



HAL
open science

Influence du stress sur le cortex moteur primaire de la souris et ses conséquences chez un modèle murin de la sclérose latérale amyotrophique

Zoé Mazurie

► **To cite this version:**

Zoé Mazurie. Influence du stress sur le cortex moteur primaire de la souris et ses conséquences chez un modèle murin de la sclérose latérale amyotrophique. Neurosciences. Université de Bordeaux, 2022. Français. NNT : 2022BORD0231 . tel-03917539

HAL Id: tel-03917539

<https://theses.hal.science/tel-03917539v1>

Submitted on 2 Jan 2023

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

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

Thèse présentée
Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

École doctorale Sciences de la Vie et de la Santé
Spécialité **Neurosciences**

Par

Zoé Mazurie

**INFLUENCE DU STRESS SUR LE CORTEX
MOTEUR PRIMAIRE DE LA SOURIS ET SES
CONSÉQUENCES CHEZ UN MODÈLE MURIN DE
LA SCLÉROSE LATÉRALE AMYOTROPHIQUE**

Sous la direction de Mme Rose-Marie Vouimba

Soutenue le 20 juillet 2022

Membres du jury :

M. René Garcia, Pr, Université Côte d'Azur, Président et Rapporteur
Mme Caroline Rouaux, CR, Université de Strasbourg, Rapportrice
Mme Mouna Maroun, Pr, Université de Haifa, Examinatrice
M. Pascal Branchereau, Pr, Université de Bordeaux, Invité
Mme Rose-Marie Vouimba, MCF, Université de Bordeaux, Directrice de thèse

Remerciements

J'adresse en premier lieu mes remerciements aux membres du jury, pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse, au Dr Caroline Rouaux en tant que rapportrice et au Pr Mouna Maroun en qualité d'examinatrice. Je remercie également le Pr René Garcia, pour m'avoir fait l'honneur d'assumer la double fonction de rapporteur et de président du jury.

Je tiens à remercier tout particulièrement ma directrice de thèse, le Dr Rose-Marie Vouimba. Merci infiniment pour votre soutien indéfectible depuis ma licence, pour avoir dû (et su) gérer mon stress, mais aussi pour être restée éveillée à des heures pas très catholiques par ma faute. Merci pour la confiance que vous m'avez accordée et pour votre patience en toutes circonstances (malgré mes refus d'obtempérer...). Merci également pour votre expertise scientifique, pour laquelle j'ai une grande admiration et beaucoup de respect. Merci enfin, et surtout, pour votre générosité et vos nombreuses qualités humaines, j'ai vraiment adoré travailler avec vous.

Je remercie également le Pr Pascal Branchereau : un grand merci à vous, d'abord pour votre accueil chaleureux dans l'équipe, mais aussi pour avoir accepté d'être présent lors de la soutenance en tant qu'invité. Merci pour vos qualités d'encadrement et la pertinence de vos conseils. Merci pour nos échanges, scientifiques ou non, et pour votre infinie gentillesse. Cela a été un réel plaisir de travailler avec vous.

Merci également à toutes les personnes ayant contribué à ce projet et à son bon déroulement, merci aux Drs Daniel Cattaert et Catherine Savonna-Baron, au Pr Jean-Louis Guillou et à Mme Nadia Henkous, pour leur soutien et leur disponibilité. Merci à Mmes Nathalie Argenta et Elodie Poinama, pour leur bienveillance et leur bonne humeur, et pour s'être occupées de mes animaux pendant que je courais à droite et à gauche.

Je remercie également l'ensemble des membres des équipes DMSN et EMOTIV, pour leurs encouragements au cours de cette thèse ainsi que leur aide précieuse lors de la préparation de ma soutenance.

Merci également à mes ~~codétenu~~ camarades de bureau, Laura, Hongmei, Anne, et les Gabriel, qui ont bravement supporté mon sens de l'humour et mes plaintes au cours de ces quelques années.

Et enfin, merci à mes parents et à mon frère. Merci à vous, pour avoir supporté ma bipolarité pendant presque quatre ans, et... pour le champagne !

*« Regarder, regarder encore, regarder toujours, c'est ainsi
seulement qu'on arrive à voir »*

Jean-Martin Charcot

Résumé

Influence du stress sur le cortex moteur primaire de la souris et ses conséquences chez un modèle murin de la sclérose latérale amyotrophique

Le stress est une réponse spontanée d'adaptation de l'organisme, visant à mobiliser les ressources nécessaires pour faire face à une situation perçue comme menaçante. Son influence a majoritairement été décrite au sein de structures limbiques. Or, en tant que processus adaptatif, il module les comportements et impacterait les structures impliquées dans la motricité, dont le cortex moteur primaire (M1). Cette aire cérébrale, à l'origine de la commande motrice volontaire, partage en effet des connexions avec des structures clés de l'axe corticotrope. Peu de données existent cependant, quant à la relation entre le stress et le M1. Une meilleure compréhension de l'impact du stress sur le fonctionnement du réseau neuronal au sein du M1 en conditions physiologiques, permettrait de mieux apprécier ses effets en cas de réseau cortical moteur altéré, comme observé dans le cas de la sclérose latérale amyotrophique (SLA). Ce travail de recherche visait ainsi à définir chez la souris adulte, l'influence du stress sur l'excitabilité et la plasticité du M1 de souris en conditions physiologiques, et d'en évaluer les conséquences dans le cadre de la SLA, en utilisant un modèle murin de la pathologie, la souris SOD1^{G93A} (SOD). Dans un premier temps, les enregistrements électrophysiologiques *in vitro* et *in vivo* respectivement de l'excitabilité des interneurons du M1, et de la plasticité du réseau formé par les M1 des deux hémisphères cérébraux (M1-M1) ont révélé qu'un stress aigu tend à promouvoir une augmentation de l'activité globale du M1 chez les WT, mais au contraire à favoriser une diminution de cette activité chez les SOD. Une approche immunohistochimique a également montré suite au stress, des modifications dans le M1 de l'expression de KCC2 et NKCC1, deux cotransporteurs au chlorure régulant l'efficacité de la transmission GABAergique inhibitrice, avec une augmentation de l'expression de KCC2 chez les WT et de NKCC1 chez les SOD. La modification du ratio KCC2/NKCC1 pourrait suggérer une modulation différentielle de la transmission inhibitrice entre ces deux groupes. Dans un second temps, en utilisant les mêmes techniques d'électrophysiologie *in vivo* et d'immunohistochimie, nous avons mis en évidence qu'un stress prénatal favorisait également l'augmentation de l'activité neuronale au sein du M1 des WT, et sa réduction chez les SOD. Indépendamment du génotype, ces changements étaient associés à une augmentation de l'expression de KCC2 et NKCC1, qui pourrait être en lien avec les rôles respectifs de ces cotransporteurs dans la formation d'épines dendritiques *de novo* et la régulation de l'inflammation. Dans un troisième temps, l'utilisation d'une batterie de tests comportementaux a démontré que les souris stressées (stress aigu ou prénatal) WT et SOD, présentaient des déficits cognitifs. En revanche seules les souris soumises à un stress prénatal ont démontré une diminution des performances motrices, suggérant une possible relation entre les changements de la plasticité observés suite à un stress prénatal et les apprentissages moteurs. Enfin, bien que le stress prénatal n'ait pas influencé la survie des animaux SOD, il semble légèrement précipiter l'apparition des symptômes de la SLA. Dans l'ensemble, ces données démontrent l'influence du stress sur l'activité et la plasticité du M1 et pointe vers la nécessité d'une meilleure compréhension de l'implication de ces changements dans la réponse au stress mais également dans l'évolution de la SLA.

Mots-clés : cortex moteur primaire, plasticité synaptique, sclérose latérale amyotrophique, SOD1G93A, stress aigu, stress prénatal

Abstract

Stress influence on mouse primary motor cortex and its consequences in a murine model of amyotrophic lateral sclerosis

Stress is an adaptive physiological response following threatening events. It engages a complex spectrum of physiological, emotional and behavioural processes in order to cope with the situation. Its influence has mostly been described among brain structures involved in emotional processing. Yet, as an adaptive response, stress also regulates behaviors and may impact structures involved in motricity, including the primary motor cortex (M1). Known for its prominent role in voluntary movements control, the M1 shares anatomical and functional connections with key structures of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. However, little is known about the relationship between stress and the M1. Gaining insight on stress impact on M1 network functioning in physiological conditions may lead to a better understanding of its outcomes in the context of an already altered network, as observed in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Thus, the present work aimed at deciphering the influence of stress on M1 excitability and plasticity in physiological conditions in adult mice, and to evaluate its consequences in the SOD1G93A (SOD) mouse model of ALS. First, *in vitro* and *in vivo* electrophysiological recordings of interneurons excitability within M1 and network synaptic plasticity between the M1 of both hemispheres (M1-M1), respectively, highlighted that acute stress tended to increase global M1 activity in WT, while decreasing it in SOD mice. Immunohistochemistry approach showed within the M1 of stress animals, changes in the expression of two regulators of GABAergic inhibition efficacy, the chloride cotransporters, KCC2 and NKCC1. Stress enhanced KCC2 in WT but enhanced NKCC1 expressions in SOD mice. These changes in KCC2/NKCC1 ratio may suggest distinct inhibitory transmission regulation between these two groups. Second, using the same *in vivo* electrophysiological and immunohistochemistry approaches, we showed that similarly to an acute stress, a prenatal stress promoted the increase of M1 activity in WT and its reduction in SOD animals. These changes were associated with increases in both KCC2 and NKCC1 expressions, regardless of the genotype, which could be linked with their roles in spinogenesis and inflammatory processes, respectively. Finally, behavioural testing showed that stress, whether acute or prenatal, induced cognitive deficits in both WT and SOD mice. However, only animals subjected to a prenatal stress demonstrated motor impairments, which could reveal a possible relationship between plasticity changes following prenatal stress and motor alterations in these mice. While prenatal stress did not influence survival in SOD animals, it slightly precipitated ALS symptoms onset. As a whole, these results highlight the impact of stress on M1 activity and plasticity and emphasises the need of a better understanding of such changes outcomes in stress response regulation and in ALS evolution.

Keywords: acute stress, amyotrophic lateral sclerosis, corticosterone, electrophysiology, prenatal stress, primary motor cortex, SOD1G93A, synaptic plasticity

Table des matières

Liste des abréviations.....	1
Liste des figures et tableaux	3
Introduction Générale	4
I- Le stress.....	5
1- La réponse de stress	5
1.1- Évolution du concept de stress.....	5
1.2- Anatomie et physiologie	6
1.2.1- Activation du système nerveux autonome	7
1.2.2- Activation de l'axe corticotrope.....	7
1.3- Rôle des glucocorticoïdes	8
1.3.1- Récepteurs aux glucocorticoïdes et minéralocorticoïdes	9
1.3.2- Mécanismes d'action	9
1.4- Structures limbiques impliquées	10
1.4.1- L'amygdale	10
1.4.2- L'hippocampe	11
1.4.3- Le cortex préfrontal.....	12
2- Influence du stress sur la transmission neuronale	12
2.1- Quelques rappels sur la plasticité synaptique	12
2.1.1- Différents types de plasticité.....	13
2.2- Le stress et les transmissions excitatrice et inhibitrice	18
2.1.2- Au sein du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus.....	19
3.1.2- Au sein des structures limbiques.....	22
II- Le cortex moteur primaire.....	26
1- Présentation	26
1.1- Définition et fonctions	26
1.2- Le faisceau pyramidal	27

2- Organisation générale du cortex	28
2.1- Architecture laminaire	28
2.2- Populations neuronales impliquées.....	30
2.2.1- Cellules pyramidales excitatrices.....	30
2.2.2- Interneurones inhibiteurs	32
3- Circuits corticaux.....	36
3.1- Connectivité générale des cellules pyramidales	36
3.2- Circuits inhibiteurs archétypaux	37
3.2.1- L'inhibition « feedforward ».....	37
3.2.2- L'inhibition « feedback ».....	38
3.2.3- La désinhibition	38
4- Le système moteur et le stress	39
4.1- Présence de récepteurs aux glucocorticoïdes au sein du système moteur	40
4.2- Effets du stress sur le muscle squelettique et les comportements moteurs.....	40
4.2.1- Stress à l'âge adulte	40
4.2.2- Stress prénatal	41
4.3- Effets du stress sur le cortex moteur primaire et implication de ce dernier dans la réponse au stress.....	42
III- La Sclérose Latérale Amyotrophique.....	43
1- Présentation générale.....	43
1.1- Définition et épidémiologie	43
1.2- Manifestations cliniques	44
1.3- Facteurs génétiques	45
1.4- Modèles murins.....	45
1.5- Quelques mécanismes.....	46
1.6- Prise en charge	46
2- L'hyperexcitabilité corticale dans la SLA	48
2.1- Hyperexcitabilité au sein du M1	48

2.2- Déficits de la transmission glutamatergique au sein du M1	50
2.3- Déficits de la transmission GABAergique au sein du M1	51
3- Le stress et la SLA.....	52
3.1- SLA et Axe corticotrope	52
3.2- Influence du stress sur la SLA	52
Objectifs de la thèse.....	54
Résultats	57
Chapitre 1 : Influence d'un stress aigu sur le M1	58
1- Présentation	58
2- Article 1 : Acute Stress Differently Modulates GABAergic Interneurons Excitability and Synaptic Plasticity in the Primary Motor Cortex of WT and SOD1 ^{G93A} Mouse Model of ALS.....	59
Chapitre 2 : Influence d'un stress prénatal sur le M1	106
1- Présentation	106
2- Article 2 : Long-Term Influence of Prenatal Stress on Primary Motor Cortex Plasticity in Adult WT and SOD1 ^{G93A} Mice.....	107
Chapitre 3 : Influence du stress sur les apprentissages et la progression de la SLA. 132	
1- Présentation	132
2- Article 3 : Stress Impact on Motor and Cognitive Learnings along with ALS Progression in SOD1 ^{G93A} Mice.....	133
Discussion Générale.....	162
Résumé des travaux expérimentaux.....	163
I- L'influence du stress sur le M1	165
1- Le réseau neuronal au sein du M1	165
1.1- Description des éléments du réseau	165
1.1.1- Les interneurons GABAergiques	165
1.1.2- Les réponses neuronales N1 et N2-P1	166
1.2- Le M1 entre les souris WT et SOD.....	167
1.2.1- Les interneurons GABAergiques	167

1.2.2- La plasticité du réseau.....	168
1.3- L'effet du stress.....	170
1.3.1- En conditions physiologiques	170
1.3.2- En conditions pathologiques	172
1.4- En résumé.....	174
1.4.1- L'agencement du réseau... ..	174
1.4.2- ... et son fonctionnement potentiel suite à la TBS	175
1.4.3- Quelles conséquences sur les neurones pyramidaux ?.....	176
2- L'influence du stress sur les co-transporteurs au chlorure KCC2 et NKCC1 au sein du M1	178
2.1- Expression de KCC2 et NKCC1 entre les souris WT et SOD.....	178
2.2- L'effet du stress.....	178
2.2.1- En cas de stress aigu	179
2.2.2- En cas de stress prénatal	180
2.3- Les limites de l'étude de l'expression globale de KCC2 et NKCC1	180
II- L'influence du stress sur les apprentissages et la progression de la SLA.....	182
1- Anxiété et performances cognitives	182
1.1- Entre les souris WT et SOD	182
1.2- L'effet du stress.....	182
2- Performances motrices	183
2.1- Entre les souris WT et SOD	183
2.2- L'effet du stress.....	184
3- L'influence du stress sur l'évolution de la SLA	185
Perspectives.....	187
Conclusion.....	190
Bibliographie	191

Liste des abréviations

ACTH : adrenocorticotropin hormone
AMPA : alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid
BLA : noyau basolatéral (de l'amygdale)
BDNF : brain-derived neurotrophic factor
CA : corne d'Ammon (de l'hippocampe)
CaMKII : protéine kinase calcium/calmoduline-dépendante II
Cck : cholécystokinine
CP : cellule pyramidale
CPFm : cortex préfrontal médian
CeA : noyau central (de l'amygdale)
CORT : corticostérone
CRH : corticotropin releasing hormone
C9ORF72 : chromosome 9 open reading frame 72
DFT : démence fronto-temporale
EMG : électromyogramme
eCB : endocannabinoïde
FS : fast spiking
FUS : fused in sarcoma
GABA : acide gamma-aminobutyrique
GABAA : (récepteur au) GABA de type A
GC : glucocorticoïde
GR : récepteur aux glucocorticoïdes
HPA : hypothalamo-pituitaire-adrénalien
IFF : inhibition feedback
IFF : inhibition feedforward
ICF : intra cortical facilitation
IN : interneurone
IT : intratélencéphalique
KCC2 : potassium chloride cotransporter 2
LA : noyau latéral (de l'amygdale)
LICI : late intracortical inhibition
LS : late spiking
LTD : long-term depression / dépression à long terme
LTP : long-term potentiation / potentialisation à long terme
LTS : low threshold spiking
MAPK : mitogen activated protein kinase
MeA : noyau médian (de l'amygdale)
mGlu : (récepteur) métabotrope du glutamate
MR : récepteur aux minéralocorticoïdes
M1 : cortex moteur primaire
NGFC : cellule neurogliaforme
NKCC1 : sodium-potassium chloride cotransporter 1

NMDA : N-methyl-D-aspartate
NO : monoxyde d'azote
NPV : noyau paraventriculaire
PA : potentiel d'action
PCT : plasticité à court terme
PEM : potentiel évoqué moteur
PKA : protéine kinase A
PKC : protéine kinase C
PLT : plasticité à long terme
PPD : paired-pulse depression
PPF : paired-pulse facilitation
PPI : paired-pulse inhibition
PT : pyramidal tract
PV : parvalbumine
SBC : single bouquet cell
SICI : short intracortical inhibition
SLA : sclérose latérale amyotrophique
SMT : stimulation magnétique transcrânienne
SOD : superoxyde dismutase
SST : somatostatine
TBS : stimulation de type thêta-burst
TARDBP : TAR DNA Binding Protein
TDP-43 : transactive response DNA binding protein 43
THDOC : tétrahydrodésoxycorticostérone
VIP : peptide vasointestinal
VGLUT2 : vesicular glutamate transporter 2
WT : wild type
5HT3aR : 5-hydroxytryptamine 3a receptor
11 β -HSD : 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase

Liste des figures et tableaux

Figure 1 : Fonctionnement de l'axe corticotrope.

Figure 2 : Réaction de conversion des GCs.

Figure 3 : Afférences et efférences des noyaux majeurs de l'amygdale.

Figure 4 : Principe de la LTP et de la LTD dépendantes des récepteurs NMDA au niveau des synapses excitatrices de l'hippocampe.

Figure 5 : Mécanismes moléculaires sous-tendant les différentes formes de plasticité présynaptique de la transmission GABAergique, après la stimulation répétée d'une afférence.

Figure 6 : Régulation de l'homéostasie du chlorure par les cotransporteurs KCC2 et NKCC1.

