances temporal auditory contrast and neuronal timing precision in the cochlear nucleus of the mustached bat. *J Neurosci* 9, 4169–4178.
- Kruglikov, I., Rudy, B., 2008. Perisomatic GABA release and thalamocortical integration onto neocortical excitatory cells are regulated by neuromodulators. *Neuron* 58, 911–924. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.04.024>
- Landgraf, R., Ludwig, M., 1991. Vasopressin release within the supraoptic and paraventricular nuclei of the rat brain: osmotic stimulation via microdialysis. *Brain Res* 558, 191–196. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)90768-q](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)90768-q)
- Landgraf, R., Neumann, I., Pittman, Q.J., 1991. Septal and hippocampal release of vasopressin and oxytocin during late pregnancy and parturition in the rat. *Neuroendocrinology* 54, 378–383. <https://doi.org/10.1159/000125917>
- Laudanski, J., Edeline, J.-M., Huetz, C., 2012. Differences between spectro-temporal receptive fields derived from artificial and natural stimuli in the auditory cortex. *PLoS One* 7, e50539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050539>

- Lecas, J.-C., 2004. Locus coeruleus activation shortens synaptic drive while decreasing spike latency and jitter in sensorimotor cortex. Implications for neuronal integration. *Eur J Neurosci* 19, 2519–2530. <https://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2004.03341.x>
- Lee, H.C., 2012. Cyclic ADP-ribose and nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate (NAADP) as messengers for calcium mobilization. *J Biol Chem* 287, 31633–31640. <https://doi.org/10.1074/jbc.R112.349464>
- Lee, H.C., 2001. Physiological functions of cyclic ADP-ribose and NAADP as calcium messengers. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41, 317–345. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.41.1.317>
- Lee, H.C., 2000. Enzymatic functions and structures of CD38 and homologs. *Chem Immunol* 75, 39–59. <https://doi.org/10.1159/000058774>
- Lee, H.C., 1999. A unified mechanism of enzymatic synthesis of two calcium messengers: cyclic ADP-ribose and NAADP. *Biol Chem* 380, 785–793. <https://doi.org/10.1515/BC.1999.098>
- Lee, H.C., Munshi, C., Graeff, R., 1999. Structures and activities of cyclic ADP-ribose, NAADP and their metabolic enzymes. *Mol Cell Biochem* 193, 89–98. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8740-2\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8740-2_13)
- Lee, H.C., Zhao, Y.J., 2019. Resolving the topological enigma in Ca<sup>2+</sup> signaling by cyclic ADP-ribose and NAADP. *J Biol Chem* 294, 19831–19843. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.009635>
- Lee, H.-J., Caldwell, H.K., Macbeth, A.H., Tolu, S.G., Young, W.S., 2008. A conditional knockout mouse line of the oxytocin receptor. *Endocrinology* 149, 3256–3263. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1710>
- Lee, H.-J., Macbeth, A.H., Pagani, J.H., Young, W.S., 2009. Oxytocin: the great facilitator of life. *Prog Neurobiol* 88, 127–151. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2009.04.001>
- Lee, K.K.Y., Soutar, C.N., Dringenberg, H.C., 2018. Gating of long-term potentiation (LTP) in the thalamocortical auditory system of rats by serotonergic (5-HT) receptors. *Brain Res* 1683, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.01.004>
- Legros, J.J., 2001. Inhibitory effect of oxytocin on corticotrope function in humans: are vasopressin and oxytocin ying-yang neurohormones? *Psychoneuroendocrinology* 26, 649–655. [https://doi.org/10.1016/s0306-4530\(01\)00018-x](https://doi.org/10.1016/s0306-4530(01)00018-x)
- Lepistö, T., Kuitunen, A., Sussman, E., Saalasti, S., Jansson-Verkasalo, E., Nieminen-von Wendt, T., Kujala, T., 2009. Auditory stream segregation in children with Asperger syndrome. *Biol Psychol* 82, 301–307. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2009.09.004>
- Li, K., Nakajima, M., Ibañez-Tallon, I., Heintz, N., 2016. A Cortical Circuit for Sexually Dimorphic Oxytocin-Dependent Anxiety Behaviors. *Cell* 167, 60–72.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.067>
- Lin, F.G., Liu, R.C., 2010. Subset of thin spike cortical neurons preserve the peripheral encoding of stimulus onsets. *J Neurophysiol* 104, 3588–3599. <https://doi.org/10.1152/jn.00295.2010>
- Lin, P.-H., Duann, P., Komazaki, S., Park, K.H., Li, H., Sun, M., Sermersheim, M., Gumpfer, K., Parrington, J., Galione, A., Evans, A.M., Zhu, M.X., Ma, J., 2015. Lysosomal Two-pore Channel Subtype 2 (TPC2) Regulates Skeletal Muscle Autophagic Signaling. *J Biol Chem* 290, 3377–3389. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.608471>
- Lin, W.K., Bolton, E.L., Cortopassi, W.A., Wang, Y., O'Brien, F., Maciejewska, M., Jacobson, M.P., Garnham, C., Ruas, M., Parrington, J., Lei, M., Sitsapesan, R., Galione, A., Terrar, D.A., 2017. Synthesis of the Ca<sup>2+</sup>-mobilizing messengers NAADP and cADPR by intracellular CD38 enzyme in the mouse heart: Role in  $\beta$ -adrenoceptor signaling. *J Biol Chem* 292, 13243–13257. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.789347>
- Linke, R., Schwegler, H., 2000. Convergent and complementary projections of the caudal paralaminar thalamic nuclei to rat temporal and insular cortex. *Cereb Cortex* 10, 753–771. <https://doi.org/10.1093/cercor/10.8.753>
- Liu, J., Zhao, Y.J., Li, W.H., Hou, Y.N., Li, T., Zhao, Z.Y., Fang, C., Li, S.L., Lee, H.C., 2017. Cytosolic interaction of type III human CD38 with CIB1 modulates cellular cyclic ADP-ribose levels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114, 8283–8288. <https://doi.org/10.1073/pnas.1703718114>
- Liu, R.C., Linden, J.F., Schreiner, C.E., 2006. Improved cortical entrainment to infant communication calls in mothers compared with virgin mice. *Eur J Neurosci* 23, 3087–3097. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04840.x>
- Liu, R.C., Schreiner, C.E., 2007. Auditory cortical detection and discrimination correlates with communicative significance. *PLoS Biol* 5, e173. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050173>

- Llano, D.A., Sherman, S.M., 2008. Evidence for nonreciprocal organization of the mouse auditory thalamocortical-corticothalamic projection systems. *J Comp Neurol* 507, 1209–1227. <https://doi.org/10.1002/cne.21602>
- Lu, Y., Hao, B., Graeff, R., Yue, J., 2013. NAADP/TPC2/Ca(2+) Signaling Inhibits Autophagy. *Commun Integr Biol* 6, e27595. <https://doi.org/10.4161/cib.27595>
- Ludwig, M., Leng, G., 2006. Dendritic peptide release and peptide-dependent behaviours. *Nat Rev Neurosci* 7, 126–136. <https://doi.org/10.1038/nrn1845>
- Macbeth, A.H., Lee, H.-J., Edds, J., Young, W.S., 2009. Oxytocin and the oxytocin receptor underlie intrastrain, but not interstrain, social recognition. *Genes Brain Behav* 8, 558–567. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2009.00506.x>
- Macbeth, A.H., Stepp, J.E., Lee, H.-J., Young, W.S., Caldwell, H.K., 2010. Normal maternal behavior, but increased pup mortality, in conditional oxytocin receptor knockout females. *Behav Neurosci* 124, 677–685. <https://doi.org/10.1037/a0020799>
- Machens, C.K., Wehr, M.S., Zador, A.M., 2004. Linearity of cortical receptive fields measured with natural sounds. *J Neurosci* 24, 1089–1100. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4445-03.2004>
- Malmierca, M.S., 2003. The structure and physiology of the rat auditory system: an overview. *Int Rev Neurobiol* 56, 147–211. [https://doi.org/10.1016/s0074-7742\(03\)56005-6](https://doi.org/10.1016/s0074-7742(03)56005-6)
- Malmierca, M.S., Leergaard, T.B., Bajo, V.M., Bjaalie, J.G., Merchán, M.A., 1998. Anatomic evidence of a three-dimensional mosaic pattern of tonotopic organization in the ventral complex of the lateral lemniscus in cat. *J Neurosci* 18, 10603–10618.
- Malmierca, M.S., Ryugo, D.K., 2011. Descending Connections of Auditory Cortex to the Midbrain and Brain Stem., in: *The Auditory Cortex* (Eds. Winer, J. A. and Schreiner, C. E.). Springer, New York, pp. 189–208.
- Manunta, Y., Edeline, J.-M., 2004. Noradrenergic induction of selective plasticity in the frequency tuning of auditory cortex neurons. *J Neurophysiol* 92, 1445–1463. <https://doi.org/10.1152/jn.00079.2004>
- Manunta, Y., Edeline, J.M., 1999. Effects of noradrenaline on frequency tuning of auditory cortex neurons during wakefulness and slow-wave sleep. *Eur J Neurosci* 11, 2134–2150. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1999.00633.x>
- Manunta, Y., Edeline, J.M., 1997. Effects of noradrenaline on frequency tuning of rat auditory cortex neurons. *Eur. J. Neurosci.* 9, 833–847. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1997.tb01433.x>
- Marchant, J.S., Patel, S., 2015. Two-pore channels at the intersection of endolysosomal membrane traffic. *Biochem Soc Trans* 43, 434–441. <https://doi.org/10.1042/BST20140303>
- Marlin, B.J., Mitre, M., D'amour, J.A., Chao, M.V., Froemke, R.C., 2015. Oxytocin enables maternal behaviour by balancing cortical inhibition. *Nature* 520, 499–504. <https://doi.org/10.1038/nature14402>
- Martucci, L.L., Amar, M., Chausseot, R., Benet, G., Bauer, O., de Zélicourt, A., Nosjean, A., Launay, J.-M., Callebert, J., Sebré, C., Galione, A., Edeline, J.-M., de la Porte, S., Fossier, P., Granon, S., Vaillend, C., Cancela, J.-M., 2019. A multiscale analysis in CD38-/- mice unveils major prefrontal cortex dysfunctions. *FASEB J* 33, 5823–5835. <https://doi.org/10.1096/fj.201800489R>
- Massaux, A., Dutrieux, G., Cotillon-Williams, N., Manunta, Y., Edeline, J.-M., 2004. Auditory thalamus bursts in anesthetized and non-anesthetized states: contribution to functional properties. *J Neurophysiol* 91, 2117–2134. <https://doi.org/10.1152/jn.00970.2003>
- McCarthy, M.M., 1990. Oxytocin inhibits infanticide in female house mice (*Mus domesticus*). *Horm Behav* 24, 365–375. [https://doi.org/10.1016/0018-506x\(90\)90015-p](https://doi.org/10.1016/0018-506x(90)90015-p)
- McCarthy, M.M., Bare, J.E., vom Saal, F.S., 1986. Infanticide and parental behavior in wild female house mice: effects of ovariectomy, adrenalectomy and administration of oxytocin and prostaglandin F2 alpha. *Physiol Behav* 36, 17–23. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(86\)90066-1](https://doi.org/10.1016/0031-9384(86)90066-1)
- McKenna, T.M., Ashe, J.H., Weinberger, N.M., 1989. Cholinergic modulation of frequency receptive fields in auditory cortex: I. Frequency-specific effects of muscarinic agonists. *Synapse* 4, 30–43. <https://doi.org/10.1002/syn.890040105>

- Mendelson, J.R., Cynader, M.S., 1985. Sensitivity of cat primary auditory cortex (AI) neurons to the direction and rate of frequency modulation. *Brain Res* 327, 331–335. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)91530-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91530-6)
- Mendelson, J.R., Schreiner, C.E., Sutter, M.L., Grasse, K.L., 1993. Functional topography of cat primary auditory cortex: responses to frequency-modulated sweeps. *Exp Brain Res* 94, 65–87. <https://doi.org/10.1007/BF00230471>
- Meng, X., Winkowski, D.E., Kao, J.P.Y., Kanold, P.O., 2017. Sublaminar Subdivision of Mouse Auditory Cortex Layer 2/3 Based on Functional Translaminar Connections. *J Neurosci* 37, 10200–10214. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1361-17.2017>
- Menteyne, A., Burdakov, A., Charpentier, G., Petersen, O.H., Cancela, J.-M., 2006. Generation of specific Ca(2+) signals from Ca(2+) stores and endocytosis by differential coupling to messengers. *Curr Biol* 16, 1931–1937. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.07.070>
- Mesulam, M.M., Geula, C., 1988. Nucleus basalis (Ch4) and cortical cholinergic innervation in the human brain: observations based on the distribution of acetylcholinesterase and choline acetyltransferase. *J Comp Neurol* 275, 216–240. <https://doi.org/10.1002/cne.902750205>
- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Levey, A.I., Wainer, B.H., 1984a. Atlas of cholinergic neurons in the forebrain and upper brainstem of the macaque based on monoclonal choline acetyltransferase immunohistochemistry and acetylcholinesterase histochemistry. *Neuroscience* 12, 669–686. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(84\)90163-5](https://doi.org/10.1016/0306-4522(84)90163-5)
- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Levey, A.I., Wainer, B.H., 1983a. Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata), and hypothalamus in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 214, 170–197. <https://doi.org/10.1002/cne.902140206>
- Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Wainer, B.H., Levey, A.I., 1983b. Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1–Ch6). *Neuroscience* 10, 1185–1201. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(83\)90108-2](https://doi.org/10.1016/0306-4522(83)90108-2)
- Mesulam, M.M., Rosen, A.D., Mufson, E.J., 1984b. Regional variations in cortical cholinergic innervation: chemoarchitectonics of acetylcholinesterase-containing fibers in the macaque brain. *Brain Res* 311, 245–258. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)90087-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)90087-8)
- Metherate, R., Ashe, J.H., 1991. Basal forebrain stimulation modifies auditory cortex responsiveness by an action at muscarinic receptors. *Brain Res* 559, 163–167. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)90301-b](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)90301-b)
- Metherate, R., Ashe, J.H., Weinberger, N.M., 1990. Acetylcholine modifies neuronal acoustic rate-level functions in guinea pig auditory cortex by an action at muscarinic receptors. *Synapse* 6, 364–368. <https://doi.org/10.1002/syn.890060409>
- Meyer, C., Freund-Mercier, M.J., Guerné, Y., Richard, P., 1987. Relationship between oxytocin release and amplitude of oxytocin cell neurosecretory bursts during suckling in the rat. *J Endocrinol* 114, 263–270. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1140263>
- Meyer-Lindenberg, A., Domes, G., Kirsch, P., Heinrichs, M., 2011. Oxytocin and vasopressin in the human brain: social neuropeptides for translational medicine. *Nat Rev Neurosci* 12, 524–538. <https://doi.org/10.1038/nrn3044>
- Mezey, E., Kiss, J.Z., 1991. Coexpression of vasopressin and oxytocin in hypothalamic supraoptic neurons of lactating rats. *Endocrinology* 129, 1814–1820. <https://doi.org/10.1210/endo-129-4-1814>
- Mikaelian, D.O., Warfield, D., Norris, O., 1974a. Genetic progressive hearing loss in the C57-b16 mouse. Relation of behavioral responses to cochlear anatomy. *Acta Otolaryngol.* 77, 327–334. <https://doi.org/10.3109/00016487409124632>
- Mikaelian, D.O., Warfield, D., Norris, O., 1974b. Genetic progressive hearing loss in the C57-b16 mouse. Relation of behavioral responses to cochlear anatomy. *Acta Otolaryngol* 77, 327–334. <https://doi.org/10.3109/00016487409124632>
- Miko, I.J., Sanes, D.H., 2009. Transient gain adjustment in the inferior colliculus is serotonin- and calcium-dependent. *Hear Res* 251, 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2009.02.003>
- Minneman, K.P., 1988. Alpha 1-adrenergic receptor subtypes, inositol phosphates, and sources of cell Ca<sup>2+</sup>. *Pharmacol Rev* 40, 87–119.