Figure 7 : Aires motrices corticales chez la souris et l'Homme.

Figure 8 : Représentation simplifiée du système moteur.

Figure 9 : Organisation laminaire du néocortex.

Figure 10 : Neurones pyramidaux au sein du néocortex.

Figure 11 : Représentation de la diversité de la population d'INs corticaux.

Figure 12 : Classification des interneurons GABAergiques néocorticaux.

Figure 13 : Représentation simplifiée de la connectivité globale des CPs au sein du M1.

Figure 14 : Circuits inhibiteurs archétypaux.

Figure 15 : Exemple de répartition des récepteurs aux GCs au sein de structures motrices chez le rat.

Figure 16 : Mécanismes impliqués dans la pathophysiologie de la Sclérose Latérale Amyotrophique.

Figure 17 : Mécanisme d'action simplifié de la SMT du cortex moteur.

Figure 18 : Potentiels moteurs évoqués typiques enregistrés par EMG selon les différents protocoles de SMT.

Figure 19 : Profil d'évolution des réponses neuronales N1 et N2-P1 selon la profondeur de l'électrode de stimulation au sein du M1.

Figure 20 : Schéma simplifié du fonctionnement potentiel du réseau neuronal au sein du M1 chez les animaux WT et SOD, suite à la TBS

Tableau 1 : Résumé des travaux expérimentaux.

Introduction Générale

I- Le stress

Touchant les domaines de la vie sociale, affective et professionnelle, le stress est un élément indissociable de notre quotidien. Si son concept a évolué au cours du temps, il représente aujourd'hui une réponse naturelle et spontanée d'adaptation de l'organisme indispensable à sa survie. Via l'activation du système nerveux autonome et de l'axe corticotrope, le stress module un grand nombre de phénomènes physiologiques afin de mobiliser les ressources nécessaires à cette adaptation. Il recrute ainsi des circuits neuronaux précis, mettant en jeu des structures limbiques telles que l'amygdale, l'hippocampe et le cortex préfrontal, dont il influence le fonctionnement en altérant leur excitabilité. Cependant, si ses effets à court terme sont bénéfiques, son intensité et/ou sa chronicité peuvent favoriser le développement de pathologies, ou aggraver une situation préalablement délétère. L'influence du stress, qu'elle soit positive ou négative a ainsi majoritairement été étudiée au sein de ces structures limbiques. Or, s'il impacte les fonctions cognitives et émotionnelles, la mise en place de comportements adaptés dans le cadre de la réponse au stress engage également les fonctions motrices.

1- La réponse de stress

1.1- Évolution du concept de stress

Avec son modèle de « *fight-or-flight* », qui illustre la mobilisation par l'organisme de ses ressources énergétiques face à une situation stressante, afin de permettre une réaction rapide d'attaque ou de fuite, Walter Cannon est l'un des premiers à évoquer la dimension psychologique du stress en biologie (Cannon, 1915). Dans cette définition, le stress désigne aussi bien la cause, c'est-à-dire la situation environnementale à l'origine du stress, que les conséquences physiologiques et comportementales qu'il engendre.

Par la suite, Hans Selye, l'un des fondateurs de la théorie du stress, définira ce dernier comme l'ensemble des conséquences dues à une situation menaçant l'équilibre de l'organisme, ou homéostasie, selon le terme établi par Cannon (1929). Il est alors le premier à distinguer les causes du stress (les « stressseurs »), de ses conséquences (la « réponse de stress ») en tant que telles.

Selye postule que, quelle que soit la nature du stresser, il se produit une réponse non spécifique de l'organisme, qu'il nomme « *syndrome général d'adaptation* », se déroulant en trois phases successives :

- La phase d'alarme marque le début de la réaction de stress. Elle correspond à une étape préparatoire de l'organisme, lui permettant de réunir les ressources physiologiques nécessaires pour faire face au stresser.
- Une phase de résistance se met ensuite en place, au cours de laquelle l'organisme utilise les ressources mobilisées afin de retrouver son homéostasie.
- Enfin, en cas du maintien de la situation menaçante dans le temps, une phase d'épuisement peut survenir. Cette dernière illustre l'incapacité de l'organisme à maintenir son homéostasie face au stresser, et peut être à l'origine de l'apparition de pathologies (Selye, 1936, 1950).

Lazarus et Folkman apportent une dimension supplémentaire à ce concept de stress, en faisant intervenir la notion de « *transaction* » entre les caractéristiques de l'environnement et celles du sujet. Ainsi, une situation sera stressante selon la perception qu'en aura le sujet et, le cas échéant, déclenchera une réaction de stress se déroulant en deux temps :

- D'abord une phase d'évaluation, consistant pour le sujet à déterminer les enjeux de la situation menaçante, ainsi que les ressources personnelles et sociales qu'il pourra mobiliser afin d'y résister.
- Puis suit une phase de réaction, caractérisée par la mise en place de stratégies dites de « *coping* », correspondant à l'ensemble des réactions cognitives, émotionnelles et comportementales que le sujet mettra en place face à la situation menaçante, pour tenter d'y faire face (Lazarus et Folkman, 1984).

Le stress pourrait donc se définir comme une réponse naturelle et spontanée d'adaptation du corps, face à une situation perçue comme une menace (physique ou psychique), et permettant, afin de faire face à cette menace, la mobilisation indispensable de ressources physiologiques, psychologiques et comportementales nécessaires.

1.2- Anatomie et physiologie

Afin de faire face à une situation perçue stressante et permettre la mise en place de comportements adaptés, la réponse de stress recrute différentes structures mettant en jeu les systèmes nerveux périphérique et central, via la libération de médiateurs chimiques (de Kloet

et al., 2005; Joëls et Baram, 2009; Smith et Vale, 2006). La physiologie du stress repose sur deux composantes :

- Une réponse rapide à court terme, médiée par le système nerveux autonome (sympathique et parasympathique).
- Une réponse plus lente à long terme sous-tendue par l'axe corticotrope, ou axe hypothalamo-pituitaire-adrénalien (HPA).

1.2.1- Activation du système nerveux autonome

Dans un premier temps, le stress active le système nerveux autonome qui, via la sécrétion de catécholamines (adrénaline et noradrénaline), entraîne des modifications physiologiques (augmentation des rythmes cardiaque et respiratoire, de la pression sanguine, de la glycémie, réduction de la motilité intestinale...) visant à augmenter les niveaux d'alerte et de vigilance, et permettre au corps d'être dans des dispositions métaboliques facilitant une réaction comportementale rapide (de Kloet et al., 2005; Timmermans et al., 2019).

1.2.2- Activation de l'axe corticotrope

Dans un deuxième temps survient une réponse hormonale plus lente, médiée par l'axe corticotrope, permettant l'amplification de la réaction de stress et la mise en place d'une adaptation de l'organisme sur le long terme. Cet axe fait intervenir trois structures distinctes interconnectées que sont l'hypothalamus, l'hypophyse et les glandes surrénales (Fig. 1).

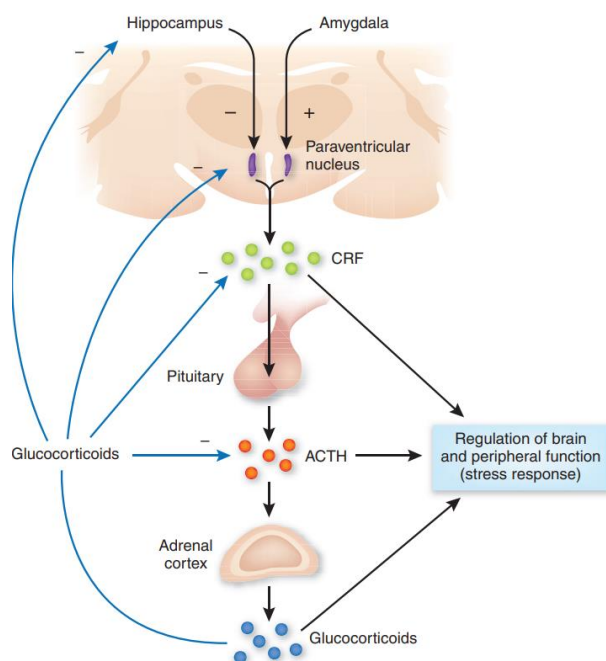


Figure 1. Fonctionnement de l'axe corticotrope. L'activation de l'axe corticotrope déclenche la libération par le NPV de l'hypothalamus de CRH, laquelle déclenche la sécrétion d'ACTH au niveau de l'adénohypophyse. La libération d'ACTH dans la circulation générale engendre la synthèse au niveau des glandes surrénales de GCs. Ces derniers, en plus de leur rôle régulateur des fonctions centrale et périphérique, exercent un rétrocontrôle négatif de l'ensemble de l'axe corticotrope. Cet axe est enfin négativement régulé par l'hippocampe et positivement par l'amygdale. D'après Hyman (2009).

C'est au niveau de l'hypothalamus, qui reçoit des afférences provenant du système nerveux sympathique, que le signal de stress est intégré. Ce dernier engendre alors la libération par les neurones parvocellulaires du noyau paraventriculaire (NPV) de corticolibérine, ou CRH (Corticotropin Releasing Hormone), principal médiateur de l'axe corticotrope. La liaison de la CRH sur ses récepteurs entraîne ensuite la libération au niveau des lobes antérieurs de l'hypophyse (l'adénohypophyse) de l'hormone corticotrope, ou ACTH (Adrenocorticotropin Hormone), dans la circulation générale. Cette dernière stimule à son tour la libération par les glandes surrénales de stéroïdes, les glucocorticoïdes (GCs). Ces hormones, en se liant à leurs récepteurs (centraux et périphériques), vont promouvoir l'adaptation lors de la réponse de stress. Au-delà d'un certain seuil, les GCs vont exercer un rétrocontrôle négatif sur l'ensemble des structures de l'axe afin de limiter les effets délétères d'une surexposition de l'organisme à ces hormones (**Fig. 1**) (de Kloet et al., 2005; Timmermans et al., 2019).

Il est aussi à signaler que d'autres facteurs, tels que les hormones sexuelles (testostérone et progestérone), produites par les gonades, jouent un rôle essentiel dans la mise en place, l'activation et la régulation de l'axe corticotrope (Oyola et Handa, 2017).

1.3- Rôle des glucocorticoïdes

Acteurs majeurs de la réponse de stress, les GCs sont des hormones stéroïdes dérivées du cholestérol, on parle de cortisol chez l'Homme et de corticostérone (CORT) chez les rongeurs. Leur sécrétion par les glandes surrénales en conditions basales est rythmique, avec un pic de libération le matin chez l'être humain et en début de nuit pour les animaux nocturnes, tels que la souris.

Les GCs existent sous deux formes, inactive (la cortisone chez l'Homme et la 11-déshydrocorticostérone chez la souris) et active (cortisol et CORT). Le passage de la forme inactive vers la forme active est médié par une enzyme, la 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase 1 (11 β -HSD1), la réaction inverse est quant à elle catalysée par la 11 β -HSD2 (**Fig. 2**). Ces deux enzymes étant différentiellement exprimées selon les tissus, ce ratio entre forme active et inactive permet une régulation spatiale de l'action des GCs. Une fois activés, les GCs sont libérés dans la circulation sanguine et, de par leurs propriétés lipophiles, traversent les membranes biologiques afin de se lier à leurs récepteurs (de Kloet et al., 2005; Timmermans et al., 2019).

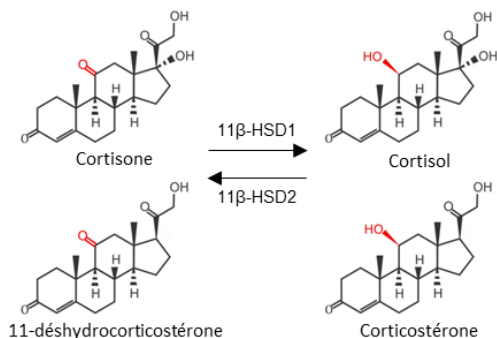


Figure 2. Réaction de conversion des GCs. Les formes inactives des GCs, la cortisone (Homme) et la 11-déshydrocorticostérone (souris), sont activées respectivement sous forme de cortisol et CORT par la 11β-HSD1. La réaction inverse est catalysée par la 11β-HSD2. *Adapté d'après Timmermans et al. (2019).*

1.3.1- Récepteurs aux glucocorticoïdes et minéralocorticoïdes

Les récepteurs liant les GCs font partie de la famille des facteurs de transcription, il en existe deux types : les récepteurs aux glucocorticoïdes (GR) et les récepteurs aux minéralocorticoïdes (MR). Les GR sont représentés de façon ubiquitaire au sein du système nerveux central et des tissus périphériques, alors que les MR sont plus spécifiquement distribués au niveau de structures limbiques, notamment l'hippocampe et l'amygdale. Si ces deux types de récepteurs sont très similaires en termes de physiologie et de structure, ils diffèrent quant à leur affinité pour les GCs, cette dernière étant dix fois plus élevée pour les MR. Ainsi, ces MR contribuent principalement à la régulation de l'activité basale de l'axe corticotrope, alors que les GR sont plutôt activés dans le cadre de pics de libération de GCs, en conditions physiologiques du fait des rythmes circadiens ou suite à un stress (de Kloet et al., 2005; Russell et Lightman, 2019; Timmermans et al., 2019).

1.3.2- Mécanismes d'action

Les GCs exercent leurs effets selon deux processus : génomique et non-génomique. Dans le cadre d'une action génomique, la liaison des GCs sur leurs récepteurs entraîne la translocation de ces derniers, initialement localisés dans le cytoplasme des cellules, au noyau. Les complexes GCs-récepteurs vont ainsi pouvoir se fixer au niveau de l'ADN et réguler la transcription de gènes cibles. L'action non-génomique des GCs, plus rapide, repose quant à elle sur des mécanismes moins bien connus, pouvant impacter différents processus tels que les voies de signalisation de type MAPK (mitogen activated protein kinase), les propriétés physico-chimiques des membranes lipidiques, la fonction mitochondriale ou encore la sécrétion d'endocannabinoïdes par les neurones parvocellulaires au sein du NPV (de Kloet et al., 2005; Timmermans et al., 2019).

Ainsi, la libération de GCs suite à la stimulation de l'axe corticotrope par un stress produit, via des mécanismes génomiques et non-génomiques, une cascade de processus

moléculaires, cellulaires et comportementaux, permettant une adaptation optimale de l'organisme face à la situation stressante et mettant en jeu différentes structures nerveuses, dont les aires limbiques.

1.4- Structures limbiques impliquées

Parmi les aires cérébrales engagées dans la réponse de stress, on trouve trois structures majeures, impliquées dans la régulation des émotions et des processus mnésiques associés : l'amygdale, l'hippocampe et le cortex préfrontal (Jankord et Herman, 2008).

1.4.1- L'amygdale

Composante clé de la réponse au stress jouant un rôle pivot entre intégration sensorielle et résultante motrice, l'amygdale est une structure hétérogène localisée en profondeur dans le lobe temporal. Via son noyau latéral (LA), elle assimile des informations provenant de nombreuses aires cérébrales, recevant en particulier des afférences en provenance du thalamus et des régions corticales. Elle envoie également des projections issues pour leur majorité de son noyau central (CeA), mais également du noyau médian (MeA) (**Fig. 3**). L'amygdale établit ainsi des connexions indirectes avec le NPV, lui permettant de réguler l'axe corticotrope, qu'elle potentialise. Elle réalise également des synapses réciproques directes avec d'autres structures nerveuses impliquées dans la réponse de stress, en particulier l'hippocampe et le cortex préfrontal. Ces connexions lui confèrent un rôle modulateur des comportements, notamment en cas de stress.

Les modifications de l'amygdale observées après un stress touchent en particulier son architecture dendritique, ainsi que la force des connexions établies avec le cortex préfrontal et l'hippocampe. Ces changements sont dépendants du type et de la chronicité du stress ainsi que des connexions établies entre l'amygdale et les autres structures neuronales. Il est également à souligner que les différents noyaux de l'amygdale ne sont pas tous impliqués de la même façon dans la régulation de la réponse de stress. En effet, alors que le noyau CeA est activé en cas de stress systémiques (inflammation, hémorragie...), les noyaux MeA et basolatéral (BLA) sont recrutés dans le cadre de stress psychogéniques (un stress de contention par exemple) (Jankord et Herman, 2008; Rodrigues et al., 2009; Zhang et al., 2021).

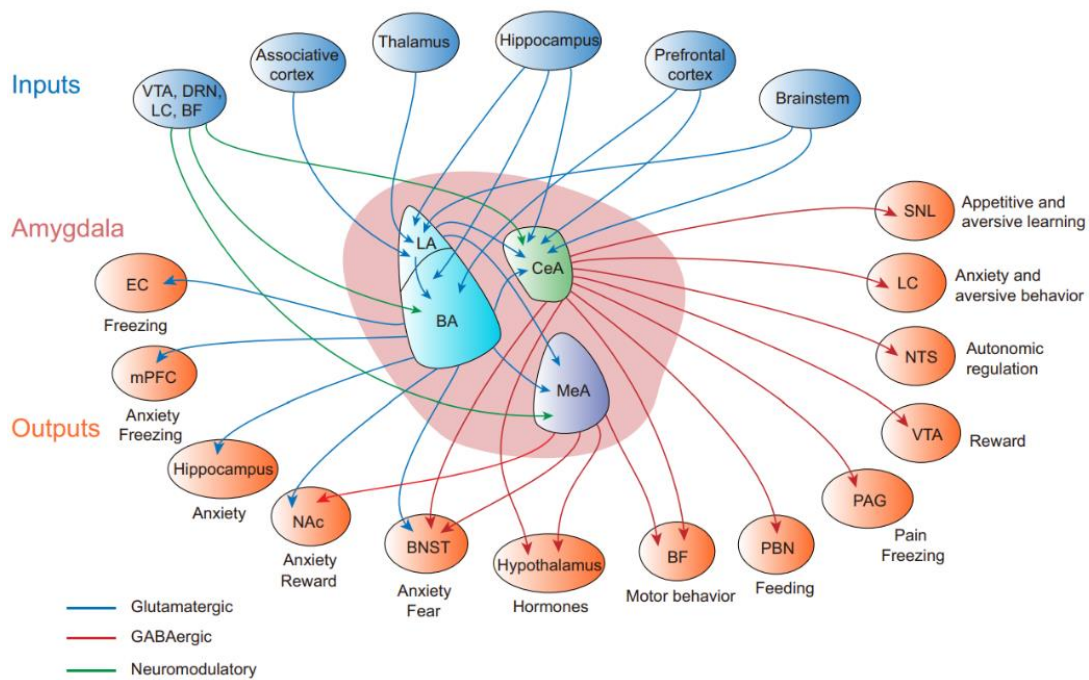


Figure 3. Afférences et efférences des noyaux majeurs de l'amygdale. BA, basal amygdala; BF, basal forebrain; BNST, bed nucleus of the stria terminalis; CeA, central amygdala; DRN, dorsal raphe nucleus; EC, entorhinal cortex; GABAergic, gamma-aminobutyricacidergic; LA, lateral amygdala; LC, locus coeruleus; MeA, medial amygdala; mPFC, medial prefrontal cortex; NAc, nucleus accumbens; NTS, nucleus of the solitary tract; PAG, periaqueductal gray; PBN, parabrachial nucleus; SNL, lateral substantia nigra; VTA, ventral tegmental area. D'après Zhang et al. (2021).