- Minneman, K.P., Pittman, R.N., Molinoff, P.B., 1981. Beta-adrenergic receptor subtypes: properties, distribution, and regulation. *Annu Rev Neurosci* 4, 419–461. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.04.030181.002223>
- Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., Caron, M.G., 1998. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 78, 189–225. <https://doi.org/10.1152/physrev.1998.78.1.189>
- Mitre, M., Marlin, B.J., Schiavo, J.K., Morina, E., Norden, S.E., Hackett, T.A., Aoki, C.J., Chao, M.V., Froemke, R.C., 2016. A Distributed Network for Social Cognition Enriched for Oxytocin Receptors. *J Neurosci* 36, 2517–2535. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2409-15.2016>
- Mizuguchi, M., Otsuka, N., Sato, M., Ishii, Y., Kon, S., Yamada, M., Nishina, H., Katada, T., Ikeda, K., 1995. Neuronal localization of CD38 antigen in the human brain. *Brain Res* 697, 235–240. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00885-t](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00885-t)
- Modahl, C., Green, L., Fein, D., Morris, M., Waterhouse, L., Feinstein, C., Levin, H., 1998. Plasma oxytocin levels in autistic children. *Biol Psychiatry* 43, 270–277. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(97\)00439-3](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(97)00439-3)
- Mohr, E., Schmitz, E., 1991. Functional characterization of estrogen and glucocorticoid responsive elements in the rat oxytocin gene. *Brain Res Mol Brain Res* 9, 293–298. [https://doi.org/10.1016/0169-328x\(91\)90075-9](https://doi.org/10.1016/0169-328x(91)90075-9)
- Morgan, A.J., Galione, A., 2014. Two-pore channels (TPCs): current controversies. *Bioessays* 36, 173–183. <https://doi.org/10.1002/bies.201300118>
- Mottolèse, R., Redouté, J., Costes, N., Le Bars, D., Sirigu, A., 2014. Switching brain serotonin with oxytocin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111, 8637–8642. <https://doi.org/10.1073/pnas.1319810111>
- Moy, S.S., Nadler, J.J., Perez, A., Barbaro, R.P., Johns, J.M., Magnuson, T.R., Piven, J., Crawley, J.N., 2004. Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice. *Genes Brain Behav* 3, 287–302. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1848.2004.00076.x>
- Mühlethaler, M., Charpak, S., Dreifuss, J.J., 1984. Contrasting effects of neurohypophysial peptides on pyramidal and non-pyramidal neurones in the rat hippocampus. *Brain Res* 308, 97–107. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)90921-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)90921-1)
- Munesue, S.-I., Liang, M., Harashima, A., Zhong, J., Furuhashi, K., Boitsova, E.B., Cherepanov, S.M., Gerasimenko, M., Yuhi, T., Yamamoto, Y., Higashida, H., 2021. Transport of oxytocin to the brain after peripheral administration by membrane-bound or soluble forms of receptors for advanced glycation end-products. *J Neuroendocrinol* 33, e12963. <https://doi.org/10.1111/jne.12963>
- Munesue, T., Yokoyama, S., Nakamura, K., Anitha, A., Yamada, K., Hayashi, K., Asaka, T., Liu, H.-X., Jin, D., Koizumi, K., Islam, M.S., Huang, J.-J., Ma, W.-J., Kim, U.-H., Kim, S.-J., Park, K., Kim, D., Kikuchi, M., Ono, Y., Nakatani, H., Suda, S., Miyachi, T., Hirai, H., Salmina, A., Pichugina, Y.A., Soumarokov, A.A., Takei, N., Mori, N., Tsujii, M., Sugiyama, T., Yagi, K., Yamagishi, M., Sasaki, T., Yamasue, H., Kato, N., Hashimoto, R., Taniike, M., Hayashi, Y., Hamada, J., Suzuki, S., Ooi, A., Noda, M., Kamiyama, Y., Kido, M.A., Lopatina, O., Hashii, M., Amina, S., Malavasi, F., Huang, E.J., Zhang, J., Shimizu, N., Yoshikawa, T., Matsushima, A., Minabe, Y., Higashida, H., 2010. Two genetic variants of CD38 in subjects with autism spectrum disorder and controls. *Neurosci Res* 67, 181–191. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2010.03.004>
- Nakajima, M., Görlich, A., Heintz, N., 2014. Oxytocin modulates female sociosexual behavior through a specific class of prefrontal cortical interneurons. *Cell* 159, 295–305. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.020>
- Nam, T.-S., Park, D.-R., Rah, S.-Y., Woo, T.-G., Chung, H.T., Brenner, C., Kim, U.-H., 2020. Interleukin-8 drives CD38 to form NAADP from NADP+ and NAAD in the endolysosomes to mobilize Ca<sup>2+</sup> and effect cell migration. *FASEB J* 34, 12565–12576. <https://doi.org/10.1096/fj.202001249R>
- Nelken, I., Chechik, G., Mrcic-Flogel, T.D., King, A.J., Schnupp, J.W.H., 2005. Encoding stimulus information by spike numbers and mean response time in primary auditory cortex. *J Comput Neurosci* 19, 199–221. <https://doi.org/10.1007/s10827-005-1739-3>
- Nguyen, R.L., Medvedeva, Y.V., Ayyagari, T.E., Schmunk, G., Gargus, J.J., 2018. Intracellular calcium dysregulation in autism spectrum disorder: An analysis of converging organelle signaling pathways. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 1865, 1718–1732. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.08.003>