1.4.2- L'hippocampe

L'hippocampe, également situé dans le lobe temporal, possède quant à lui un rôle majeur dans le rétrocontrôle négatif exercé sur l'axe corticotrope. Son influence inhibitrice sur ce dernier trouve son origine au niveau de l'hippocampe ventral, plus précisément au sein du subiculum ventral. Tout comme pour l'amygdale, les efférences du subiculum ventral vers le NPV sont en majorité indirectes. Si la régulation de la réponse au stress dépend en grande majorité de l'activité du subiculum ventral, ce dernier est plutôt activé dans le cas de stress dû à des facteurs psychogéniques et non systémiques.

Enfin, les projections réciproques entre l'amygdale (BLA et CeA) et l'hippocampe ventral sont associées au rappel et au renouvellement de la réaction de peur liée à un contexte émotionnel et auraient un rôle dans l'augmentation de l'anxiété associée à l'anticipation d'un événement stressant (Jankord et Herman, 2008; Ulrich-Lai et Herman, 2009; Zhang et al., 2021).

1.4.3- Le cortex préfrontal

Le cortex préfrontal, et plus spécifiquement sa partie médiane (CPFm), influence également négativement l'activité de l'axe corticotrope. À nouveau, cette modulation suivant un stress est très sensible au type et à la durée du stress, selon les subdivisions du CPFm. Ainsi, le CPFm prélimbique est plutôt impliqué dans le stress psychogénique, et le CPFm infralimbique dans le stress systémique.

Les connexions réciproques entre l'amygdale et le CPFm sont reliées aux conséquences du stress sur les comportements en lien avec les fonctions cognitives supérieures et l'expression de comportements de type anxieux (Jankord et Herman, 2008; Ulrich-Lai et Herman, 2009; W.-H. Zhang et al., 2021).

2- Influence du stress sur la transmission neuronale

Comme décrit ci-dessus, le stress et ses médiateurs induisent l'activation d'aires cérébrales spécifiques en interaction les unes avec les autres. Ces interactions nécessitent la libération de neurotransmetteurs appropriés, associées à des phénomènes de plasticité synaptique. De fait, le stress module la transmission neuronale, notamment celles dépendant du glutamate et de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), principaux neurotransmetteurs respectivement excitateur et inhibiteur au sein du système nerveux central (Joëls et Baram, 2009; Ulrich-Lai et Herman, 2009).

2.1- Quelques rappels sur la plasticité synaptique

La plasticité synaptique est une des fonctions les plus fondamentales du système nerveux. Elle désigne la modification de la force et/ou de l'efficacité d'une connexion nerveuse, en réponse à une activité neuronale spécifique. Ces changements, plus ou moins durables dans le temps, sont considérés comme indispensables dans les apprentissages et la mémoire et constituent des mécanismes essentiels de l'adaptation neuronale. Initialement décrits au niveau de synapses excitatrices, ces phénomènes de plasticité ont également été observés au sein des synapses inhibitrices, et peuvent se dérouler sur le court ou le long terme (Citri et Malenka, 2008; Magee et Grienberger, 2020).

2.1.1- Différents types de plasticité

La plasticité à court terme

La plasticité à court terme, d'une durée variant de plusieurs millisecondes à quelques minutes, influence le traitement de l'information neuronale par les synapses, et jouerait un rôle dans les processus d'adaptation et de mémoire à court terme. Elle est en général déclenchée par une brève activité neuronale « en burst », conduisant à une accumulation temporaire de calcium au niveau présynaptique. Cette dernière influence la probabilité de libération en présynaptique de vésicules contenant des neurotransmetteurs, et le type de plasticité à court terme qui en résulte.

Les formes les plus brèves de cette plasticité (quelques millisecondes) peuvent être évaluées via des protocoles de stimulations appariées (« paired-pulse »), qui consistent à dispenser, au niveau des neurones ou de la structure d'intérêt, deux stimulations électriques successives identiques, séparées par un bref intervalle de temps. Chaque stimulus déclenchant une réponse neuronale, celle induite lors du second stimulus peut alors être augmentée par rapport à la première, on parle de facilitation (« paired-pulse facilitation », PPF), ou diminuée, il s'agit alors d'une inhibition ou d'une dépression (« paired-pulse inhibition/depression », PPI/PPD). Souvent, une PPD sera observée pour des intervalles de temps, entre les deux stimulations, inférieurs à 20 ms, et une PPF pour des intervalles de l'ordre de 20 à 500 ms. Une même synapse peut présenter ces deux formes de plasticité à court terme, selon l'activité neuronale récente au niveau de cette connexion. Une synapse avec déjà une probabilité élevée de libération de vésicules présentera une PPD, à l'inverse une synapse associée à une faible probabilité de libération de vésicules exposera une PPF.

D'autres formes de plasticité à court terme plus durables (quelques secondes à plusieurs minutes) existent également. Ces dernières sont induites à l'aide de stimulations prolongées (200 ms à 5 s) répétitives, voire tétaniques, à haute fréquence (10-200 Hz), et prennent la forme d'une potentialisation post-tétanique, ou dans certains cas d'une dépression (Citri et Malenka, 2008).

La plasticité à long terme

Les phénomènes de plasticité à long terme, pouvant perdurer quelques heures voire plusieurs jours, sont associés aux apprentissages ainsi qu'aux processus mnésiques. Le concept de plasticité à long terme a été initialement proposé il y a plus d'un siècle par Ramon y Cajal.

Il est repris en 1949 par Donald Hebb, qui postule que la mémoire se formerait dans le cerveau suite à un renforcement de l'efficacité synaptique, due à la concomitance d'une activité neuronale persistante en pré et post-synaptique (Hebb, 1949). Ce n'est que dans les années 70 que Bliss et ses collaborateurs apportent la preuve expérimentale de l'existence d'une telle plasticité au sein de l'hippocampe. Ils démontrent alors que la stimulation à haute fréquence (> 50 Hz) d'une afférence excitatrice (la voie perforante) induit dans l'élément post-synaptique (le gyrus denté hippocampique) une augmentation de la force synaptique (Bliss et Lømo, 1973). Ce phénomène, dénommé potentialisation à long terme (LTP), ainsi que son pendant, la dépression à long terme (LTD), obtenue suite à une stimulation à basse fréquence (1 – 5 Hz) de l'élément présynaptique, ont été largement étudiés, et constituent les deux formes prototypiques de plasticité à long terme (Citri et Malenka, 2008; Magee et Grienberger, 2020).

Les formes de LTP et LTD les plus connues sont celles dépendant de l'activation de récepteurs ionotropiques au glutamate, que sont les récepteurs AMPA (alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid) et NMDA (N-methyl-D-aspartate) (**Fig.4**). Il s'agit de récepteurs canaux permettant l'entrée de cations au niveau du neurone post-synaptique. Les récepteurs AMPA permettent ainsi le passage des ions sodium (Na^+), et les NMDA laissent à la fois entrer les ions Na^+ , mais surtout les ions calcium (Ca^{2+}). En conditions basales, les récepteurs AMPA interviennent dans la transmission neuronale rapide normale, assurant la propagation de l'influx nerveux. Les récepteurs NMDA sont quant à eux inactifs, en raison du blocage de leur canal par des ions magnésium (Mg^{2+}). Ils ne rentrent en jeu qu'en cas d'activité élevée de la part des neurones présynaptiques, dont la dépolarisation permet l'expulsion du bouchon Mg^{2+} , et donc l'entrée massive de Ca^{2+} dans le neurone postsynaptique. Cette activation des récepteurs NMDA facilite également l'entrée de Ca^{2+} par l'ouverture de canaux calciques dépendants du voltage.

Aussi, l'expression d'une LTP demandant une forte activation initiale de ces récepteurs NMDA, elle nécessite expérimentalement l'utilisation d'une stimulation à haute fréquence. L'augmentation de calcium post synaptique qui en découle, conduit à une cascade de signalisation intracellulaire dépendante de kinases, à une augmentation de la conductance des récepteurs AMPA, et promeut l'incorporation et la stabilisation de récepteurs AMPA supplémentaires au niveau post-synaptique (**Fig.4**). Le maintien dans le temps de cette plasticité dépend de processus transcriptionnels et de la synthèse de protéines, mais également de l'action de Rho-kinases et de messagers rétrogrades, associés à des modifications structurelles de l'arborisation dendritique des cellules. Enfin, des récepteurs métabotropiques, couplés à des

protéines G, participent à ces changements et les amplifient, en mobilisant les ions Ca^{2+} issus des réserves intracellulaires (réticulum endoplasmique) (Citri et Malenka, 2008; O’Kane et al., 2004; B.-B. Zhang et al., 2019).

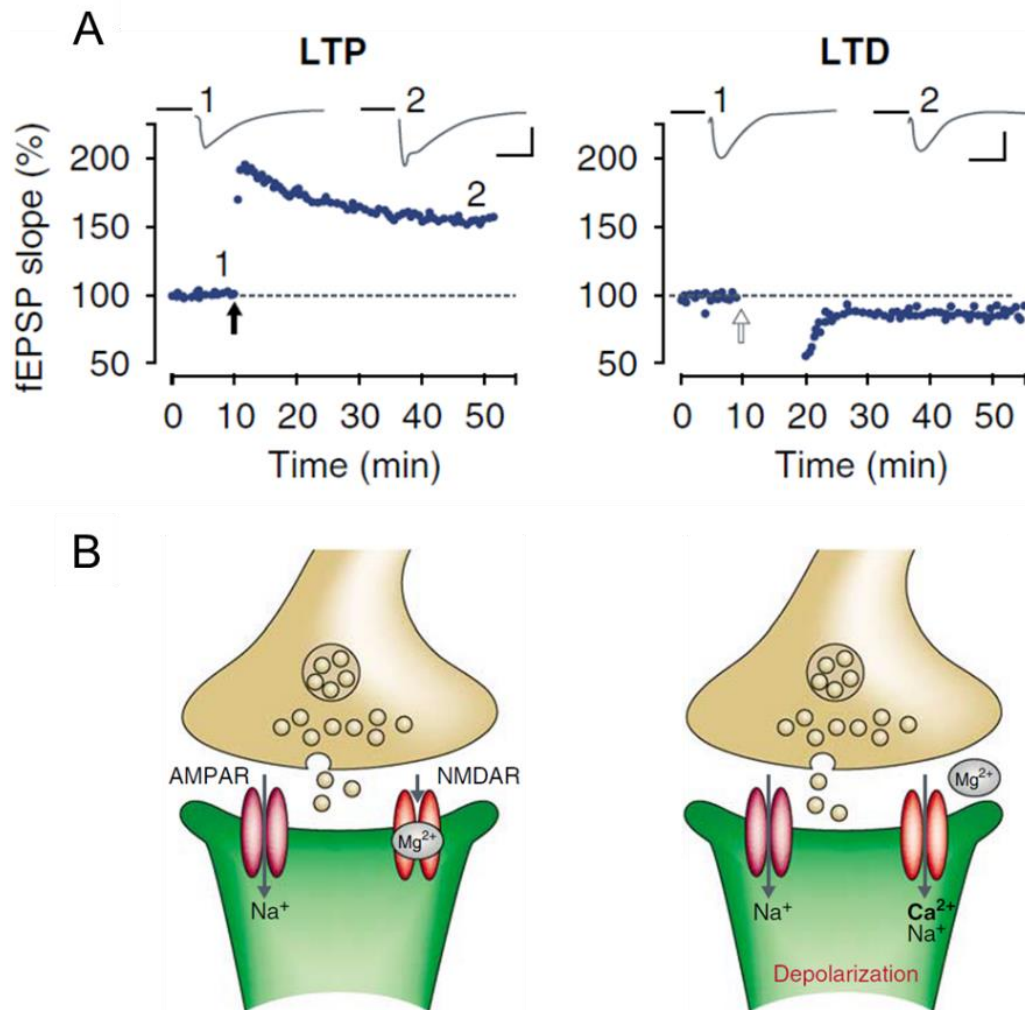


Figure 4. Principe de la LTP et de la LTD dépendantes des récepteurs NMDA au niveau des synapses excitatrices de l'hippocampe. (A) Exemple de LTP (à gauche) et de LTD (à droite) au niveau de l'aire CA1 de l'hippocampe, induites respectivement par une stimulation haute fréquence (100 Hz pendant 1 s; flèche noire) et une stimulation basse fréquence (5 Hz pendant 3 min; flèche blanche). La force des connexions synaptiques correspond au pourcentage de variation de l'amplitude des potentiels de champ post-synaptiques excitateurs (fEPSP, normalisés par rapport à la baseline) en fonction du temps. *Échelle : 0.5 mV; 10 ms.* (B) Principe de fonctionnement de la plasticité à long terme des synapses excitatrices. Lors de la transmission synaptique basale (à gauche), le glutamate libéré dans la fente synaptique se lie aux récepteurs AMPA et NMDA mais ces derniers, contrairement aux récepteurs AMPA, ne laissent pas passer les ions Na^+ , du fait d'un blocage induit par les ions magnésium (Mg^{2+}). Lors d'une dépolarisation en postsynaptique (à droite), le blocage des récepteurs NMDA induit par les ions Mg^{2+} est levé, permettant leur ouverture et le passage d'ions Na^+ et Ca^{2+} . L'augmentation subséquente de Ca^{2+} au niveau des épines dendritiques permet d'enclencher la cascade de signalisation nécessaire à l'induction de plasticité à long terme. *Adapté d'après Citri et Malenka (2008).*

L'induction d'une LTD nécessite quant à elle une faible activation des récepteurs NMDA, ce qui expérimentalement, est réalisé à l'aide d'une stimulation prolongée à basse fréquence. Les faibles niveaux de calcium en postsynaptique résultant de cette activation modeste des récepteurs NMDA, conduisent à l'activation de phosphatases, qui induisent l'endocytose des récepteurs AMPA (**Fig.4**). Le maintien dans le temps de cette plasticité pourrait également dépendre de mécanismes transcriptionnels (Citri et Malenka, 2008).

D'autres formes de plasticité à long terme existent, telles que la LTP présynaptique, la LTD dépendante de l'activation de récepteurs métabotropiques du glutamate (mGlu) ou encore la LTD dépendante de la libération d'endocannabinoïdes (Citri et Malenka, 2008).

Le cas des synapses inhibitrices

Si ces phénomènes de plasticité ont originellement été décrits au sein de synapses excitatrices, il est aujourd'hui acquis que les connexions inhibitrices présentent également une plasticité synaptique, à court comme à long terme, dépendante de l'activité neuronale. Les mécanismes impliqués sont cependant très variés, mettant en jeu des processus pré et/ou postsynaptiques, nécessitant parfois le concours de la transmission glutamatergique, et dépendant grandement des populations neuronales impliquées ainsi que du tissu nerveux dans lequel ces phénomènes plastiques prennent place. De manière générale, ces processus plastiques modulent la libération de GABA au niveau présynaptique et/ou modifient le nombre ainsi que l'activité des récepteurs au GABA de type A (GABA_A) (Castillo et al., 2011; Maffei, 2011).

La plasticité à long terme des synapses GABAergiques peut être attribuée à un changement d'efficacité de la transmission inhibitrice d'origine présynaptique ou postsynaptique (Castillo et al., 2011).

- Les formes présynaptiques sont classiquement hétérosynaptiques, c'est-à-dire nécessitant l'activation des synapses excitatrices (glutamatergiques) voisines, qui interviennent soit :
 - Directement sur l'élément présynaptique GABAergique, en activant les récepteurs NMDA qui y sont localisés et conduisant à une LTP ou LTD des synapses inhibitrices. Ces changements sont dépendants d'une élévation intracellulaire en calcium (**Fig. 5A**).
 - Via le concours de messagers rétrogrades. Il s'agit de molécules synthétisées au niveau de l'élément postsynaptique, suite à une activité neuronale excitatrice, exerçant leur action au niveau de l'élément présynaptique. Certains, tels que les endocannabinoïdes (eCB), induisent une LTD, d'autres comme le BDNF (brain-derived neurotrophic

factor) et le monoxyde d'azote (NO) déclenchent au contraire une LTP. La libération seule de ces messagers n'est pas suffisante pour induire des phénomènes de plasticité. En effet, une activité neuronale préalable est nécessaire, de même que dans certains cas une augmentation intracellulaire de calcium, ou encore la liaison du glutamate à ses récepteurs mGlu de type 1 (**Fig. 5B-D**).