- Nishimori, K., Young, L.J., Guo, Q., Wang, Z., Insel, T.R., Matzuk, M.M., 1996. Oxytocin is required for nursing but is not essential for parturition or reproductive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 11699–11704. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.21.11699>
- Nishimura, H., Kawasaki, M., Suzuki, H., Matsuura, T., Motojima, Y., Ohnishi, H., Yamanaka, Y., Yoshimura, M., Maruyama, T., Saito, R., Ueno, H., Sonoda, S., Nishimura, K., Onaka, T., Ueta, Y., Sakai, A., 2019. Neuropathic Pain Up-Regulates Hypothalamo-Neurohypophysial and Hypothalamo-Spinal Oxytocinergic Pathways in Oxytocin-Monomeric Red Fluorescent Protein 1 Transgenic Rat. *Neuroscience* 406, 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.02.027>
- Noirot, E., 1966. Ultra-sounds in young rodents. I. Changes with age in albino mice. *Anim Behav* 14, 459–462. [https://doi.org/10.1016/s0003-3472\(66\)80045-3](https://doi.org/10.1016/s0003-3472(66)80045-3)
- Nyby, J., 1983. Ultrasonic vocalizations during sex behavior of male house mice (*Mus musculus*): a description. *Behav Neural Biol* 39, 128–134. [https://doi.org/10.1016/s0163-1047\(83\)90722-7](https://doi.org/10.1016/s0163-1047(83)90722-7)
- O'Connor, K., 2012. Auditory processing in autism spectrum disorder: a review. *Neurosci Biobehav Rev* 36, 836–854. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.11.008>
- Oettl, L.-L., Ravi, N., Schneider, M., Scheller, M.F., Schneider, P., Mitre, M., da Silva Gouveia, M., Froemke, R.C., Chao, M.V., Young, W.S., Meyer-Lindenberg, A., Grinevich, V., Shusterman, R., Kelsch, W., 2016. Oxytocin Enhances Social Recognition by Modulating Cortical Control of Early Olfactory Processing. *Neuron* 90, 609–621. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.03.033>
- Ojima, H., Honda, C.N., Jones, E.G., 1991. Patterns of axon collateralization of identified supragranular pyramidal neurons in the cat auditory cortex. *Cereb Cortex* 1, 80–94. <https://doi.org/10.1093/cercor/1.1.80>
- Okabe, S., Tsuneoka, Y., Takahashi, A., Ooyama, R., Watarai, A., Maeda, S., Honda, Y., Nagasawa, M., Mogi, K., Nishimori, K., Kuroda, M., Koide, T., Kikusui, T., 2017. Pup exposure facilitates retrieving behavior via the oxytocin neural system in female mice. *Psychoneuroendocrinology* 79, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2017.01.036>
- Otazu, G.H., Tai, L.-H., Yang, Y., Zador, A.M., 2009. Engaging in an auditory task suppresses responses in auditory cortex. *Nat Neurosci* 12, 646–654. <https://doi.org/10.1038/nn.2306>
- Owen, S.F., Tuncdemir, S.N., Bader, P.L., Tirko, N.N., Fishell, G., Tsien, R.W., 2013. Oxytocin enhances hippocampal spike transmission by modulating fast-spiking interneurons. *Nature* 500, 458–462. <https://doi.org/10.1038/nature12330>
- Padamsey, Z., McGuinness, L., Bardo, S.J., Reinhart, M., Tong, R., Hedegaard, A., Hart, M.L., Emptage, N.J., 2017. Activity-Dependent Exocytosis of Lysosomes Regulates the Structural Plasticity of Dendritic Spines. *Neuron* 93, 132–146. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.11.013>
- Papadopoulos, G.C., Parnavelas, J.G., 1991. Monoamine systems in the cerebral cortex: evidence for anatomical specificity. *Prog Neurobiol* 36, 195–200. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(91\)90030-5](https://doi.org/10.1016/0301-0082(91)90030-5)
- Parent, A., Paré, D., Smith, Y., Steriade, M., 1988. Basal forebrain cholinergic and noncholinergic projections to the thalamus and brainstem in cats and monkeys. *J Comp Neurol* 277, 281–301. <https://doi.org/10.1002/cne.902770209>
- Park, D.-R., Nam, T.-S., Kim, Y.-W., Bae, Y.S., Kim, U.-H., 2019. Oxidative activation of type III CD38 by NADPH oxidase-derived hydrogen peroxide in Ca<sup>2+</sup> signaling. *FASEB J* 33, 3404–3419. <https://doi.org/10.1096/fj.201800235R>
- Patel, S., 2015. Function and dysfunction of two-pore channels. *Sci Signal* 8, re7. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aab3314>
- Pazos, A., Cortés, R., Palacios, J.M., 1985. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. II. Serotonin-2 receptors. *Brain Res* 346, 231–249. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)90857-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)90857-1)
- Pazos, A., Palacios, J.M., 1985. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors. *Brain Res* 346, 205–230. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)90856-x](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)90856-x)
- Pedersen, C.A., Ascher, J.A., Monroe, Y.L., Prange, A.J., 1982. Oxytocin induces maternal behavior in virgin female rats. *Science* 216, 648–650. <https://doi.org/10.1126/science.7071605>

- Pedersen, C.A., Boccia, M.L., 2003. Oxytocin antagonism alters rat dams' oral grooming and upright posturing over pups. *Physiol Behav* 80, 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2003.07.011>
- Pedersen, C.A., Caldwell, J.D., Walker, C., Ayers, G., Mason, G.A., 1994. Oxytocin activates the postpartum onset of rat maternal behavior in the ventral tegmental and medial preoptic areas. *Behav Neurosci* 108, 1163–1171. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.108.6.1163>
- Pedersen, C.A., Prange, A.J., 1979. Induction of maternal behavior in virgin rats after intracerebroventricular administration of oxytocin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76, 6661–6665. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.12.6661>
- Perry, E.K., Lee, M.L., Martin-Ruiz, C.M., Court, J.A., Volsen, S.G., Merrit, J., Folly, E., Iversen, P.E., Bauman, M.L., Perry, R.H., Wenk, G.L., 2001. Cholinergic activity in autism: abnormalities in the cerebral cortex and basal forebrain. *Am J Psychiatry* 158, 1058–1066. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.158.7.1058>
- Petersson, M., Uvnäs-Moberg, K., Erhardt, S., Engberg, G., 1998. Oxytocin increases locus coeruleus alpha 2-adrenoreceptor responsiveness in rats. *Neurosci Lett* 255, 115–118. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(98\)00729-0](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(98)00729-0)
- Petrof, I., Viaene, A.N., Sherman, S.M., 2012. Two populations of corticothalamic and interareal corticocortical cells in the subgranular layers of the mouse primary sensory cortices. *J Comp Neurol* 520, 1678–1686. <https://doi.org/10.1002/cne.23006>
- Portfors, C.V., Roberts, P.D., Jonson, K., 2009. Over-representation of species-specific vocalizations in the awake mouse inferior colliculus. *Neuroscience* 162, 486–500. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.04.056>
- Pytliak, M., Vargová, V., Mechírová, V., Felšöci, M., 2011. Serotonin receptors - from molecular biology to clinical applications. *Physiol Res* 60, 15–25. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931903>
- Raam, T., McAvoy, K.M., Besnard, A., Veenema, A.H., Sahay, A., 2017. Hippocampal oxytocin receptors are necessary for discrimination of social stimuli. *Nat Commun* 8, 2001. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02173-0>
- Rah, S.-Y., Mushtaq, M., Nam, T.-S., Kim, S.H., Kim, U.-H., 2010. Generation of cyclic ADP-ribose and nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate by CD38 for Ca<sup>2+</sup> signaling in interleukin-8-treated lymphokine-activated killer cells. *J Biol Chem* 285, 21877–21887. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.066290>
- Ramos, I., Reich, A., Wessel, G.M., 2014. Two-pore channels function in calcium regulation in sea star oocytes and embryos. *Development* 141, 4598–4609. <https://doi.org/10.1242/dev.113563>
- Rauschecker, J.P., Tian, B., Hauser, M., 1995. Processing of complex sounds in the macaque nonprimary auditory cortex. *Science* 268, 111–114. <https://doi.org/10.1126/science.7701330>
- Resendez, S.L., Nambodiri, V.M.K., Otis, J.M., Eckman, L.E.H., Rodriguez-Romaguera, J., Ung, R.L., Basiri, M.L., Kosyk, O., Rossi, M.A., Dichter, G.S., Stuber, G.D., 2020. Social Stimuli Induce Activation of Oxytocin Neurons Within the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus to Promote Social Behavior in Male Mice. *J Neurosci* 40, 2282–2295. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1515-18.2020>
- Richard, S., Zingg, H.H., 1990. The human oxytocin gene promoter is regulated by estrogens. *J Biol Chem* 265, 6098–6103.
- Romanski, L.M., Averbeck, B.B., 2009. The primate cortical auditory system and neural representation of conspecific vocalizations. *Annu Rev Neurosci* 32, 315–346. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135431>
- Romanski, L.M., Averbeck, B.B., Diltz, M., 2005. Neural representation of vocalizations in the primate ventrolateral prefrontal cortex. *J Neurophysiol* 93, 734–747. <https://doi.org/10.1152/jn.00675.2004>
- Romanski, L.M., LeDoux, J.E., 1993. Organization of rodent auditory cortex: anterograde transport of PHA-L from MGv to temporal neocortex. *Cereb Cortex* 3, 499–514. <https://doi.org/10.1093/cercor/3.6.499>
- Rothschild, G., Cohen, L., Mizrahi, A., Nelken, I., 2013. Elevated correlations in neuronal ensembles of mouse auditory cortex following parturition. *J. Neurosci.* 33, 12851–12861. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4656-12.2013>
- Rothschild, G., Nelken, I., Mizrahi, A., 2010. Functional organization and population dynamics in the mouse primary auditory cortex. *Nat Neurosci* 13, 353–360. <https://doi.org/10.1038/nn.2484>
- Royer, J., Huetz, C., Occelli, F., Cancela, J.-M., Edeline, J.-M., 2021. Enhanced Discriminative Abilities of Auditory Cortex Neurons for Pup Calls Despite Reduced Evoked Responses in C57BL/6 Mother Mice. *Neuroscience* 453, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.11.031>