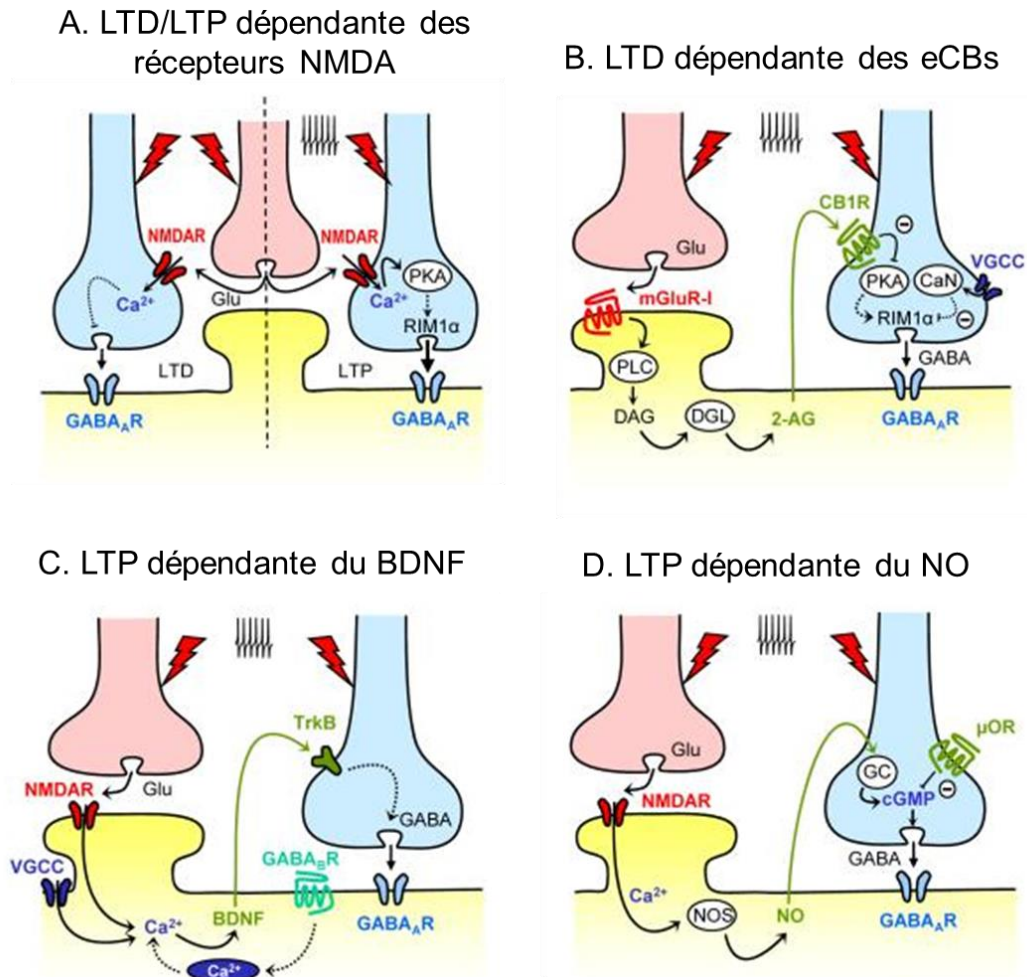


Figure 5. Mécanismes moléculaires sous-tendant les différentes formes de plasticité présynaptique de la transmission GABAergique, après la stimulation répétée d'une afférence. (A) Plasticité à long terme dépendante de l'activation directe des récepteurs NMDA des synapses inhibitrices, par le glutamate libéré au niveau des synapses excitatrices voisines. (B-D) Plasticité à long terme dépendante de messagers rétrogrades. L'activité neuronale excitatrice induit, selon différents mécanismes, la libération de messagers rétrogrades, eCBs (B), BDNF (C) ou encore NO (D), lesquels déclenchent ensuite la cascade de signalisation cellulaire nécessaire à l'induction de LTD ou LTP, selon le messager. *CaN*, calcineurin; *CB1R*, récepteur cannabinoïde de type 1; *cGMP*, guanosine monophosphate cyclique; *DAG*, diacylglycérol; *DGL*, diacylglycerol lipase; *GC*, guanylate cyclase; *Glu*, glutamate; *mGluR-I*, récepteur métabotrope au glutamate de type 1; μ *OR*, récepteur aux opiacés μ ; *NOS*, nitric oxide synthase; *PKA*, protéine kinase A; *PLC*, phospholipase C; *RIM1 α* , domaine multiprotéique *RIM 1 α* ; *TrkB*, récepteur à la tyrosine kinase B; *VGCCs*, canaux calciques voltage-dépendants; *2-AG*, 2-Arachidonylglycérol (un eCB). Adapté d'après Castillo et al. (2011).

- Les formes postsynaptiques peuvent quant à elles mettre en jeu différents mécanismes cellulaires, dont :
- Des changements de la concentration intracellulaire en ions chlorures, et du gradient cellulaire associé, dont dépend l'efficacité de la transmission GABAergique (Castillo et al., 2011). Ce mécanisme est abordé plus en détails au cours du chapitre suivant.
 - La phosphorylation ou déphosphorylation des récepteurs GABA par des kinases (PKC, CaMKII, PKA) et phosphatases (calcineurine), afin de moduler leur activité (Arancibia-Cárcamo et Kittler, 2009; Castillo et al., 2011; Houston et al., 2009).
 - La modification du transport vésiculaire, avec par exemple une augmentation de l'exocytose ou de l'endocytose des récepteurs GABA_A, entraînant respectivement l'augmentation ou la réduction de la transmission inhibitrice (Arancibia-Cárcamo et Kittler, 2009; Castillo et al., 2011).

La métaplasticité

La métaplasticité, décrite par Abraham et Bear (1996), se définit comme étant la plasticité de la plasticité synaptique. Elle s'illustre par son aptitude à modifier la capacité des synapses, excitatrices comme inhibitrices, à exprimer des phénomènes plastiques tels que la LTP et/ou la LTD, suite aux modifications de l'activité neuronale ou d'un protocole expérimental, le cas échéant. Ce phénomène, dû à des changements neuronaux persistants induits par l'activité antérieure des synapses, pourrait impliquer de nombreux mécanismes, dont une altération de la fonction des récepteurs NMDA, l'activation de récepteurs métabotropiques du glutamate (types 1 et 5), ou encore des modifications du trafic des récepteurs AMPA vers la membrane postsynaptique (Abraham, 2008).

2.2- Le stress et les transmissions excitatrice et inhibitrice

Les transmissions excitatrices et inhibitrices dans le cerveau mature sont principalement médiées par le glutamate et le GABA. La coopération de ces deux composantes est nécessaire au maintien de l'équilibre des réseaux neuronaux, et sous-tend les fonctions cérébrales. Le stress, en agissant sur cet équilibre, d'abord au sein de structures clés de l'axe corticotrope, telles que le NPV, ensuite au niveau des structures limbiques, influence ces fonctions cérébrales.

2.1.2- Au sein du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus

Les neurones parvocellulaires libérant la CRH au sein du NPV ont un rôle déterminant dans l'activation de l'axe corticotrope, ils intègrent ainsi de nombreux signaux excitateurs et inhibiteurs afin d'ajuster l'activité de l'axe, et réguler la réponse de stress (Herman et al., 2002). De fait, le NPV reçoit un grand nombre d'afférences glutamatergiques et GABAergiques provenant d'aires cérébrales intra et extra-hypothalamiques (Herman et al., 2004; Miklós et Kovács, 2012; Pol et al., 1990). Certaines de ces connexions servent de relai aux structures impliquées dans la régulation des émotions et du stress, telles que l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal, lesquelles ne réalisent que peu, voire aucune connexion directe avec le NPV, comme précisé en amont (Cullinan et al., 2008; Herman et al., 2002).

La transmission glutamatergique

Les afférences glutamatergiques du NPV sont impliquées dans l'activation de l'axe corticotrope (Boudaba et al., 1997; Darlington et al., 1989; Makara et Stark, 1975; Pol et al., 1990; Wuarin et Dudek, 1991), et dans la réponse de stress (Ziegler et Herman, 2000). Le stress peut en effet agir sur cette transmission glutamatergique en induisant des phénomènes de plasticité synaptique. Ainsi, chez les rongeurs, une exposition à un stress aigu conduit, via la libération locale de CRH, à une diminution de l'expression des récepteurs NMDA, et donc de la transmission excitatrice associée. Cette réduction de l'excitation dépendante des récepteurs NMDA empêcherait alors la libération de certains messagers inhibiteurs. Cela a pour conséquence d'entraîner, suite à une stimulation haute fréquence, une potentialisation à court terme de la transmission excitatrice au sein du NPV. Cette potentialisation à court terme serait due à une modification du mode de libération du glutamate, qui passerait d'un mode monovésiculaire à multivésiculaire, changement pouvant perdurer jusqu'à 72 heures après induction du stress (Kuzmiski et al., 2010).

D'autres types de stress, survenant précocement au cours de la vie, ou de façon chronique à l'âge adulte, peuvent également générer une altération des acteurs de la transmission excitatrice, allant dans le sens d'une augmentation du nombre d'afférences glutamatergiques sur le NPV. Ce phénomène pourrait être à l'origine de l'hyperactivité et hyper-réactivité de l'axe corticotrope, observées lors d'un stress chronique (Flak et al., 2009; Gunn et al., 2013; Miklós et Kovács, 2012).

Enfin les médiateurs du stress, la noradrénaline et les GCs, induisent une augmentation de l'expression de récepteurs du glutamate mGlu, respectivement les types 1 (mGlu1) et 5

(mGlu5), au niveau du NPV. La cascade de signalisation intracellulaire résultant de leur activation module la plasticité au sein des synapses GABAergiques environnantes, démontrant la nécessité d'une interaction entre excitations et inhibitions dans la régulation de l'activité de l'axe corticotrope (Inoue et al., 2013; Wamsteeker Cusulin et al., 2013).

La transmission GABAergique

Parmi les nombreuses afférences reçues par le NPV, environ la moitié est constituée de projections GABAergiques (Miklós et Kovács, 2012). L'omniprésence de ces projections suppose l'existence d'un contrôle inhibiteur essentiel exercé sur le NPV et donc sur l'axe corticotrope. Conformément à cette idée, il a été démontré chez les rongeurs que l'injection de bicuculline, un antagoniste des récepteurs GABA_A, au sein du NPV en l'absence de stress, accroît l'activité des neurones parvocellulaires, et augmente le niveau de GCs circulants (Cole et Sawchenko, 2002; Hewitt et al., 2009). L'injection au niveau du NPV d'un neurostéroïde, la tétrahydrodésocorticostérone (THDOC), diminue l'activité de l'axe corticotrope, suggérant que les GCs favoriseraient l'action GABAergique exercée sur le NPV en absence de stress, concordant avec leur rôle dans le rétrocontrôle négatif de l'axe corticotrope (Sarkar et al., 2011).

Cependant, l'injection de bicuculline ne déclenche pas d'effet immédiatement suivant un stress (Cullinan et al., 2008; Hewitt et al., 2009), et potentialise l'augmentation subséquente des GCs une heure après (Cullinan et al., 2008). Par ailleurs, l'injection de THDOC entraîne, 30 min après un stress, une augmentation de l'activité des neurones parvocellulaires, et amplifie les niveaux de GCs circulants (Sarkar et al., 2011). Le stress influence donc la transmission GABAergique au sein du NPV de façon transitoire, désinhibant les neurones parvocellulaires afin d'initier et d'amplifier la réponse neuroendocrine, laquelle est, dans un deuxième temps, négativement modulée par les GCs.

De même que pour la transmission glutamatergique, le stress peut également influencer la plasticité de la transmission inhibitrice sur les neurones parvocellulaires hypothalamiques. Les synapses GABAergiques au sein du NPV présentent une plasticité bidirectionnelle, pouvant exprimer à la fois des phénomènes de LTP ou de LTD, respectivement suite à une stimulation haute ou basse fréquence des afférences du NPV. Cette plasticité ne s'exprime cependant qu'après l'induction d'un stress de contention de 30 minutes, supposant que ce dernier agit en tant que signal métaplastique. De plus, si la LTP de ces synapses inhibitrices est induite immédiatement suivant le stress, une LTD ne s'observe que 90 minutes après. Enfin, alors que l'apparition de LTP est dépendante des récepteurs mGlu1, et nécessite l'action de la

noradrénaline sur ses récepteurs β -adrénergiques, la LTD est quant à elle induite via l'activité des récepteurs mGlu5, et dépend de la liaison des GCs sur leurs récepteurs (Inoue et al., 2013; Wamsteeker Cusulin et al., 2013).

D'autres paradigmes de stress induisent également des modifications de la transmission GABAergique au sein du NPV. Par exemple, un stress chronique peut induire des modifications de l'expression de sous-unités des récepteurs GABA_A (Cullinan et Wolfe, 2000; Verkuyt et al., 2004) ou encore altérer le nombre de contacts synaptiques GABAergiques ainsi que leur distribution (Miklós et Kovács, 2012), mécanismes allant dans le sens d'une désinhibition de l'axe corticotrope.

Cette régulation du stress sur l'activité de l'axe corticotrope impliquerait une transition de l'activité inhibitrice du GABA sur le NPV vers une activité GABAergique excitatrice, imputable à une altération de l'homéostasie du chlorure (Hewitt et al., 2009; Sarkar et al., 2011).

Les cotransporteurs au chlorure KCC2 et NKCC1

Les récepteurs ionotropiques GABA_A sont en effet des récepteurs canaux, perméables aux ions chlorures (Cl⁻) consécutivement à la liaison du GABA. Le cas échéant, l'effet de ce dernier dépendra des concentrations intra et extra-cellulaires en ions Cl⁻. Dans l'éventualité d'une concentration intracellulaire en ions Cl⁻ ([Cl⁻]_i) élevée, le potentiel d'inversion du chlorure (E_{Cl}) est plus positif que le potentiel de repos de la cellule (E_{repos}). L'ouverture des canaux GABA_A entraîne alors la sortie d'ions Cl⁻ de la cellule, et donc une dépolarisation. En revanche, une [Cl⁻]_i basse impliquant un E_{Cl} plus négatif que E_{repos} induira, lors de l'ouverture des récepteurs GABA_A, une entrée d'ions Cl⁻, et donc une hyperpolarisation (**Fig. 6**) (Ben-Ari et al., 2012).

Le maintien de cette homéostasie est assuré par deux cotransporteurs, que sont NKCC1 (sodium-potassium chloride cotransporter 1), qui fait entrer les ions Cl⁻ dans la cellule et KCC2 (potassium chloride cotransporter 2) qui a pour rôle de les faire sortir. En conditions physiologiques, NKCC1 est très actif chez les neurones immatures et favorise un effet dépolarisant du GABA. Au cours du développement, NKCC1 devient inactif et KCC2 assure un effet hyperpolarisant du GABA (**Fig. 6**) (Ben-Ari et al., 2012). Ainsi, l'homéostasie du chlorure étant déterminante dans l'inhibition dépendante du GABA, l'altération de l'un ou l'autre de ces cotransporteurs peut donc avoir un impact majeur sur l'efficacité de l'inhibition GABAergique au sein des structures cérébrales.

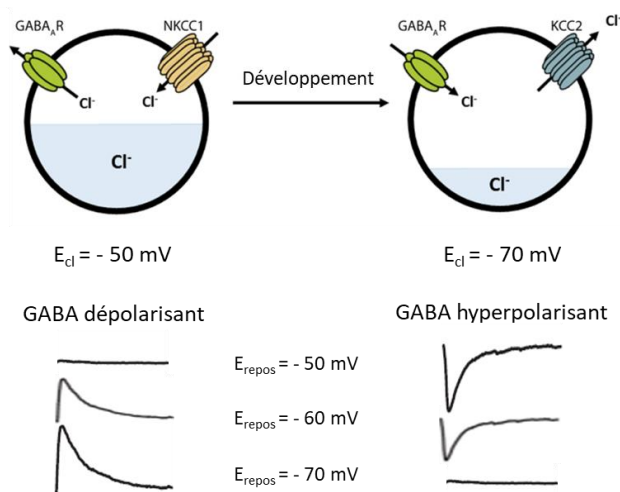


Figure 6. Régulation de l'homéostasie du chlorure par les co-transporteurs KCC2 et NKCC1. KCC2 et NKCC1 participent au maintien de l'homéostasie du chlorure en faisant respectivement sortir et entrer les ions Cl^- . La liaison du GABA sur ses récepteurs GABA_A perméabilisant ces derniers aux ions Cl^- , l'efficacité de la transmission GABAergique dépend de l'activité des transporteurs KCC2 et NKCC1. Au cours du développement, le ratio NKCC1/KCC2 diminue et le GABA jusqu'alors dépolarisant devient hyperpolarisant. *Adapté d'après Côme et al. (2019).*

Dans le cas de la désinhibition de l'axe corticotrope suivant un stress, il a été démontré que ce dernier entraînait une diminution de l'expression de KCC2 au niveau des neurones parvocellulaires au sein du NPV, conduisant à une augmentation de chlorure intracellulaire et donc favorisant un effet excitateur du GABA (Hewitt et al., 2009; Sarkar et al., 2011). Cette perturbation de l'homéostasie du chlorure, associée à la modulation de la plasticité engendrée par le stress, suppose une possible interaction entre ces phénomènes. La LTP GABAergique induisant l'entrée d'ions Cl^- dans les cellules, elle renforcerait un effet dépolarisant du GABA dans un contexte favorisant son effet excitateur, comme dans le cas du stress. La LTD produirait alors l'effet inverse, contribuant à un effet inhibiteur du GABA (Inoue et Bains, 2014).

3.1.2- Au sein des structures limbiques

Au-delà de son influence directe sur l'axe corticotrope, les stress exerce ses effets sur les transmissions glutamatergique et GABAergique au sein des structures limbiques, riches en récepteurs aux GCs.

L'amygdale

Dans l'amygdale, un stress aigu favorise l'induction de LTP au sein du BLA (Vouimba et al., 2004, 2006). Par ailleurs, un stress aigu bloque la LTP de la voie amygdalo-préfrontale (Maroun et Richter-Levin, 2003), mais favorise une LTD de la voie préfronto-amygdalienne (Maroun, 2006).

L'amygdale subit des changements morphologiques lors d'un stress chronique, lesquels diffèrent selon les noyaux amygdaliens et les populations neuronales concernées. En effet, alors que les cellules excitatrices au sein du BLA développent une hypertrophie dendritique durable

lors d'un stress chronique (Eiland et al., 2012; Roozendaal et al., 2009; Vyas et al., 2002, 2004, 2006), les neurones inhibiteurs du BLA et du MeA présentent au contraire une hypotrophie de leur arborisation dendritique (Bennur et al., 2007; Gilabert-Juan et al., 2011). Ces données issues d'études menées chez les rongeurs suggèrent donc une augmentation de la connectivité synaptique excitatrice au sein du BLA suivant un stress. En ce sens, Liu et ses collaborateurs (2020) ont mis en évidence une hyperexcitabilité des neurones excitateurs du BLA, possiblement due à une augmentation de la transmission glutamatergique en provenance du cortex préfrontal exercée sur ces mêmes cellules.

En parallèle, Wei et ses collaborateurs (2018) ont, quant à eux, révélé une baisse de l'inhibition des neurones excitateurs du BLA, en relation avec une diminution de la transmission glutamatergique en provenance du cortex préfrontal sur les neurones inhibiteurs du BLA. Dans l'ensemble, le stress induit donc une désinhibition globale de l'amygdale.

L'hippocampe

De nombreuses études se sont intéressées à l'effet du stress sur la plasticité hippocampique, de par son rôle prépondérant dans la mémoire. Chez les rongeurs, le stress aigu comme chronique, altère l'expression de LTP de la transmission excitatrice des aires CA1 et CA3 et dans le gyrus denté de l'hippocampe (Alfarez et al., 2003; Foy et al., 1987; Kim et al., 1996; Maroun et Richter-Levin, 2003; Pavlides et al., 2002; Shors et al., 1997; Shors et Dryver, 1994), et favorise l'induction de LTD dans le CA1 (Holderbach et al., 2007; Maroun et Richter-Levin, 2003; Xu et al., 1997).

Contrairement à ce qui est observé au sein de l'amygdale, un stress chronique induit plutôt une diminution de l'arborisation dendritique réversible des cellules excitatrices de l'hippocampe (Roozendaal et al., 2009; Sousa et al., 2000; Vyas et al., 2002), ainsi qu'une augmentation de la libération de glutamate, probablement à l'origine des changements morphologiques observés (Joëls et al., 2004; Popoli et al., 2012).

Enfin, les effets du stress aigu sur la fonction GABAergique varient, entraînant une augmentation ou une diminution des niveaux de GABA extracellulaires selon le type de stress (de Groote et Linthorst, 2007). Un stress chronique induit quant à lui une augmentation des courants spontanés inhibiteurs au niveau des cellules pyramidales excitatrices de l'hippocampe (Hu et al., 2010). Ces effets du stress sont très probablement en lien avec sa capacité à altérer le nombre et la fonction des cellules inhibitrices de l'hippocampe, effet très dépendant des types de stress et de neurones (Arancibia et al., 2001; Hu et al., 2010; Perlman et al., 2021).