- Ruas, M., Chuang, K.-T., Davis, L.C., Al-Douri, A., Tynan, P.W., Tunn, R., Teboul, L., Galione, A., Parrington, J., 2014. TPC1 has two variant isoforms, and their removal has different effects on endo-lysosomal functions compared to loss of TPC2. *Mol Cell Biol* 34, 3981–3992. <https://doi.org/10.1128/MCB.00113-14>
- Ruas, M., Galione, A., Parrington, J., 2015. Two-Pore Channels: Lessons from Mutant Mouse Models. *Messenger (Los Angel)* 4, 4–22. <https://doi.org/10.1166/msr.2015.1041>
- Ruas, M., Rietdorf, K., Arredouani, A., Davis, L.C., Lloyd-Evans, E., Koegel, H., Funnell, T.M., Morgan, A.J., Ward, J.A., Watanabe, K., Cheng, X., Churchill, G.C., Zhu, M.X., Platt, F.M., Wessel, G.M., Parrington, J., Galione, A., 2010. Purified TPC isoforms form NAADP receptors with distinct roles for Ca<sup>2+</sup> signaling and endolysosomal trafficking. *Curr Biol* 20, 703–709. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.02.049>
- Rutkowski, R.G., Miasnikov, A.A., Weinberger, N.M., 2003. Characterisation of multiple physiological fields within the anatomical core of rat auditory cortex. *Hear Res* 181, 116–130. [https://doi.org/10.1016/s0378-5955\(03\)00182-5](https://doi.org/10.1016/s0378-5955(03)00182-5)
- Rüttgers, K., Aschoff, A., Friauf, E., 1990. Commissural connections between the auditory cortices of the rat. *Brain Res* 509, 71–79. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90310-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90310-8)
- Sahani, M., Linden, J.F., 2003. How linear are auditory cortical responses?, in: *Advances in Neural Information Processing Systems 15* (Eds. Becker, S., Thrun, S., and Obermayer, K.). MIT Press, Cambridge, pp. 109–116.
- Sakurai, Y., Kolokoltsov, A.A., Chen, C.-C., Tidwell, M.W., Bauta, W.E., Klugbauer, N., Grimm, C., Wahl-Schott, C., Biel, M., Davey, R.A., 2015. Ebola virus. Two-pore channels control Ebola virus host cell entry and are drug targets for disease treatment. *Science* 347, 995–998. <https://doi.org/10.1126/science.1258758>
- Salgado, H., Bellay, T., Nichols, J.A., Bose, M., Martinolich, L., Perrotti, L., Atzori, M., 2007. Muscarinic M2 and M1 receptors reduce GABA release by Ca<sup>2+</sup> channel modulation through activation of PI3K/Ca<sup>2+</sup>-independent and PLC/Ca<sup>2+</sup>-dependent PKC. *J Neurophysiol* 98, 952–965. <https://doi.org/10.1152/jn.00060.2007>
- Salgado, H., Garcia-Oscos, F., Patel, A., Martinolich, L., Nichols, J.A., Dinh, L., Roychowdhury, S., Tseng, K.-Y., Atzori, M., 2011. Layer-specific noradrenergic modulation of inhibition in cortical layer II/III. *Cereb Cortex* 21, 212–221. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhq081>
- Salmina, A.B., Lopatina, O., Ekimova, M.V., Mikhutkina, S.V., Higashida, H., 2010. CD38/cyclic ADP-ribose system: a new player for oxytocin secretion and regulation of social behaviour. *J Neuroendocrinol* 22, 380–392. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2010.01970.x>
- Sarazan, R.D., Starke, W.A., Krause, G.F., Garner, H.E., 1989. Cardiovascular effects of detomidine, a new alpha 2-adrenoceptor agonist, in the conscious pony. *J Vet Pharmacol Ther* 12, 378–388. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.1989.tb00688.x>
- Sasayama, D., Hattori, K., Teraishi, T., Hori, H., Ota, M., Yoshida, S., Arima, K., Higuchi, T., Amano, N., Kunugi, H., 2012. Negative correlation between cerebrospinal fluid oxytocin levels and negative symptoms of male patients with schizophrenia. *Schizophr Res* 139, 201–206. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2012.06.016>
- Savaskan, E., Ehrhardt, R., Schulz, A., Walter, M., Schächinger, H., 2008. Post-learning intranasal oxytocin modulates human memory for facial identity. *Psychoneuroendocrinology* 33, 368–374. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.12.004>
- Sawchenko, P.E., Swanson, L.W., 1983. The organization and biochemical specificity of afferent projections to the paraventricular and supraoptic nuclei. *Prog Brain Res* 60, 19–29. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)64371-X](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)64371-X)
- Schnupp, J.W.H., Hall, T.M., Kokelaar, R.F., Ahmed, B., 2006. Plasticity of temporal pattern codes for vocalization stimuli in primary auditory cortex. *J. Neurosci.* 26, 4785–4795. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4330-05.2006>
- Scott, K.E., Kazazian, K., Mann, R.S., Möhrle, D., Schormans, A.L., Schmid, S., Allman, B.L., 2020. Loss of Cntnap2 in the Rat Causes Autism-Related Alterations in Social Interactions, Stereotypic Behavior, and Sensory Processing. *Autism Res* 13, 1698–1717. <https://doi.org/10.1002/aur.2364>
- Scott, K.E., Schormans, A.L., Pacoli, K.Y., De Oliveira, C., Allman, B.L., Schmid, S., 2018. Altered Auditory Processing, Filtering, and Reactivity in the Cntnap2 Knock-Out Rat Model for Neurodevelopmental Disorders. *J Neurosci* 38, 8588–8604. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0759-18.2018>

- Senut, M.C., Menetrey, D., Lamour, Y., 1989. Cholinergic and peptidergic projections from the medial septum and the nucleus of the diagonal band of Broca to dorsal hippocampus, cingulate cortex and olfactory bulb: a combined wheatgerm agglutinin-apohorseradish peroxidase-gold immunohistochemical study. *Neuroscience* 30, 385–403. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90260-1](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90260-1)
- Shabalova, A.A., Liang, M., Zhong, J., Huang, Z., Tsuji, C., Shnayder, N.A., Lopatina, O., Salmina, A.B., Okamoto, H., Yamamoto, Y., Zhong, Z.-G., Yokoyama, S., Higashida, H., 2020. Oxytocin and CD38 in the paraventricular nucleus play a critical role in paternal aggression in mice. *Horm Behav* 120, 104695. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2020.104695>
- Shepard, K.N., Chong, K.K., Liu, R.C., 2016. Contrast Enhancement without Transient Map Expansion for Species-Specific Vocalizations in Core Auditory Cortex during Learning. *eNeuro* 3. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0318-16.2016>
- Shepard, K.N., Lin, F.G., Zhao, C.L., Chong, K.K., Liu, R.C., 2015. Behavioral relevance helps untangle natural vocal categories in a specific subset of core auditory cortical pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 35, 2636–2645. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3803-14.2015>
- Shibuki, K., Hishida, R., Tohmi, M., Takahashi, K., Kitaura, H., Kubota, Y., 2009. Flavoprotein Fluorescence Imaging of Experience-Dependent Cortical Plasticity in Rodents, in: Frostig, R.D. (Ed.), *In Vivo Optical Imaging of Brain Function*, Frontiers in Neuroscience. CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton (FL).
- Shilling, P.D., Feifel, D., 2016. Potential of Oxytocin in the Treatment of Schizophrenia. *CNS Drugs* 30, 193–208. <https://doi.org/10.1007/s40263-016-0315-x>
- Shink, E., Morissette, J., Sherrington, R., Barden, N., 2005. A genome-wide scan points to a susceptibility locus for bipolar disorder on chromosome 12. *Mol Psychiatry* 10, 545–552. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001601>
- Shuttleworth, C.W., Brennan, A.M., Connor, J.A., 2003. NAD(P)H fluorescence imaging of postsynaptic neuronal activation in murine hippocampal slices. *J Neurosci* 23, 3196–3208.
- Smith, J.C., 1976. Responses of adult mice to models of infant calls. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 90, 1105–1115. <https://doi.org/10.1037/h0077287>
- Smith, P.H., Populin, L.C., 2001. Fundamental differences between the thalamocortical recipient layers of the cat auditory and visual cortices. *J Comp Neurol* 436, 508–519. <https://doi.org/10.1002/cne.1084>
- Smith, P.H., Uhlrich, D.J., Manning, K.A., Banks, M.I., 2012. Thalamocortical projections to rat auditory cortex from the ventral and dorsal divisions of the medial geniculate nucleus. *J Comp Neurol* 520, 34–51. <https://doi.org/10.1002/cne.22682>
- Souffi, S., Lorenzi, C., Varnet, L., Huetz, C., Edeline, J.-M., 2020. Noise-sensitive but more precise subcortical representations co-exist with robust cortical encoding of natural vocalizations. *J. Neurosci.* <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2731-19.2020>
- Stamatakis, S., Francis, H.W., Lehar, M., May, B.J., Ryugo, D.K., 2006. Synaptic alterations at inner hair cells precede spiral ganglion cell loss in aging C57BL/6J mice. *Hear Res* 221, 104–118. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2006.07.014>
- Steriade, M., Jones, E.G., McCormick, D.A., 1997. *Thalamus : Organization and Function* (Vol. 1). Elsevier, Amsterdam.
- Stiebler, I., Neulist, R., Fichtel, I., Ehret, G., 1997. The auditory cortex of the house mouse: left-right differences, tonotopic organization and quantitative analysis of frequency representation. *J Comp Physiol A* 181, 559–571. <https://doi.org/10.1007/s003590050140>
- Stoop, R., 2012. Neuromodulation by oxytocin and vasopressin. *Neuron* 76, 142–159. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.09.025>
- Striepens, N., Kendrick, K.M., Maier, W., Hurlmann, R., 2011. Prosocial effects of oxytocin and clinical evidence for its therapeutic potential. *Front Neuroendocrinol* 32, 426–450. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2011.07.001>
- Tadros, S.F., D'Souza, M., Zettel, M.L., Zhu, X., Lynch-Erhardt, M., Frisina, R.D., 2007. Serotonin 2B receptor: upregulated with age and hearing loss in mouse auditory system. *Neurobiol Aging* 28, 1112–1123. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2006.05.021>

- Takahashi, K., Hishida, R., Kubota, Y., Kudoh, M., Takahashi, S., Shibuki, K., 2006. Transcranial fluorescence imaging of auditory cortical plasticity regulated by acoustic environments in mice. *Eur J Neurosci* 23, 1365–1376. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04662.x>
- Takayanagi, Y., Yoshida, M., Bielsky, I.F., Ross, H.E., Kawamata, M., Onaka, T., Yanagisawa, T., Kimura, T., Matzuk, M.M., Young, L.J., Nishimori, K., 2005. Pervasive social deficits, but normal parturition, in oxytocin receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 16096–16101. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505312102>
- Takesian, A.E., Bogart, L.J., Lichtman, J.W., Hensch, T.K., 2018. Inhibitory circuit gating of auditory critical-period plasticity. *Nat Neurosci* 21, 218–227. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0064-2>
- Tan, Y., Singhal, S.M., Harden, S.W., Cahill, K.M., Nguyen, D.-T.M., Colon-Perez, L.M., Sahagian, T.J., Thinschmidt, J.S., de Kloet, A.D., Febo, M., Frazier, C.J., Krause, E.G., 2019. Oxytocin Receptors Are Expressed by Glutamatergic Prefrontal Cortical Neurons That Selectively Modulate Social Recognition. *J Neurosci* 39, 3249–3263. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2944-18.2019>
- Tasaka, G.-I., Feigin, L., Maor, I., Groysman, M., DeNardo, L.A., Schiavo, J.K., Froemke, R.C., Luo, L., Mizrahi, A., 2020. The Temporal Association Cortex Plays a Key Role in Auditory-Driven Maternal Plasticity. *Neuron* 107, 566–579.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.05.004>
- Tasaka, G.-I., Guenther, C.J., Shalev, A., Gilday, O., Luo, L., Mizrahi, A., 2018. Genetic tagging of active neurons in auditory cortex reveals maternal plasticity of coding ultrasonic vocalizations. *Nat Commun* 9, 871. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03183-2>
- Teder-Sälejärvi, W.A., Pierce, K.L., Courchesne, E., Hillyard, S.A., 2005. Auditory spatial localization and attention deficits in autistic adults. *Brain Res Cogn Brain Res* 23, 221–234. <https://doi.org/10.1016/j.cogbrainres.2004.10.021>
- Thompson, G.C., Thompson, A.M., Garrett, K.M., Britton, B.H., 1994. Serotonin and serotonin receptors in the central auditory system. *Otolaryngol Head Neck Surg* 110, 93–102. <https://doi.org/10.1177/019459989411000111>
- Thor, D.H., Holloway, W.R., 1982. Social memory of the male laboratory rat. *J Comp Physiol Psychol* 96, 1000–1006. <https://doi.org/10.1037/0735-7036.96.6.1000>
- Thye, M.D., Bednarz, H.M., Herringshaw, A.J., Sartin, E.B., Kana, R.K., 2018. The impact of atypical sensory processing on social impairments in autism spectrum disorder. *Dev Cogn Neurosci* 29, 151–167. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2017.04.010>
- Tian, B., Reser, D., Durham, A., Kustov, A., Rauschecker, J.P., 2001. Functional specialization in rhesus monkey auditory cortex. *Science* 292, 290–293. <https://doi.org/10.1126/science.1058911>
- Tian, L., Hires, S.A., Mao, T., Huber, D., Chiappe, M.E., Chalasani, S.H., Petreanu, L., Akerboom, J., McKinney, S.A., Schreier, E.R., Bargmann, C.I., Jayaraman, V., Svoboda, K., Looger, L.L., 2009. Imaging neural activity in worms, flies and mice with improved GCaMP calcium indicators. *Nat Methods* 6, 875–881. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1398>
- Tomizawa, K., Iga, N., Lu, Y.-F., Moriwaki, A., Matsushita, M., Li, S.-T., Miyamoto, O., Itano, T., Matsui, H., 2003. Oxytocin improves long-lasting spatial memory during motherhood through MAP kinase cascade. *Nat Neurosci* 6, 384–390. <https://doi.org/10.1038/nn1023>
- Tracy, L.M., Georgiou-Karistianis, N., Gibson, S.J., Giummarra, M.J., 2015. Oxytocin and the modulation of pain experience: Implications for chronic pain management. *Neurosci Biobehav Rev* 55, 53–67. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.04.013>
- Tribollet, E., Barberis, C., Arsenijevic, Y., 1997. Distribution of vasopressin and oxytocin receptors in the rat spinal cord: sex-related differences and effect of castration in pudendal motor nuclei. *Neuroscience* 78, 499–509. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(96\)00591-x](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(96)00591-x)
- Trujillo, M., Razak, K.A., 2013. Altered cortical spectrotemporal processing with age-related hearing loss. *J Neurophysiol* 110, 2873–2886. <https://doi.org/10.1152/jn.00423.2013>
- Tsukano, H., Horie, M., Bo, T., Uchimura, A., Hishida, R., Kudoh, M., Takahashi, K., Takebayashi, H., Shibuki, K., 2015. Delineation of a frequency-organized region isolated from the mouse primary auditory cortex. *J Neurophysiol* 113, 2900–2920. <https://doi.org/10.1152/jn.00932.2014>