Le cortex préfrontal

De façon similaire à ce qui est observé dans l'hippocampe, le stress altère l'induction de LTP au sein du cortex préfrontal (Quan et al., 2011) et favorise l'expression de LTD (Walker et al., 2015). Un stress aigu comme chronique altère également la LTP de la voie cortex préfrontal-hippocampe (Cerqueira et al., 2007; Rocher, 2004).

L'induction d'un stress aigu entraîne une augmentation de la transmission glutamatergique du cortex préfrontal, ainsi que de l'arborisation dendritique de ses cellules excitatrices (Musazzi et al., 2015). À l'inverse, un stress chronique a été mis en relation avec une hypotrophie de la morphologie dendritique des cellules glutamatergiques (Cook et Wellman, 2004; Radley et al., 2006). Le stress aurait donc un effet biphasique sur la transmission glutamatergique du cortex préfrontal.

Concernant la transmission GABAergique au sein du cortex préfrontal, en cas de stress chronique, on observe en général une diminution de la fonction GABAergique et des marqueurs moléculaires qui lui sont associés (Czeh et al., 2018; Duman et al., 2019; Ghosal et al., 2017; Veeraiyah et al., 2014), bien que McKlveen et ses collaborateurs (2016) aient cependant rapporté une augmentation de cette transmission inhibitrice. Ces modifications de la transmission GABAergique seraient dues à l'impact du stress sur l'activité des interneurons inhibiteurs au sein du cortex préfrontal. Qu'il soit chronique ou aigu, le stress influence également les effectifs des populations neuronales et l'activité des interneurons inhibiteurs du cortex. À nouveau, son effet est cependant très dépendant du paradigme de stress utilisé, ainsi que du type de neurone touché (Czeh et al., 2018; Joffe et al., 2022; Perlman et al., 2021).

Si le stress est avant tout une réponse adaptative de l'organisme, son intensité et/ou sa chronicité peuvent être à l'origine de pathologies. Son influence néfaste sur les processus émotionnels et cognitifs, peut en effet conduire à l'installation de troubles de l'humeur et de troubles anxieux, qui dépendrait d'un déséquilibre des transmissions glutamatergique et GABAergique au sein de structures cérébrales limbiques (Fogaça et Duman, 2019; Gellner et al., 2022; Graybeal et al., 2011; McEwen et al., 2016). Le stress peut également aggraver des situations préalablement pathologiques, comme dans le cadre de maladies neurodégénératives, telles que les maladies d'Alzheimer ou de Parkinson (Dallé et Mabandla, 2018; Hoeijmakers et al., 2017; Piirainen et al., 2017; Sotiropoulos et Sousa, 2016; van Wamelen et al., 2020).

Comme nous venons de le voir, l'influence du stress sur le système nerveux a principalement été décrite dans le cadre de la modulation de l'axe corticotrope et majoritairement au sein des structures cérébrales impliquées dans les apprentissages et la régulation des émotions (amygdale, hippocampe et cortex préfrontal). Or, en tant que réponse adaptative mettant en jeu des comportements spécifiques, qu'il s'agisse de réactions réflexes de « *fight or flight* » ou de stratégies motrices de coping, le stress semble étroitement lié au système moteur.

II- Le cortex moteur primaire

Le cortex moteur primaire est à l'origine des commandes motrices volontaires, lesquelles sont transmises aux muscles via le faisceau pyramidal. Malgré les différences existant entre les systèmes moteurs humain et murin, le cortex moteur présente des similitudes d'architecture laminaire et de composition cellulaire entre les deux espèces. Il est composé d'une majorité de neurones pyramidaux excitateurs et d'une minorité d'interneurones inhibiteurs très diversifiés. Ces populations neuronales sont agencées en circuits spécifiques, les interneurones en particulier garantissent l'équilibre entre excitations et inhibitions indispensable au fonctionnement optimal du cortex moteur primaire. Si ce dernier a longtemps été cantonné à un rôle purement moteur, les études anatomiques et fonctionnelles révélant ses connexions avec l'amygdale et les glandes surrénales, associées à la présence de glucocorticoïdes au sein du système moteur, suggèrent une implication du cortex moteur primaire dans la réponse au stress. Les travaux mettant en évidence une influence du stress sur les fonctions motrices appuient cette hypothèse, bien que l'on ne sache cependant que peu de choses sur son impact au sein du cortex moteur primaire, que ce soit en conditions physiologiques, comme pathologiques.

1- Présentation

1.1- Définition et fonctions

Le cortex moteur primaire, ou M1, constitue chez l'Homme la partie postérieure de l'aire motrice localisée à l'arrière du lobe frontal. Correspondant à l'aire 4 de Brodmann, il est situé juste en avant du sillon central, s'étend latéralement jusqu'au sillon latéral, et médialement, dans le sillon interhémisphérique, jusqu'au cortex cingulaire (Felten et al., 2015). Chez la souris, le M1 couvre une large zone du cortex frontal, sa délimitation ayant été caractérisée sur la base de microstimulations du cortex, associées à l'étude de sa cytoarchitecture (Tennant et al., 2011) (**Fig. 7**).

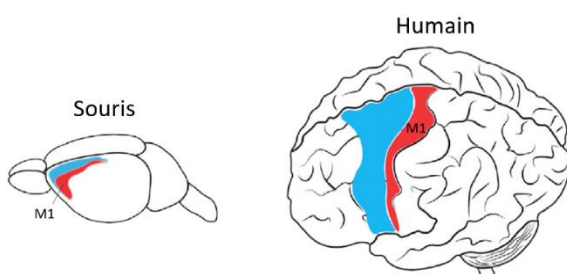


Figure 7. Aires motrices corticales chez la souris et l'Homme. L'aire motrice s'étend sur une large partie du cortex frontal chez l'être humain comme chez la souris. Le M1 est représenté en rouge. En bleu, on retrouve l'aire prémotrice chez l'Homme, et le cortex moteur secondaire chez la souris. *Adapté d'après Sahni et al. (2020).*

Le M1 est le centre d'exécution des mouvements volontaires. Il reçoit et intègre des afférences convergentes venant de structures sensorielles et motrices, et permet en retour la génération de mouvements, via le faisceau pyramidal. Au-delà de son implication dans le contrôle du mouvement, le M1 possède également un rôle conséquent dans les apprentissages moteurs (Bhattacharjee et al., 2021; Sanes et Donoghue, 2000).

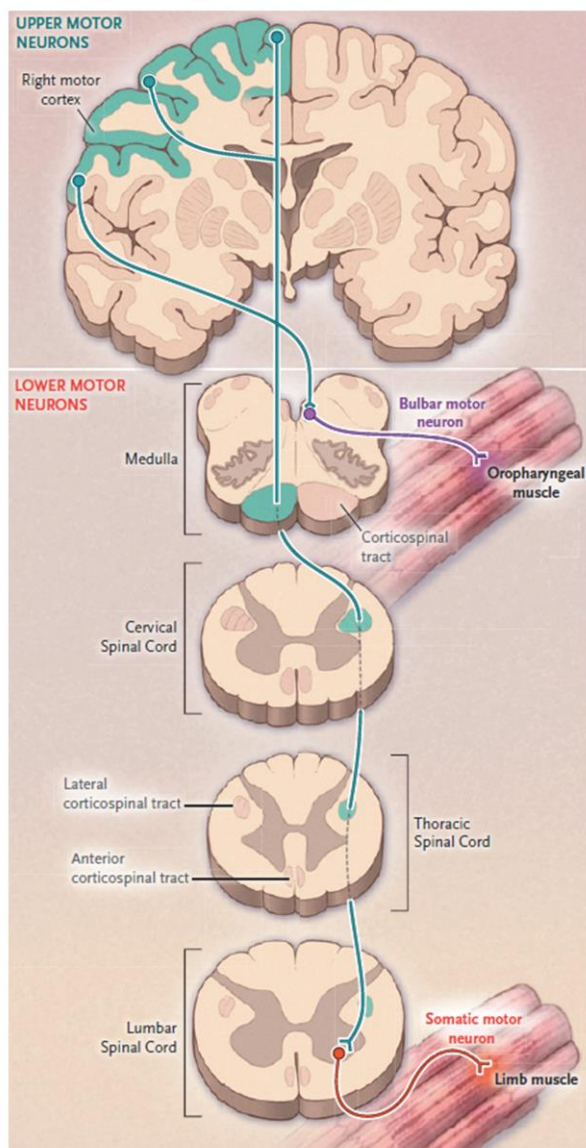


Figure 8. Représentation simplifiée du système moteur. Le système moteur est constitué des neurones moteurs supérieurs, au niveau du cortex moteur, lesquels contactent les neurones moteurs inférieurs, au sein du bulbe rachidien (voie corticobulbaire) et de la moelle épinière (voie corticospinale, seules les fibres ayant décussé sont représentées ici). Les neurones moteurs inférieurs innervent ensuite les muscles squelettiques. *Adapté d'après Brown et Al-Chalabi (2017).*

1.2- Le faisceau pyramidal

Le faisceau pyramidal, composé des voies corticospinale et corticobulbaire, constitue l'ensemble des fibres nerveuses descendantes, en provenance du cortex, atteignant le tronc cérébral et la moelle épinière. Les fibres motrices de cette voie, à l'origine des mouvements volontaires, sont issues des neurones pyramidaux localisés dans la couche 5 du cortex moteur, appelés neurones moteurs supérieurs.

Les axones de la voie corticospinale confluent en quittant le cortex, pour traverser la capsule interne et les pédoncules cérébraux, afin de rejoindre le tronc cérébral en position ventrale, jusqu'à atteindre la médulla. C'est au niveau de la jonction entre la médulla et la moelle épinière, que ~ 90 % de ces fibres décussent, avant de pénétrer la substance blanche spinale. Les fibres ayant décussé cheminent alors dans la moelle épinière controlatérale, dans la partie dorsale de la colonne latérale. Les 10 % des axones n'ayant pas traversé la ligne médiane progressent quant à eux dans la moelle épinière ipsilatérale, au niveau de sa partie ventrale. Enfin, les fibres nerveuses quittent la substance blanche pour contacter

les neurones moteurs inférieurs localisés au sein des cornes ventrales de la moelle épinière cervicale et lombaire. Les fibres constituant la voie corticobulbaire parcourent le même chemin, mais arrêtent leur course au niveau du tronc cérébral, où elles contactent les neurones moteurs inférieurs situés dans les centres moteurs en ipsilatéral et controlatéral, selon l'innervation des muscles (**Fig. 8**) (Felten et al., 2015; Welniarz et al., 2017).

Si la voie corticospinale est conservée chez tous les mammifères, il existe des différences anatomiques selon les espèces, en lien avec les comportements moteurs qui leur sont propres, notamment entre les primates et les rongeurs. L'une des différences les plus marquantes, est l'absence de connexions monosynaptiques entre les neurones moteurs supérieurs et inférieurs chez les rongeurs, qui sont à l'inverse très représentées chez l'Homme. Par ailleurs, contrairement à ce dernier, les fibres de la voie corticospinale ne constituent pas la commande descendante motrice principale du système moteur des rongeurs. Ces derniers sont en effet plus dépendants du système extrapyramidal (les voies réticulospinale et rubrospinale notamment). En conséquence, si une lésion de la voie corticospinale a des répercussions dramatiques chez l'Homme, ses effets seront moindres chez la souris, et pourront même être compensés par d'autres systèmes moteurs (Han et al., 2015; Lemon, 2008; Welniarz et al., 2017).

Malgré ces différences d'organisation du système moteur, le M1 présente de grandes similitudes dans son architecture comme dans sa composition cellulaire entre les rongeurs et les humains (Bakken et al., 2021).

2- Organisation générale du cortex

2.1- Architecture laminaire

Le néocortex des mammifères est classiquement subdivisé en six couches corticales, d'après le type, la taille et la densité des populations cellulaires qui le composent. La couche 1, la plus superficielle, aussi appelée couche moléculaire, est parcourue de prolongements axoniques et dendritiques. Elle est majoritairement constituée de cellules gliales, ainsi que de quelques cellules nerveuses. La couche 2, ou couche granulaire externe, est densément peuplée et contient principalement de petites cellules pyramidales. Elle reçoit des afférences provenant d'autres aires corticales. La couche 3, dénommée couche pyramidale externe, présente une majorité de cellules pyramidales de taille plus importante. La couche 4, ou granulaire interne, contient de petites cellules pyramidales et des neurones d'aspect étoilé et épineux. Elle reçoit

des afférences d'autres structures cérébrales, principalement le thalamus. La couche 5, couche pyramidale interne, est essentiellement constituée de neurones pyramidaux de diamètre important. Cette couche envoie des efférences au niveau de structures sous-corticales. Enfin la couche 6, la plus en profondeur, appelée couche fusiforme polymorphe présente une population dense de cellules fusiformes (**Fig. 9**) (Bannister, 2005; McColgan et al., 2020; Festen et al., 2015).

Bien que cette organisation laminaire soit uniformément retrouvée le long du néocortex, certaines couches corticales sont plus ou moins représentées selon la zone explorée, affichant des disparités de distribution et de densité cellulaires. Ces particularités reflètent la fonction des différentes aires corticales. Ainsi la couche 5, centre des efférences motrices, est particulièrement développée au sein du M1 (**Fig. 9**) (Festen et al., 2015).

Par ailleurs décrit comme étant agranulaire, le M1 a longtemps été présenté comme ne possédant pas de couche 4. Des études récentes menées chez les rongeurs ont cependant démontré la présence, au niveau de la zone corticale située entre les couches 3 et 5 du M1, de terminaisons synaptiques provenant du thalamus (Bopp et al., 2017). Ces afférences thalamiques ont été associées à des efférences provenant de cette même zone, vers les couches supérieures 2/3, avec une quasi absence de connexions longue distance vers d'autres aires corticales. Ces caractéristiques sont proches de la connectivité observée au sein de la couche 4, suggérant la présence de cette dernière au sein du M1 des rongeurs (Yamawaki et al., 2014). Elle diffère cependant de la couche 4 « classique », n'étant composée que de neurones pyramidaux (Yamawaki et al., 2014), et serait également présente chez les primates (García-Cabezas et Barbas, 2014).

Chez l'Homme, le M1 présente plusieurs subdivisions supplémentaires, selon la densité en cellules (couches 1A et 1B), leur taille (couches 3A, 3B et 3C), leur type (couches 5A et 5B) ou leurs projections (couches 6A et 6B). Les cortex moteurs des rongeurs et des primates sont similaires en termes d'architecture laminaire globale et de constitution cellulaire. Les couches 2 et 3 présentant une population pyramidale semblable, elles sont cependant regroupées entre elles chez la souris (couche 2/3). La couche 5 est quant à elle subdivisée en sous-couches 5A et 5B selon le type de neurones qui y sont localisés (Bakken et al., 2021; McColgan et al., 2020; Thomson, 2010).

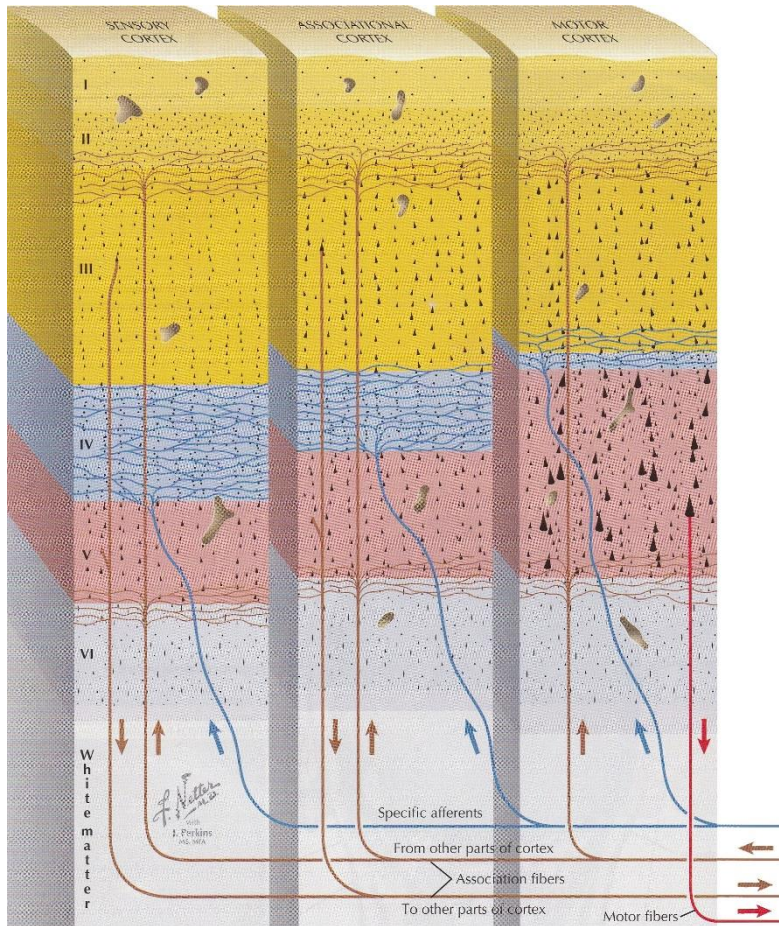


Figure 9. Organisation laminaire du néocortex. Le néocortex est constitué de six couches, possédant une cytoarchitecture caractéristique de leur fonction. Recevant des afférences spécifiques provenant de structures intra ou extra-corticales selon la couche, le cortex projette également vers d'autres aires corticales et sous-corticales, notamment via la couche 5. Uniforme dans son agencement général, cette organisation laminaire présente tout de même des spécificités reflétant la fonction de l'aire corticale concernée. Ainsi le cortex moteur possède une couche 5 très développée, de par son rôle prépondérant dans le contrôle du mouvement. *Adapté d'après Festen et al. (2015).*

Bien que cette subdivision laminaire repose principalement sur la répartition et la densité en cellules excitatrices le long du cortex, le réseau neuronal néocortical est communément défini comme étant constitué de deux populations neuronales distinctes interconnectées :

- Les neurones excitateurs glutamatergiques, les cellules pyramidales (CPs)
- Les neurones inhibiteurs GABAergiques, appelés interneurons (INs)

2.2- Populations neuronales impliquées

2.2.1- Cellules pyramidales excitatrices

Les CPs constituent la majorité de la population neuronale corticale et sont à l'origine de l'activité glutamatergique excitatrice générée au sein du néocortex. Ces neurones sont caractérisés par la présence d'une dendrite apicale verticale orientée vers la surface corticale, associée à la présence de dendrites basales émergeant latéralement de leur soma. Les CPs assurant la propagation de l'information neuronale, il en existe différents types, catégorisés selon les cibles qu'elles contactent (**Fig. 10**).