- Tsukano, H., Horie, M., Honma, Y., Ohga, S., Hishida, R., Takebayashi, H., Takahashi, S., Shibuki, K., 2013. Age-related deterioration of cortical responses to slow FM sounds in the auditory belt region of adult C57BL/6 mice. *Neurosci Lett* 556, 204–209. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.10.015>
- Uvnäs-Moberg, K., Alster, P., Svensson, T.H., 1992. Amperozide and clozapine but not haloperidol or raclopride increase the secretion of oxytocin in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 109, 473–476. <https://doi.org/10.1007/BF02247726>
- Wang, X., Merzenich, M.M., Sameshima, K., Jenkins, W.M., 1995. Remodelling of hand representation in adult cortex determined by timing of tactile stimulation. *Nature* 378, 71–75. <https://doi.org/10.1038/378071a0>
- Wang, X., Zhang, X., Dong, X.-P., Samie, M., Li, X., Cheng, X., Goschka, A., Shen, D., Zhou, Y., Harlow, J., Zhu, M.X., Clapham, D.E., Ren, D., Xu, H., 2012. TPC proteins are phosphoinositide-activated sodium-selective ion channels in endosomes and lysosomes. *Cell* 151, 372–383. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.08.036>
- Wang, Z.X., Liu, Y., Young, L.J., Insel, T.R., 2000. Hypothalamic vasopressin gene expression increases in both males and females postpartum in a biparental rodent. *J Neuroendocrinol* 12, 111–120. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.2000.00435.x>
- Weinberger, N.M., 2004. Specific long-term memory traces in primary auditory cortex. *Nat Rev Neurosci* 5, 279–290. <https://doi.org/10.1038/nrn1366>
- Williams, T.D., Carter, D.A., Lightman, S.L., 1985. Sexual dimorphism in the posterior pituitary response to stress in the rat. *Endocrinology* 116, 738–740. <https://doi.org/10.1210/endo-116-2-738>
- Winer, J.A., 1985. Structure of layer II in cat primary auditory cortex (AI). *J Comp Neurol* 238, 10–37. <https://doi.org/10.1002/cne.902380103>
- Winer, J.A., 1984a. Anatomy of layer IV in cat primary auditory cortex (AI). *J Comp Neurol* 224, 535–567. <https://doi.org/10.1002/cne.902240405>
- Winer, J.A., 1984b. The pyramidal neurons in layer III of cat primary auditory cortex (AI). *J Comp Neurol* 229, 476–496. <https://doi.org/10.1002/cne.902290404>
- Winkowski, D.E., Bandyopadhyay, S., Shamma, S.A., Kanold, P.O., 2013. Frontal cortex activation causes rapid plasticity of auditory cortical processing. *J Neurosci* 33, 18134–18148. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0180-13.2013>
- Winkowski, D.E., Nagode, D.A., Donaldson, K.J., Yin, P., Shamma, S.A., Fritz, J.B., Kanold, P.O., 2018. Orbitofrontal Cortex Neurons Respond to Sound and Activate Primary Auditory Cortex Neurons. *Cereb Cortex* 28, 868–879. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhw409>
- Winslow, J.T., Hastings, N., Carter, C.S., Harbaugh, C.R., Insel, T.R., 1993. A role for central vasopressin in pair bonding in monogamous prairie voles. *Nature* 365, 545–548. <https://doi.org/10.1038/365545a0>
- Wolf, N.J., 1991. Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. *Prog Neurobiol* 37, 475–524. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(91\)90006-m](https://doi.org/10.1016/0301-0082(91)90006-m)
- Woolley, S.M.N., Gill, P.R., Theunissen, F.E., 2006. Stimulus-dependent auditory tuning results in synchronous population coding of vocalizations in the songbird midbrain. *J Neurosci* 26, 2499–2512. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3731-05.2006>
- Xiao, L., Priest, M.F., Nasenbeny, J., Lu, T., Kozorovitskiy, Y., 2017. Biased Oxytocinergic Modulation of Midbrain Dopamine Systems. *Neuron* 95, 368–384.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.06.003>
- Yamamoto, Y., Liang, M., Munesue, S., Deguchi, K., Harashima, A., Furuhashi, K., Yuhi, T., Zhong, J., Akther, S., Goto, H., Eguchi, Y., Kitao, Y., Hori, O., Shiraishi, Y., Ozaki, N., Shimizu, Y., Kamide, T., Yoshikawa, A., Hayashi, Y., Nakada, M., Lopatina, O., Gerasimenko, M., Komleva, Y., Malinovskaya, N., Salmina, A.B., Asano, M., Nishimori, K., Shoelson, S.E., Yamamoto, H., Higashida, H., 2019. Vascular RAGE transports oxytocin into the brain to elicit its maternal bonding behaviour in mice. *Commun Biol* 2, 76. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0325-6>
- Yoshida, M., Takayanagi, Y., Inoue, K., Kimura, T., Young, L.J., Onaka, T., Nishimori, K., 2009. Evidence that oxytocin exerts anxiolytic effects via oxytocin receptor expressed in serotonergic neurons in mice. *J Neurosci* 29, 2259–2271. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5593-08.2009>
- Yoshihara, C., Numan, M., Kuroda, K.O., 2018. Oxytocin and Parental Behaviors. *Curr Top Behav Neurosci* 35, 119–153. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2017\\_11](https://doi.org/10.1007/7854_2017_11)