- Les CPs intratélencéphaliques (IT) projettent, comme leur nom l'indique, exclusivement vers des structures au sein du télencéphale. De diamètre modeste, ces neurones sont répartis au sein des couches 2/3, 5 et 6 et projettent vers le cortex (cortico-cortical) et/ou vers le striatum (cortico-striatal).
- Les neurones cortico-thalamiques, retrouvées au sein de la couche 6, projettent vers les noyaux thalamiques.
- Enfin, les CPs du faisceau pyramidal (pyramidal tract, PT) contactent des structures sous-corticales. De grande taille, ces neurones sont localisés au sein de la couche 5 et établissent des contacts avec le striatum, le tronc cérébral (voie corticobulbaire) et la moelle épinière (voie corticospinale). Au sein du M1 spécifiquement, c'est parmi cette dernière catégorie que l'on trouve des cellules pyramidales géantes, appelées cellules de Betz chez les primates. Il s'agit de neurones moteurs, localisés dans la couche 5 profonde (5B), qui contactent le tronc cérébral et la moelle épinière (Baker et al., 2018; McColgan et al., 2020; Molyneaux et al., 2007).

L'activité excitatrice de ces CPs est étroitement régulée par l'action inhibitrice exercée par les INs.

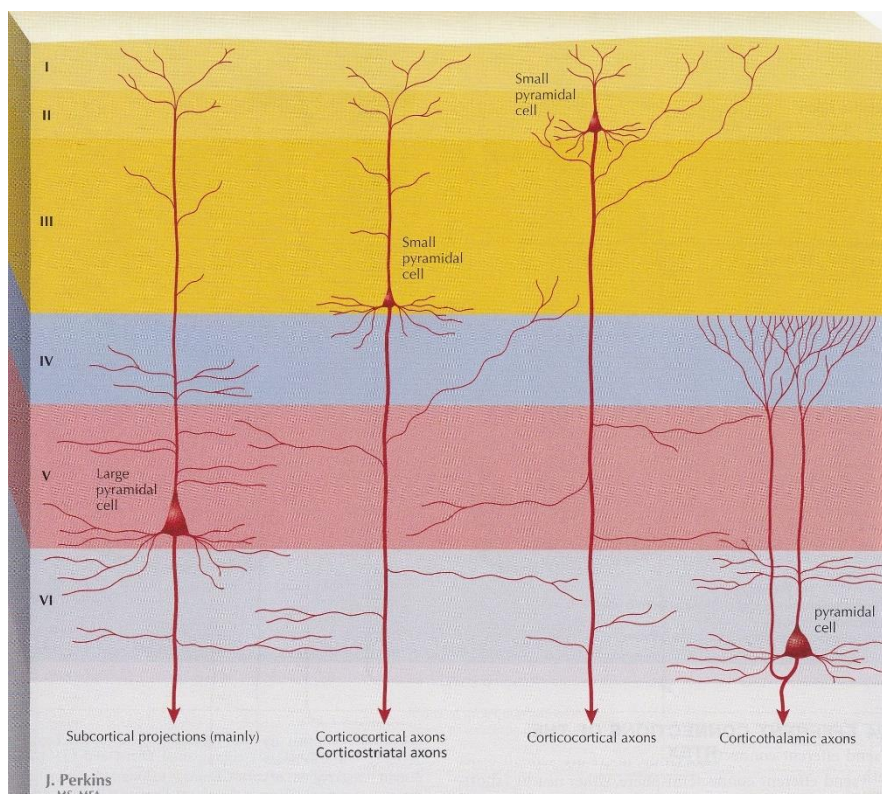


Figure 10. Neurones pyramidaux au sein du néocortex. Il existe différents types de CPs selon les cibles qu'elles contactent. Les neurones IT situés dans les couches 2/3, 5 et 6 établissent des connexions cortico-corticales et cortico-striatales. Les cellules PT localisés au sein de la couche 5 projettent majoritairement vers des structures sous-corticales. Enfin, d'autres CPs de la couche 6 forment des connexions cortico-thalamiques. *Adapté d'après Festen et al. (2015).*

2.2.2- Interneurones inhibiteurs

Les influences inhibitrices GABAergiques au sein du néocortex proviennent des INs, lesquels regroupent 10 à 15 % de la population corticale chez les rongeurs (Beaulieu, 1993; Gabbott et al., 1997; Meyer et al., 2011) et 20 à 25 % chez les primates (Gabbott et Bacon, 1996; Hendry et al., 1987). Ils jouent un rôle prépondérant dans l'intégration et le traitement de l'information au sein du cortex, dont la grande flexibilité réside ainsi dans la diversité de ces INs. Ces derniers présentent en effet une remarquable variété de propriétés morphologiques, électrophysiologiques et diffèrent dans leur connectivité ainsi que dans l'expression de certains marqueurs moléculaires (Fig. 11). Cette hétérogénéité leur permettrait d'assurer un contrôle spatiotemporel précis de l'activité des CPs et donc du réseau néocortical, en assurant diverses fonctions dont le maintien crucial de l'équilibre entre excitations et inhibitions.

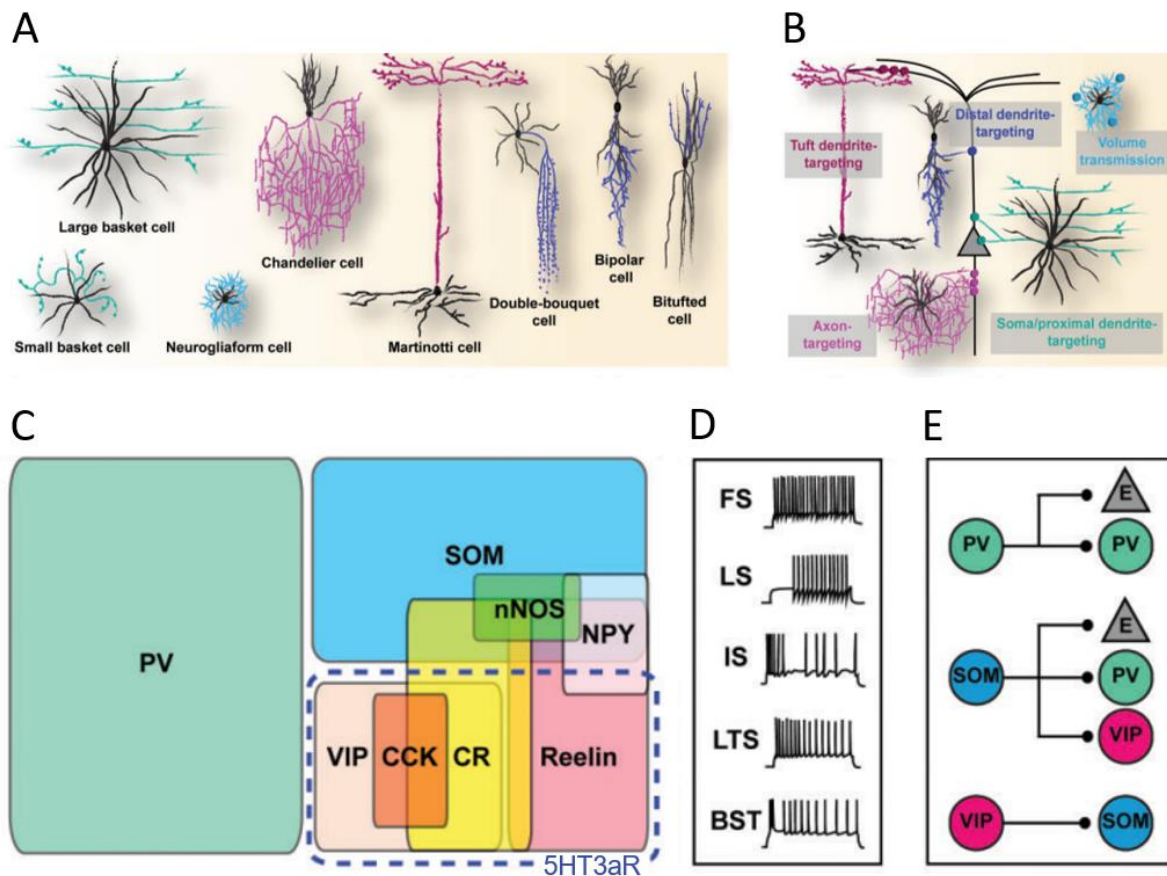


Figure 11. Représentation de la diversité de la population d'INs corticaux. Les INs corticaux présentent une grande diversité dans leur morphologie (A), les contacts qu'ils établissent avec les CPs (B), les marqueurs moléculaires qu'ils expriment (C), leurs cibles cellulaires (D), ainsi que dans leur pattern de décharge suite à une stimulation électrique (E). PV, parvalbumine; SST, somatostatine; VIP, peptide vasointestinal; CR, calrétinine; CCK, cholécystokinine; NPY, neuropeptide Y; 5HT3aR, récepteur à la sérotonine 3a; E, neurone pyramidal exciteur; FS, fast spiking; LS, late spiking; IS, irregular spiking; LTS low threshold spiking; BST, bursting. Adapté d'après Sultan et Shi (2018).

Mais c'est aussi cette diversité qui est à l'origine de la complexité d'étude des INs, les rendant délicats à différencier. S'il n'existe ainsi pas de consensus quant à leur division, une classification a été proposée chez les rongeurs sur la base de trois marqueurs moléculaires, des protéines liant le calcium, que sont la parvalbumine (PV), la somatostatine (SST) et un récepteur à la sérotonine (5-hydroxytryptamine 3a receptor, 5HT3aR), chacun exprimé spécifiquement par différents groupes d'INs. Bien qu'il n'y ait pas de relation causale claire entre l'expression de l'un de ces marqueurs moléculaires et les caractéristiques fonctionnelles du groupe d'INs associé, cette première catégorisation, combinée à des études morphologiques et électrophysiologiques, a permis de faire ressortir certains profils types d'INs (Tremblay et al., 2016).

Ainsi, on retrouve trois grandes familles d'INs, qui d'après les études menées dans le cortex somatosensoriel, constitueraient presque 100 % de la population d'INs néocorticale (**Fig. 12**) (Rudy et al., 2011) :

Les INs « parvalbumine »

Les PV correspondent à la population la plus représentée parmi les INs (40 %), ils réalisent des synapses au niveau du soma des CPs et sont majoritairement impliqués dans l'inhibition dite proximale. Ils régulent la temporalité et la synchronicité des outputs (typiquement sous forme de potentiel d'action) émanant des populations neuronales corticales. Les PV sont caractérisés par un type de décharge « fast spiking » (FS), reflétant leur capacité à rapidement générer des potentiels d'action brefs de façon répétée à haute fréquence, avec peu d'adaptation. Cette caractéristique leur octroie la vitesse et la précision nécessaires à une inhibition rapide et robuste visant à éviter la saturation des ensembles de CPs du réseau. Les inputs excitateurs réalisant des synapses sur les PV sont dépressifs, l'activation de ces INs requiert donc une synchronie de décharge de la part de nombreuses cellules en présynaptique.

Les PV se subdivisent en deux catégories majeures, nommées selon leur aspect morphologique :

- Les cellules « baskets » localisées dans les couches 2 à 6 sont les plus nombreuses et privilégient les contacts périsonotiques avec les CPs et les PV locaux. Elles contrôlent le timing et la précision des oscillations corticales et ont ainsi un important rôle dans la génération et le maintien des rythmes biologiques corticaux, tels que le rythme thêta (Stark et al., 2013).

- Les neurones « chandeliers » sont, quant à eux, moins bien connus. Principalement situés à la limite entre les couches 1 et 2 et dans la couche 6, ils ciblent exclusivement le segment initial de l'axone des CPs.

À ces deux catégories s'ajoute une petite proportion de neurones translaminaires, retrouvés dans les couches 5 et 6 qui contactent les CPs issues d'autres couches corticales (**Fig. 12**) (Lim et al., 2018; Tremblay et al., 2016).

Les INs « somatostatine »

Les SST constituent 30 % de la population d'INs. Contrairement aux PV, ces neurones contactent les CPs au niveau de leurs dendrites, et sont en charge de l'inhibition distale. Ils contrôlent l'intégration des inputs glutamatergiques provenant de différentes sources excitatrices. Bien qu'ils ne forment que peu, voire pas de synapses entre eux, les SST réalisent des connexions avec d'autres types INs. Enfin, toujours en opposition aux PV, les inputs excitateurs réalisant des synapses avec les SST étant facilitateurs, ces neurones ne requièrent qu'un faible stimulus pour être activés, stimulus pouvant provenir d'une seule cellule en présynaptique. De fait, ils sont recrutés plus rapidement que les PVs.

Ces neurones peuvent également être regroupés en deux sous-ensembles, toujours sur la base de leur morphologie : les cellules de Martinotti et les neurones non-Martinotti.

- L'une des premières distinctions se rapporte à la présence, uniquement chez les cellules de Martinotti, d'un plexus axonal déployé dans la couche 1. Ces cellules sont en outre principalement localisées au sein des couches 2/3 et 5/6 et présentent en majorité un pattern de décharge de type « Low Threshold Spiking » (LTS). Une minorité peut cependant présenter d'autres types de décharges, en « burst » ou régulière.
- Les neurones non-Martinotti sont plutôt de type FS et se situent au niveau des couches 2 à 6.

Enfin, certains SST localisés dans les couches les plus profondes ont été décrits comme projetant vers d'autres régions du cortex (**Fig. 12**) (Lim et al., 2018; Tremblay et al., 2016).

Les INs « 5HT3aR »

Enfin les 5HT3aR regroupent les derniers 30 % de la population d'INs corticaux. Ils sont surtout présents au niveau des couches supérieures du cortex et sont plus hétérogènes que les PV et SST.

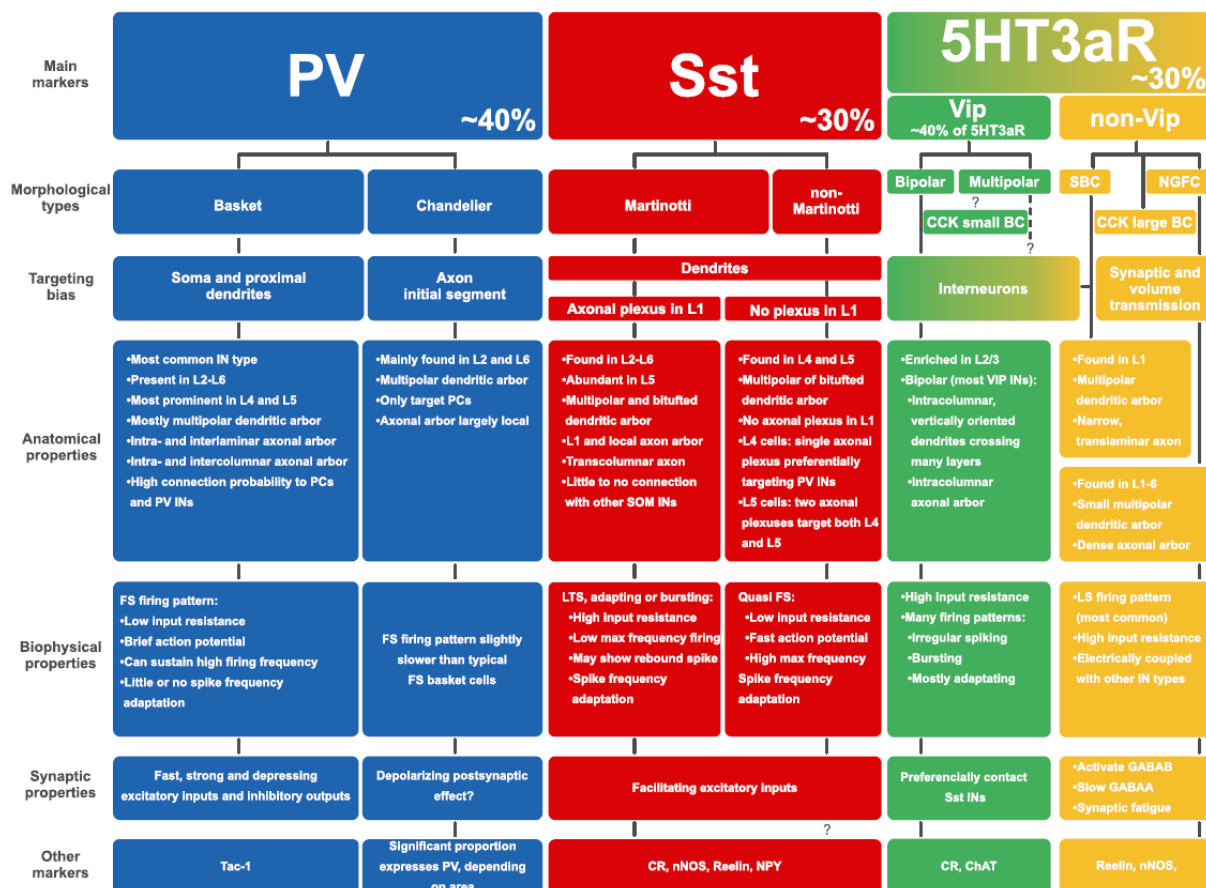


Figure 12. Classification des interneurones GABAergiques néocorticaux. La quasi-totalité de la population d'interneurones du néocortex exprime un seul des trois marqueurs moléculaires suivants : parvalbumine (PV, en bleu), somatostatine (SST, en rouge) ou le récepteur ionotrope à la sérotonine 5HT3a (5HT3aR, en jaune et vert). Chaque grand type d'INs possède des sous-divisions selon leurs caractéristiques morphologiques, électrophysiologiques, anatomiques, synaptiques, l'expression d'autres marqueurs moléculaires et cibles cellulaires. *D'après Tremblay et al. (2016).*

Les 5HT3aR constituent deux ensembles distincts, selon qu'ils expriment ou non une molécule, le peptide vasointestinal (VIP).

- Les INs VIP, principalement retrouvés dans les couches 2/3, correspondent à 40 % des 5HT3aR. Ils déchargent pour la plupart selon un pattern irrégulier et réalisent préférentiellement des synapses avec les SST mais inhibent également les PV.
- Les neurones dits non-vip sont, quant à eux, constitués de différents sous-groupes d'INs localisés en grande majorité au sein de la couche 1. Parmi eux, on trouve des cellules neurogliaformes (NGFC), des INs exprimant le neuropeptide cholécystokinine (cellules basket Cck), ainsi que d'autres sous-types encore mal définis, tels que les neurones SBC (single bouquet cells). Les NGFC sont souvent associées à un pattern de décharge de type « late-spiking » (LS), et seraient impliquées dans l'inhibition dendritique des PCs, et des

INs. Les cellules basket Cck partagent des caractéristiques similaires aux cellules basket PV, et sont impliquées dans l'inhibition périssomatique des CPs (Fig. 12) (Lim et al., 2018; Tremblay et al., 2016).

Ces trois grands ensembles d'INs sont agencés en circuits, régissant la balance entre excitations et inhibitions au sein du néocortex.

3- Circuits corticaux

3.1- Connectivité générale des cellules pyramidales

Le réseau neuronal au sein du M1 comprend deux circuits interconnectés, sous forme de boucles fermées. La boucle dite supérieure correspond principalement aux connexions réciproques réalisées par les CPs des couches 2/3, et la boucle inférieure comprend celles réalisées entre les CPs des couches 5/6. Globalement, en appliquant les principes de connectivité interlaminaire initialement proposés par Gilbert et Wiesel (1983), les afférences provenant du thalamus sont tout d'abord intégrées au niveau de la boucle supérieure via les couches 3/4. Les CPs des couches 2/3 projettent ensuite vers les neurones excitateurs localisés dans la couche 5, qui contactent leurs cibles extra-corticales, notamment la moelle épinière et les CPs de la couche 6. Ces derniers établissent enfin des synapses principalement avec les noyaux thalamiques et le striatum (Fig. 13) (McColgan et al., 2020).

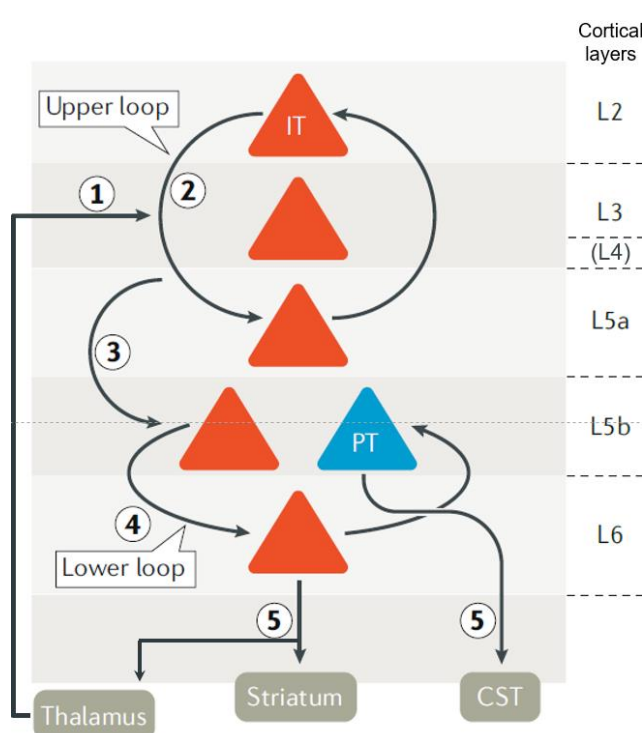


Figure 13. Représentation simplifiée de la connectivité globale des CPs au sein du M1.

Les CPs intratélencéphaliques (IT) sont localisées dans les couches 2 à 6, alors que les CPs de la voie pyramidale (PT) sont retrouvées uniquement au sein de la couche 5B. (1) Les afférences thalamiques sont intégrées au niveau des couches 3/4 et activent les CPs des couches 2/3. (2) Les connexions réciproques entre les IT des couches supérieures 2/3 forment une boucle fermée dite « supérieure ». (3) Les CPs de la boucle supérieure projettent sur les IT et PT des couches 5A et 5B. (4) Les connexions entre les CPs des couches 5 et 6 forment la boucle fermée dite « inférieure ». (5) Les IT et PT de la boucle inférieure projettent enfin vers leurs cibles sous-corticales. *L*, layer; *CST*, cortico-spinal tract. Adapté d'après McColgan et al. (2020).

D'après les études de connectivité menées chez les rongeurs, les IT des couches supérieures sont fortement interconnectés et établissent des synapses avec les IT et PT des couches inférieures selon deux voies parallèles. Ainsi, les IT de la couche 3 projettent fortement sur les PT de la couche 5B et faiblement sur les IT de la couche 5A. Par ailleurs, les connexions des IT supérieurs sont strictement ipsilatérales sur les PT, mais peuvent être également controlatérales sur les IT des couches inférieures. Au sein de ces dernières, les IT sont fortement connectés entre eux, et établissent des synapses unidirectionnelles avec les PT, lesquels sont faiblement connectés entre eux. Enfin, les IT des couches inférieures projettent également vers les CPs des couches supérieures (Anderson et al., 2010; Aroniadou et Keller, 1993; McColgan et al., 2020).

À ces neurones excitateurs des couches superficielles et profondes, s'ajoutent les influences inhibitrices des INs. Ensemble ils forment le microcircuit cortical canonique proposé par Douglas et Martin (1991).

3.2- Circuits inhibiteurs archétypaux

Le contrôle inhibiteur réalisé par les INs sur l'activité excitatrice des CPs met en jeu trois grands circuits archétypaux, que sont les inhibitions « feedforward » et « feedback » ainsi que le processus de désinhibition (**Fig. 14**) (Tremblay et al., 2016). Ces circuits peuvent coexister et mutuellement s'influencer. Leur fonctionnement individuel n'est pas représentatif de celui du réseau, mais ils permettent néanmoins une meilleure compréhension théorique des influences inhibitrices exercées au sein du néocortex.

3.2.1- L'inhibition « feedforward »

L'inhibition « feedforward » (IFF) consiste à réguler l'intégration locale du signal, indépendamment de l'activité locale du réseau. Ainsi, un afférent provenant d'une source excitatrice externe recrute, en plus des CPs, les INs locaux à proximité de ces dernières qui en retour inhibent ces mêmes CPs (**Fig. 14**).

Des études menées sur les circuits thalamo-cortical et somatosensoriel ont mis en évidence l'implication majoritaire des INs PV dans ce type d'inhibition. Ces derniers évitent la saturation du réseau en augmentant progressivement le niveau d'excitation nécessaire pour supplanter l'inhibition et activer les CPs. D'autres INs peuvent également relayer cette IFF, tels que les NGFC, notamment dans le cortex piriforme mais également au sein du circuit thalamo-cortical (Tremblay et al., 2016).

3.2.2- L'inhibition « feedback »

L'inhibition « feedback » (IFB) contrôle plus spécifiquement la sortie du signal et le niveau d'excitation locale du réseau, en modulant l'activité des CPs dans le temps et l'espace. Une source excitatrice locale stimule ainsi les INs alentours, lesquels exercent leur action d'inhibition sur cette même source (inhibition récurrente) ou sur les autres CPs à proximité (inhibition latérale) (Fig. 14).

Au sein du néocortex, ce sont principalement les PV et SST qui assurent ce type d'inhibition. Les PV assureraient la segmentation temporelle du signal, alors que les SST empêcheraient plutôt le réseau cortical d'être débordé par les phénomènes excitateurs (Tremblay et al., 2016).

3.2.3- La désinhibition

Enfin, la désinhibition consiste pour des INs dans un contexte donné, à préférentiellement inhiber d'autres INs, conduisant à une augmentation de l'activité excitatrice de la part des CPs qui étaient inhibées par ces neurones (Fig. 14).

Ce type d'inhibition dans les cortex somatosensoriel, auditif, visuel et préfrontal est en général médiée par les INs VIP, lesquels ciblent en particulier les SST. Cependant, des études menées au sein du cortex somatosensoriel ont mis en évidence la participation d'autres INs dans de tels processus, notamment les SST, SBC ou encore les NGFC (Tremblay et al., 2016). Au sein du M1, les travaux de Zhang et ses collaborateurs (2016) ont démontré l'existence d'un circuit impliquant la désinhibition des CPs de la couche 5, via l'inhibition des INs PV par les SST de cette même couche.

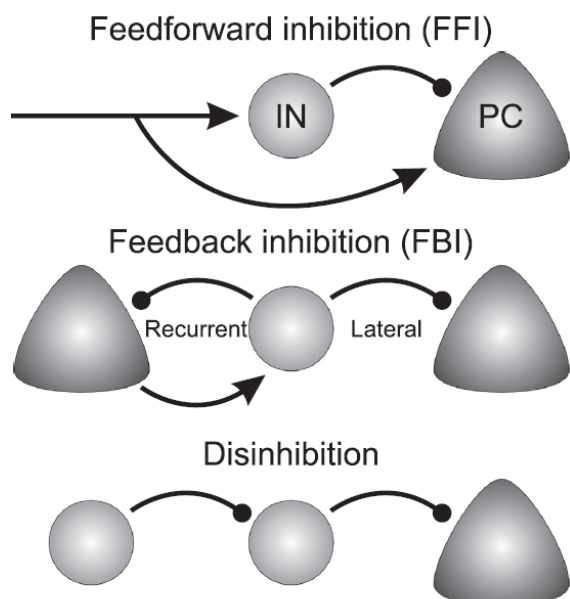


Figure 14. Circuits inhibiteurs archétypaux.

Dans le cas d'une IFF (en haut), une source excitatrice externe stimule à la fois les CPs et les INs locaux qui en retour inhibent les CPs ayant été stimulées. Lors d'une IFB (au milieu), la source excitatrice est locale et les INs peuvent en retour soit inhiber cette source locale (inhibition récurrente) soit d'autres CPs proches (inhibition latérale). Enfin, la désinhibition (en bas) consiste pour des INs en l'inhibition d'autres INs, empêchant ces derniers d'inhiber les CPs avec lesquelles ils sont en contact. Les flèches et les points représentent respectivement les synapses excitatrices et inhibitrices. *IN*, interneurone; *PC*, cellule pyramidale. D'après Tremblay et al. (2016).

Bien que les circuits inhibiteurs partagent une organisation semblable le long du cortex, il est envisageable que des réseaux spécifiques existent selon les régions corticales. Les travaux réalisés par Kätzel et ses collaborateurs (2011) ont mis en évidence de telles spécificités de connexions inhibitrices entre les cortex sensoriel, visuel et moteur chez la souris. D'après ces auteurs, alors que le cortex primaire visuel présente une forte connectivité interlaminaire en ce qui concerne les afférences inhibitrices des INs sur les CPs, elles sont quasiment absentes au sein du M1, lesquelles sont majoritairement intralaminaires. En revanche, une autre étude menée dans le M1 murin, a démontré que les INs localisés dans les couches inférieures reçoivent des afférences excitatrices de la part de CPs issues des couches supérieures. De plus, il apparaît que ces projections sont plus importantes sur les INs par rapport aux CPs localisés dans les couches inférieures. Enfin, les INs avec un type de décharge LTS reçoivent préférentiellement ces excitations interlaminaires, par rapport aux FS majoritairement stimulés par les CPs alentours (Apicella et al., 2012).

Si, d'après ces données, certains types d'INs sont préférentiellement impliqués dans l'un ou l'autre type d'inhibition, ils sont théoriquement capables de prendre part à chacune, peut-être même de façon simultanée. La grande variabilité de ces INs suppose par ailleurs que leur recrutement dans un processus d'inhibition précis dépend de l'état d'excitabilité global du réseau et des phénomènes de plasticité mis en jeu (Tremblay et al., 2016). La majorité des données présentées ci-dessus provient d'études réalisées au sein des cortex primaires sensoriels, somatosensoriel ou encore hippocampique, aussi sait-on peu de choses sur l'agencement des réseaux d'INs et de CPs au sein du cortex moteur spécifiquement, ainsi que sur les phénomènes de plasticité associés.

Comme discuté dans la première partie de cette introduction, un fonctionnement cortical optimal repose sur un équilibre précis entre ces influences excitatrices et inhibitrices. Leur altération a été mise en relation avec l'apparition de troubles dépressif et anxieux (Lener et al., 2017; Wierońska et al., 2011), d'épilepsie (Cobos et al., 2005), ou encore spécifiquement dans le cas du M1, l'induction de maladies neurodégénératives, telles que la sclérose latérale amyotrophique (Brunet et al., 2020; Gunes et al., 2020).

4- Le système moteur et le stress

Parmi les phénomènes à même de perturber le fonctionnement de la balance entre excitations et inhibitions du M1, le stress pourrait jouer un rôle primordial. Des études évaluant sa relation avec le système moteur ont montré d'une part que l'activité physique pouvait

atténuer la détresse émotionnelle (Salmon, 2001; Schultchen et al., 2019), et d'autre part que le stress influence les comportements moteurs. Or, on sait peu de choses de l'impact du stress sur le fonctionnement du M1.

4.1- Présence de récepteurs aux glucocorticoïdes au sein du système moteur

La présence tout d'abord de récepteurs aux GCs au sein de structures impliquées dans les fonctions motrices, telles que le cortex moteur, les ganglions de la base, le cervelet ou encore la moelle épinière (R. Ahima et al., 1991; R. S. Ahima et al., 1992; Marlier et al., 1995; Morimoto et al., 1996), suppose que le système moteur peut être modulé par les GCs et, de fait, être sensible aux effets du stress. (**Fig. 15**).

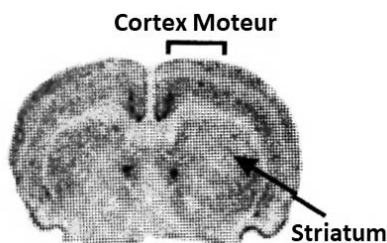


Figure 15. Exemple de répartition des récepteurs aux GCs au sein de structures motrices chez le rat. Localisation par immunomarquage de récepteurs aux GCs au sein du cortex moteur et du striatum chez le rat. D'après Metz (2007).

4.2- Effets du stress sur le muscle squelettique et les comportements moteurs

Quelques études menées chez l'Homme ont mis en évidence qu'un stress pouvait modifier la tension ou encore la force des muscles squelettiques (Christou et al., 2004; Lundberg et al., 1994; Tornero-Aguilera et al., 2017). Cet effet du stress serait toutefois dépendant de l'âge, du sexe (Christou et al., 2004) ainsi que de l'expérience passée (Tornero-Aguilera et al., 2017).

En outre, des études comportementales réalisées chez l'Homme comme chez l'animal ont démontré que le stress (survenant à l'âge adulte ou prénatal) et ses médiateurs étaient capables de moduler différents aspects des fonctions motrices :

4.2.1- Stress à l'âge adulte

Les travaux menés chez les rongeurs ont mis en évidence qu'un stress survenant à l'âge adulte impactait la locomotion ainsi que la coordination motrice des animaux (Broqua et al., 1992; Jadavji et Metz, 2008; Levshina et al., 2009; Matisz et al., 2021; G. A. S. Metz et al.,

2001). Metz et ses collaborateurs ont également démontré que le stress, qu'il soit aigu ou chronique, altérerait les performances motrices de rats au cours de tâches faisant intervenir la motricité fine (Jadavji et Metz, 2008; G. A. Metz et al., 2005). Il est intéressant de signaler que ces derniers auteurs ont mis en évidence un dimorphisme sexuel dans la stratégie motrice mise en place afin de réaliser la tâche suite au stress.

Ces effets du stress sont en partie liés à l'impact qu'il exerce sur l'état émotionnel, notamment l'anxiété qu'il peut induire, (Lepicard et al., 2003; G. A. Metz et al., 2005; Monteiro et al., 2015), mais également à l'activité de ses médiateurs, l'adrénaline et les GCs (Jadavji et al., 2011; G. A. Metz et al., 2005; Sandi et al., 1996). Jadavji et ses collaborateurs (2011) montrent en particulier qu'une activation sélective des MR et des GR avec deux agonistes, l'aldostérone et la dexaméthasone, respectivement, reproduisent les effets délétères du stress lors d'une tâche de motricité fine. En revanche, le traitement avec des antagonistes MR ou GR (RU-28318 ou Mifépristone, RU-486) supprime les déficits moteurs causés par un stress aigu ou un traitement à la corticostérogène.

4.2.2- Stress prénatal

L'étude du stress prénatal a mis en évidence l'influence qu'il peut avoir sur la fonction motrice à long, voire à très long terme. Si les travaux, chez l'Homme comme chez l'animal, diffèrent quant au stade de la grossesse qui serait le plus sensible aux effets du stress, ils s'accordent sur l'existence de modifications du développement moteur suite à un stress prénatal.

Ainsi, un décalage du développement psychomoteur (retardé ou avancé) a été observé chez les enfants dont les mères présentaient de hauts niveaux d'anxiété (DiPietro et al., 2006; Huizink et al., 2003), ou ayant subi un nombre important d'événements stressants au cours de leur grossesse (Grace et al., 2016). Cette dernière étude a de plus montré que de tels décalages pouvaient perdurer jusqu'à l'adolescence.

Ces études chez l'Homme font écho aux travaux de Schneider et ses collaborateurs réalisés chez le primate non humain. En effet, un stress chronique ou répété subi par les femelles gestantes induit une maturation motrice retardée ainsi que des troubles moteurs chez la descendance (Schneider et al., 1999; Schneider et Coe, 1993). Patin et ses collaborateurs (2004) ont également souligné l'apparition d'un décalage dans l'acquisition de réflexes moteurs chez les rats dont les mères avaient été exposées à un stress chronique au cours de leur gestation.

Ces études comportementales révèlent l'influence majeure qu'exercent les neuromédiateurs et l'état émotionnel induits par le stress, sur les différentes dimensions de l'activité motrice. Or, bien qu'il soit susceptible d'agir sur le développement et sur les fonctions du système moteur, peu d'études se sont penchées sur les conséquences du stress sur les structures motrices elles-mêmes, et plus spécifiquement sur le cortex moteur.

4.3- Effets du stress sur le cortex moteur primaire et implication de ce dernier dans la réponse au stress

On sait peu de choses quant aux effets du stress sur le cortex moteur, ni de la possible implication du M1 dans la réponse au stress.

Quelques études réalisées chez l'Homme et chez l'animal suggèrent que la plasticité et l'excitabilité du cortex moteur seraient modulées par le stress (Concerto et al., 2017; Marker et al., 2014) et ses médiateurs (Sale et al., 2008). Le stress induirait également des changements morphologiques au sein du cortex moteur, en réduisant son épaisseur (Khan et al., 2018), ainsi que la densité de ses épines dendritiques, associée à une astroglie, à une altération de la microglie ainsi qu'à une augmentation des interactions microglie-neurone (Gellner et al., 2022).

Le cortex moteur pourrait aussi avoir un rôle particulier dans la gestion du stress, du fait des liens anatomiques et fonctionnels qu'il partage avec deux structures clés de la réponse de stress, que sont l'amygdale et les glandes surrénales (Dum et al., 2019; Grèzes et al., 2014; Kita et Kitai, 1990; Morecraft et al., 2007). De même, la présence de récepteurs aux GCs (MR et GC) dans le M1 (R. Ahima et al., 1991; R. S. Ahima et al., 1992; Morimoto et al., 1996) est cohérente avec une possible implication dans un rétrocontrôle de l'axe corticotrope (Zucchi et al., 2010) et dans la modulation de la réponse au stress. Comprendre l'impact du stress au sein du M1 en conditions physiologiques permettrait de mieux envisager son influence dans le cadre d'un réseau cortical altéré, comme observé dans la sclérose latérale amyotrophique.