- Young, L.J., Winslow, J.T., Wang, Z., Gingrich, B., Guo, Q., Matzuk, M.M., Insel, T.R., 1997. Gene targeting approaches to neuroendocrinology: oxytocin, maternal behavior, and affiliation. *Horm Behav* 31, 221–231. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1997.1377>
- Yrigollen, C.M., Han, S.S., Kochetkova, A., Babitz, T., Chang, J.T., Volkmar, F.R., Leckman, J.F., Grigorenko, E.L., 2008. Genes controlling affiliative behavior as candidate genes for autism. *Biol Psychiatry* 63, 911–916. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.11.015>
- Yu, F.H., Yarov-Yarovoy, V., Gutman, G.A., Catterall, W.A., 2005. Overview of molecular relationships in the voltage-gated ion channel superfamily. *Pharmacol Rev* 57, 387–395. <https://doi.org/10.1124/pr.57.4.13>
- Zariwala, H.A., Borghuis, B.G., Hoogland, T.M., Madisen, L., Tian, L., De Zeeuw, C.I., Zeng, H., Looger, L.L., Svoboda, K., Chen, T.-W., 2012. A Cre-dependent GCaMP3 reporter mouse for neuronal imaging in vivo. *J Neurosci* 32, 3131–3141. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4469-11.2012>
- Zhang, L.I., Bao, S., Merzenich, M.M., 2001. Persistent and specific influences of early acoustic environments on primary auditory cortex. *Nat Neurosci* 4, 1123–1130. <https://doi.org/10.1038/nn745>
- Zheng, J.-J., Li, S.-J., Zhang, X.-D., Miao, W.-Y., Zhang, D., Yao, H., Yu, X., 2014. Oxytocin mediates early experience-dependent cross-modal plasticity in the sensory cortices. *Nat Neurosci* 17, 391–399. <https://doi.org/10.1038/nn.3634>
- Zhong, J., Amina, S., Liang, M., Akther, S., Yuhi, T., Nishimura, T., Tsuji, C., Tsuji, T., Liu, H.-X., Hashii, M., Furuhashi, K., Yokoyama, S., Yamamoto, Y., Okamoto, H., Zhao, Y.J., Lee, H.C., Tominaga, M., Lopatina, O., Higashida, H., 2016. Cyclic ADP-Ribose and Heat Regulate Oxytocin Release via CD38 and TRPM2 in the Hypothalamus during Social or Psychological Stress in Mice. *Front Neurosci* 10, 304. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00304>
- Zhu, M.X., Evans, A.M., Ma, J., Parrington, J., Galione, A., 2010. Two-pore channels for integrative Ca signaling. *Commun Integr Biol* 3, 12–17. <https://doi.org/10.4161/cib.3.1.9793>
- Zingg, H.H., Laporte, S.A., 2003. The oxytocin receptor. *Trends Endocrinol Metab* 14, 222–227. [https://doi.org/10.1016/s1043-2760\(03\)00080-8](https://doi.org/10.1016/s1043-2760(03)00080-8)







**Titre :** Étude électrophysiologique et bi-photonique des modifications du traitement des signaux de communication dans le cortex auditif chez des souris mères n'exprimant pas de canaux endolysosomiaux « two-pore channels » (TPC).

**Mots clés :** Cortex auditif, Electrophysiologie, Imagerie calcique, Two-Pore Channels, Maternité, Ocytocine

**Résumé :** La communication acoustique est cruciale pour les interactions sociales. Chez l'Homme, il a été suggéré qu'un traitement anormal des stimuli sensoriels joue un rôle important dans le comportement social des patients atteints de troubles du spectre autistique (TSA), ce qui pourrait s'expliquer par une activité altérée des réseaux corticaux. Parmi plusieurs hypothèses, celle d'un dérèglement des réserves de Ca<sup>2+</sup> intracellulaire a été évoquée, bien que ces mécanismes restent à identifier. Dans les cellules, les endolysosomes libèrent du Ca<sup>2+</sup> via l'activation des canaux « two-pore channel » (TPC) situés à leur membrane, canaux dont le rôle dans le système nerveux central (SNC) est largement méconnu.

Notre équipe travaille sur une souris n'exprimant pas le canal TPC (KO TPC), qui présente un taux plasmatique en ocytocine (OT) très bas et des problèmes de comportements sociaux, notamment les mères qui montrent un déficit de comportement maternel. Nous avons évalué si ces problèmes de comportements sociaux étaient liés à un déficit de traitement cortical des signaux de communication chez la souris KO TPC et si ce déficit

s'aggrave lors du passage de vierge à mère. Pour cela, j'ai analysé les réponses des neurones du cortex auditif primaire de souris WT (vierges et mères) et KO TPC (vierges et mères) à des vocalisations de souris (nouveaux-nés et adultes) ainsi qu'à des vocalisations de cobayes, en utilisant deux techniques : l'électrophysiologie extracellulaire sur souris anesthésiée et l'imagerie calcique sur souris vigile. Nous avons observé que le taux de décharge, la reproductibilité temporelle, la latence des réponses, et surtout la discrimination entre des vocalisations de souris sont altérés chez ces souris KO TPC vierges et mères, par rapport aux souris WT. Certains paramètres des réponses corticales, mais pas le comportement maternel, ont été restaurés par l'administration intranasale chronique d'OT lors des 9 premiers jours post-partum chez la mère KO TPC. Nos résultats indiquent qu'il y a bien des modifications anormales du traitement des signaux de communication, notamment des vocalisations de souris, dans le cortex auditif chez les souris KO TPC lors du passage vierge à mère.

**Title:** Electrophysiological and bi-photon study of modifications in the communication sounds processing in the auditory cortex in mother mice lacking endolysosomal two-pore channels (TPC).

**Keywords:** Auditory cortex, Electrophysiology, Calcium imaging, Two-Pore Channels, Motherhood, Oxytocin

**Abstract:** Acoustic communication is crucial for social interactions. In humans, it has been suggested that abnormal processing of sensory stimuli plays an important role in social behavior of patients suffering from autism spectrum disorders (ASD), which could be explained by altered activity of cortical networks. Among several hypotheses, that of a deregulation of intracellular Ca<sup>2+</sup> reserves have been proposed, although these mechanisms remain to be identified. In cells, endolysosomes release Ca<sup>2+</sup> through the activation of two-pore channels (TPC) located at their membrane; the role of these channels in the central nervous system (CNS) is largely unknown.

Our team is working on a mouse that does not express the TPC (TPC KO). It has very low plasma oxytocin (OT) levels and social behavior problems, especially mothers who show a maternal behavior deficit. We investigated whether these social behavior problems are related to deficits in cortical processing of communication sounds in TPC KO mice and if this deficit worsens during the transition from

virgin to mother. For that, I have analyzed the responses of neurons from the primary auditory cortex of WT (virgin and mother) and TPC KO (virgin and mother) mice to mouse vocalizations (pups and adults) and to guinea pig vocalizations, using two techniques: extracellular electrophysiology in anesthetized mice and calcium imaging in awake mice. We observed that the firing rate, the temporal reliability, the response latency, and more importantly the discrimination between mouse vocalizations are altered in these virgin and mother TPC KO mice, compared to WT mice. Some parameters of cortical responses, but not maternal behavior, were rescued by chronic intranasal administration of OT during the first 9 days postpartum in the TPC KO dam. Our results indicate that there are many changes in the processing of communication sounds, including mouse vocalizations, in the auditory cortex in KO TPC mice during virgin-to-mother transition.