III- La Sclérose Latérale Amyotrophique

La sclérose latérale amyotrophique est une maladie neurodégénérative fatale caractérisée par la détérioration des neurones moteurs supérieurs comme inférieurs au sein du système nerveux central. Apparaissant de façon sporadique dans la majorité des cas, elle présente également des formes génétiques familiales, ayant permis la création de modèles murins de cette pathologie. Ces derniers ont alors révélé différents mécanismes mis en jeu dans le développement de la sclérose latérale amyotrophique. Parmi eux, on retrouve chez les patients comme chez les modèles murins, la présence d'une hyperexcitabilité toxique pour les neurones moteurs, laquelle apparaît au sein du M1 bien avant l'émergence des symptômes. L'altération de l'excitabilité des circuits moteurs corticaux apparaît donc déterminante dans la progression de la sclérose latérale amyotrophique, et serait due à un déséquilibre entre les transmissions excitatrices et inhibitrices au sein du M1. En raison de son implication dans l'altération de l'excitabilité neuronale au sein des structures limbiques, et des liens entre ces structures et le cortex moteur, le stress pourrait contribuer aux déficits de l'excitabilité corticale observés dans le cadre de la sclérose latérale amyotrophique.

1- Présentation générale

1.1- Définition et épidémiologie

La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) est une pathologie neurodégénérative progressive fatale, altérant les neurones moteurs du système nerveux central. Son appellation provient de la description initiale réalisée en 1865 par le neurologue Jean-Martin Charcot, qui donnera son nom à la maladie en France. Ce dernier observe, chez des patients atteints de la maladie, une dégénérescence de la voie corticospinale, en particulier les fibres des colonnes latérales de la moelle épinière (sclérose latérale), associée à la disparition des neurones moteurs inférieurs des cornes antérieures spinales (amyotrophique) (**Fig. 8**) (Guinon et Charcot, 1893).

Avec une incidence annuelle de $\sim 2/100000$ (Marin et al., 2016) et une prévalence de $\sim 2-5/100000$ personnes (Chiò et al., 2013), elle constitue la maladie du neurone moteur la plus répandue et se positionne derrière les maladies d'Alzheimer et de Parkinson dans le classement des maladies neurodégénératives les plus fréquentes.

1.2- Manifestations cliniques

La pathognomonie de la SLA dite « classique », correspondant à la description originelle de Jean-Martin Charcot, repose aujourd'hui sur l'émergence simultanée d'une dégénérescence des neurones moteurs supérieurs, localisés au sein du M1, et des neurones moteurs inférieurs, situés au niveau du tronc cérébral et des cornes antérieures de la moelle épinière (Brown et Al-Chalabi, 2017; Kiernan et al., 2011; Rowland et Shneider, 2001). Cliniquement, la dégénérescence des neurones moteurs supérieurs se traduit par la manifestation d'une spasticité, d'une hyperréflexie et l'apparition de signes de Babinski (extension du gros orteil lors du réflexe plantaire) et de Hoffman (flexion des doigts après une pression vive exercée sur l'ongle du majeur). L'altération des neurones moteurs inférieurs est caractérisée quant à elle par une faiblesse et une atrophie musculaires, associées à des fasciculations (Rowland et Shneider, 2001).

La maladie se manifeste initialement par une faiblesse musculaire, localisée au niveau d'un membre, pour ensuite évoluer progressivement en une paralysie générale des muscles squelettiques, conduisant à une détresse respiratoire fatale. Elle est caractérisée par une apparition tardive à l'âge adulte, aux alentours de cinquante ans, ainsi que par une évolution fulgurante, entraînant la mort 2 à 4 ans après énonciation du diagnostic (Ashok Verma, 2021).

Cette forme classique correspond à 85 % des cas cliniques observés. Une minorité de patients présente des formes plus rares de la pathologie, selon une symptomatologie clinique traduisant plus particulièrement, voire exclusivement, une atteinte d'un territoire neuronal précis. Ainsi, une altération majoritaire des neurones moteurs supérieurs caractérise une sclérose latérale primitive, alors qu'une atteinte plus spécifique des neurones moteurs inférieurs traduit un diagnostic d'atrophie musculaire progressive (territoire spinal) ou de paralysie bulbaire progressive (territoire bulbaire) (Ashok Verma, 2021).

Enfin, si la SLA a longtemps été considérée comme une pathologie ayant exclusivement trait à la fonction motrice, elle est aujourd'hui également associée à des déficits comportementaux et cognitifs. En effet, 10 à 15 % des patients atteints de SLA présentent également un diagnostic de démence fronto-temporale (DFT) (Al-Chalabi et Hardiman, 2013; van Blitterswijk et al., 2012). Cette dernière est caractérisée par une dégénérescence des lobes frontal et temporal et induit des troubles des fonctions exécutives ainsi que des troubles du langage et comportementaux. La SLA et la DFT partageant certains mécanismes moléculaires

et génétiques, elles sont de nos jours considérées comme deux maladies aux extrémités d'un même spectre pathologique (Strong et al., 2017; Verma, 2014).

1.3- Facteurs génétiques

La grande majorité des cas de SLA sont sporadiques (90 %), sans origine connue ni antécédents, les 10 % restants s'avérant être d'origine génétique et constituant les formes familiales de la pathologie. L'étude de ces formes familiales a permis de mettre en évidence de nombreuses mutations, principalement transmises selon un mode autosomique dominant et touchant plus de cinquante gènes, impliquées dans le déclenchement de la SLA (Mejzini et al., 2019).

Quatre gènes en particulier apparaissent responsables de la majeure partie des formes familiales de la maladie, ainsi que d'une faible proportion des cas sporadiques. Ainsi, le gène *C9ORF72* a été retrouvé muté dans respectivement 40 % et 5 % des formes familiales et sporadiques. En deuxième position, une mutation du gène *SOD1* apparaît dans 20 % des cas d'origine génétique et 3 % des formes sporadiques. Enfin, les gènes *TARDBP* et *FUS* sont à l'origine d'environ 4 % des cas familiaux et moins de 1 % des cas sporadiques au total (Mejzini et al., 2019).

La découverte de ces mutations a permis le développement de modèles murins de la SLA, afin de comprendre les mécanismes physiologiques et moléculaires à l'origine de la pathologie.

1.4- Modèles murins

Le développement de modèles animaux de la SLA a débuté avec la découverte au début des années 90 de la mutation du gène *SOD1*, codant pour la superoxyde dismutase de type 1 (SOD1), une enzyme ubiquitaire possédant une fonction antioxydante (Rosen et al., 1993). Depuis, plus de 180 mutations de ce gène ont été associées à la SLA, engendrant de nombreux modèles murins SOD1-dépendants. La perte de fonction de la protéine SOD1 partagerait cependant un faible lien causal avec la SLA, le caractère pathogène de la protéine mutée serait plutôt engendré par un gain de fonction toxique pour les neurones moteurs.

Depuis les premières expérimentations en lien avec la protéine SOD1, la découverte de l'implication des gènes *CORF72*, *TARDBP* ou encore *FUS* a entraîné la création de nouveaux modèles. Pour autant, les lignées murines possédant un transgène *Sod1* d'origine humaine restent les plus utilisées, telle que la souris SOD1^{G93A} (substitution d'une alanine par une

glycine au niveau du codon 93), laquelle reproduit la majorité des symptômes de la SLA classique SOD-dépendante observés chez les patients (Philips et Rothstein, 2015).

Associés aux études réalisées chez l'homme, ces modèles ont grandement contribué à l'effort de recherche visant à comprendre les mécanismes sous-tendant le développement de la SLA.

1.5- Quelques mécanismes

La SLA étant une pathologie multifactorielle, résultant probablement d'interactions entre facteurs génétiques et environnementaux, son étiologie demeure complexe. Cependant l'un de ses signes caractéristiques, retrouvé chez les patients comme chez les modèles murins, est la présence d'agrégats protéiques délétères pour les neurones moteurs, principalement due à un défaut de repliement de nombreuses protéines (**Fig. 16**) (Gunes et al., 2020).

Un certain nombre de processus moléculaires et cellulaires semblent liés à cette agrégation protéique pathogène. Parmi eux, on retrouve des mécanismes touchant les neurones moteurs eux-mêmes, tels qu'une homéostasie calcique dégradée, une altération de la fonction mitochondriale, des déficits du transport axonal, une régulation anormale de l'ARN, ou encore des modifications de l'excitabilité neuronale. À ceux-ci s'ajoutent des déficits des cellules gliales entourant ces neurones moteurs, les astrocytes en particulier perdraient leur fonction physiologique d'homéostasie, et participeraient à la dégénérescence neuronale, selon des mécanismes encore mal connus (**Fig. 16**) (Gunes et al., 2020).

Parmi l'ensemble des mécanismes évoqués, les modifications de l'excitabilité neuronale s'avèrent symptomatiques de la SLA (familiale et sporadique) de par leur récurrence et persistance chez les patients et modèles animaux. La présence en particulier d'une hyperexcitabilité neuronale toxique, à un stade présymptomatique, laisse entendre qu'il s'agirait d'un processus précoce déterminant dans le développement de la SLA (Cengiz et Kuruoğlu, 2020; Gunes et al., 2020; J. Kim et al., 2017; Menon et al., 2015, 2017; Vucic et al., 2008).

1.6- Prise en charge

Deux molécules, le riluzole et l'edaravone, respectivement des agents antiglutamatergique et antioxydant, ont été approuvées dans le cadre du traitement de la SLA. Malgré une capacité à légèrement ralentir la progression de la maladie (une survie prolongée de quelques mois), leurs effets restent très limités (Abe et al., 2017; Bensimon et al., 1994; R.

G. Miller et al., 2012; Saitoh et Takahashi, 2020). De fait, il n'existe pas de traitement efficace de la SLA, aussi la prise en charge se veut palliative plutôt que curative.

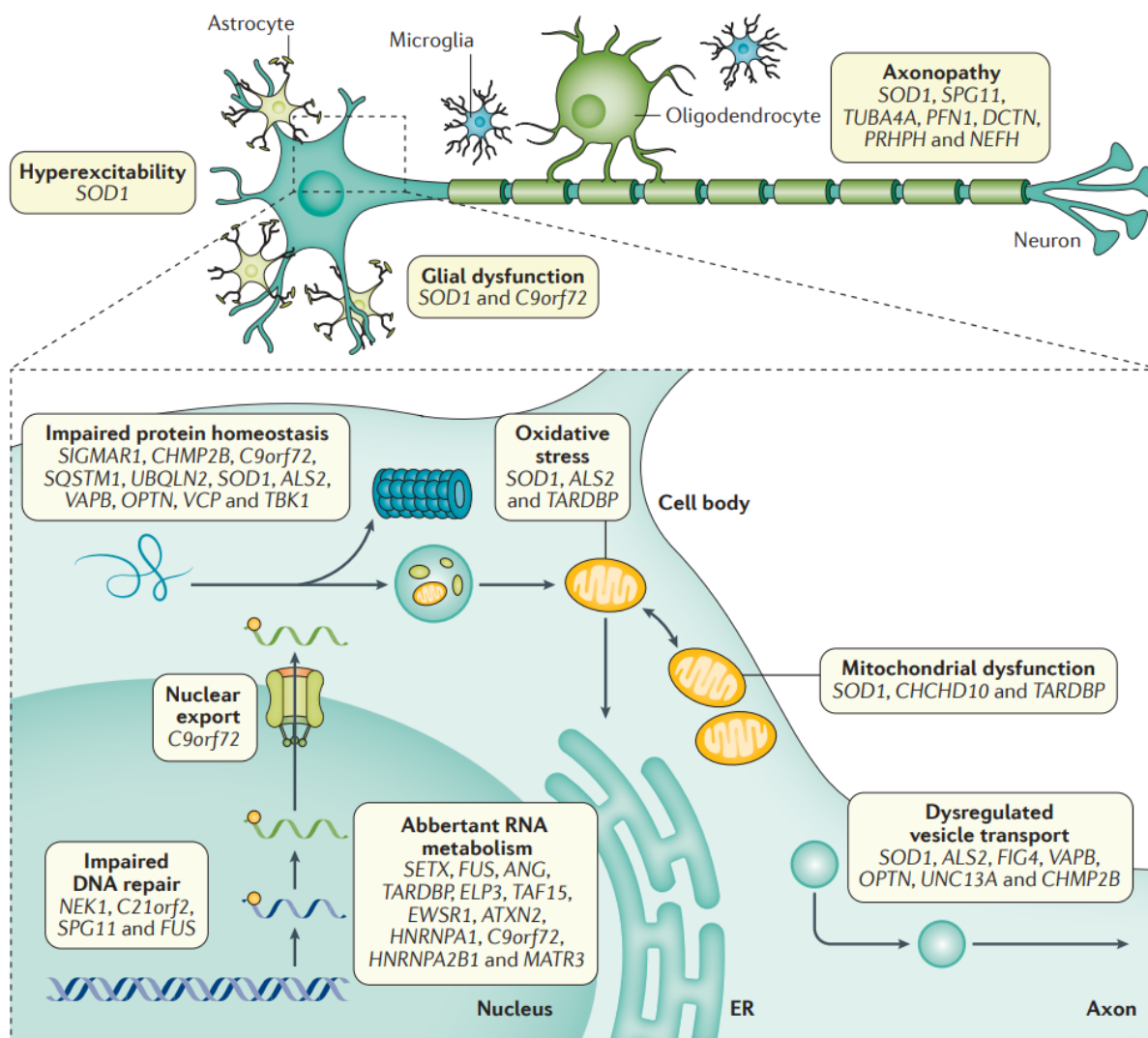


Figure 16. Mécanismes impliqués dans la pathophysiologie de la Sclérose Latérale Amyotrophique. De nombreux gènes ont été mis en cause dans le développement de la SLA, au travers de plusieurs mécanismes cellulaires et moléculaires, lesquels sont parfois interconnectés entre eux (symbolisé ici par les flèches). La présence d'agrégats protéiques toxiques pour les neurones moteurs, due à une homéostasie protéique altérée constitue un facteur déterminant dans la pathophysiologie de la SLA. D'autres processus détériorant directement les neurones moteurs sont également impliqués, tels qu'une altération des mécanismes de régulation du métabolisme des ARNm et de réparation de l'ADN, de la fonction mitochondriale, ou encore des transports nucléaires vésical et axonal. Des modifications de l'excitabilité cellulaire sont également à signaler, en particulier la présence d'une hyperexcitabilité neuronale. Enfin, d'autres mécanismes touchent plus spécifiquement les cellules gliales qui perdent alors leur fonction d'homéostasie et participent à la dégénérescence neuronale. ER, réticulum endoplasmique. Hardiman et al. (2017).

2- L'hyperexcitabilité corticale dans la SLA

L'excitabilité d'un neurone définit sa capacité à produire une réponse déterminée suivant un stimulus précis, typiquement sous la forme d'une dépolarisation de son potentiel membranaire, pouvant conduire à la génération d'un potentiel d'action (PA). Elle peut se mesurer en évaluant le courant minimum nécessaire pour évoquer un PA (on parle de rhéobase) ou en caractérisant la fréquence de PA (la fréquence de décharge) obtenue pour un stimulus déterminé. L'hyperexcitabilité se réfère donc à la propension d'un neurone à produire une réponse plus importante (une augmentation de la fréquence de décharge par exemple) à un stimulus qui aurait dû déclencher une activité « normale » plus limitée, ou une réponse à un stimulus plus faible qui n'aurait pas dû déclencher de PA (reflété par une rhéobase plus faible) (Gunes et al., 2020).

Comme précisé en amont, parmi les différents mécanismes mis en cause dans la SLA, la présence d'une hyperexcitabilité neuronale apparaît symptomatique de la pathologie. Si cette hyperexcitabilité est retrouvée au niveau spinal comme cortical (Gunes et al., 2020), sa précocité d'apparition au sein du M1, précédant la dégénérescence des neurones moteurs et le déclenchement des symptômes, suggère un rôle majeur de l'altération des circuits corticaux dans le développement de la SLA (Vucic et al., 2008).

2.1- Hyperexcitabilité au sein du M1

Chez l'Homme, les travaux visant à mesurer l'excitabilité du M1 et de la voie corticospinale s'appuient sur des techniques d'évaluation non-invasives, dont la stimulation magnétique transcrânienne (SMT). Son principe repose sur la faculté d'une bobine, traversée par un champ électrique de haute intensité, à générer un bref champ magnétique, lui-même capable d'évoquer une activité électrique au sein d'un tissu excitable. L'application de la bobine au niveau du crâne permet ainsi de localement dépolariser les neurones corticaux, et de générer une réponse physiologique et/ou comportementale spécifique, selon la zone.

L'application d'un champ magnétique au niveau du M1 permet donc le recrutement de la voie corticospinale et des circuits corticaux associés, déclenchant alors des potentiels évoqués moteurs (PEM) au niveau de muscles précis, selon la zone motrice stimulée. Ces PEM sont mesurables via un électromyogramme (EMG), leur amplitude et leur seuil de déclenchement reflétant le niveau d'excitabilité de la voie corticospinale stimulée (**Fig. 17**) (Klomjai et al., 2015).

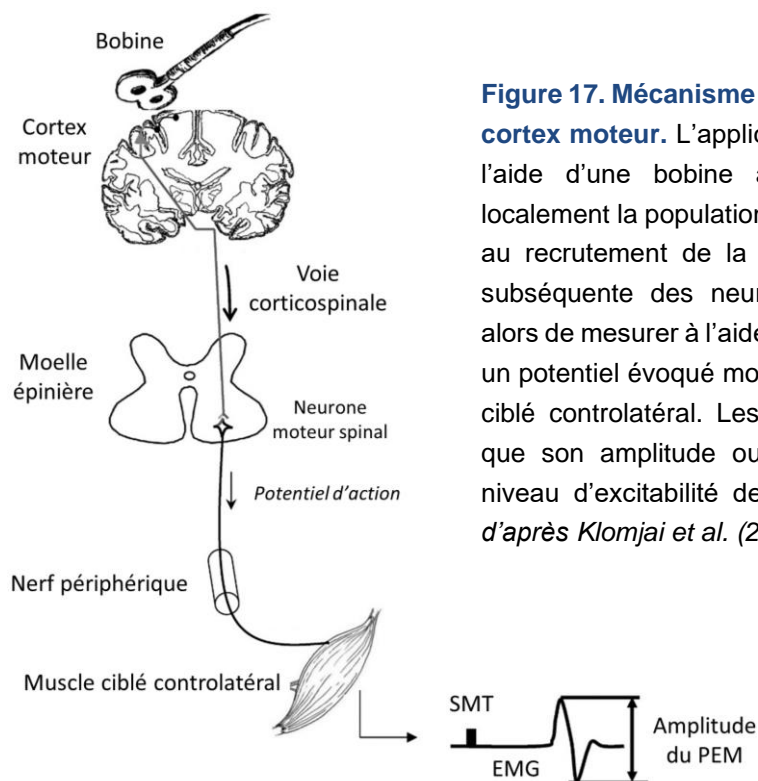


Figure 17. Mécanisme d'action simplifié de la SMT du cortex moteur. L'application d'un champ magnétique à l'aide d'une bobine au niveau du M1 dépolairise localement la population neuronale corticale, conduisant au recrutement de la voie corticospinale. L'activation subséquente des neurones moteurs spinaux permet alors de mesurer à l'aide d'un électromyogramme (EMG) un potentiel évoqué moteur (PEM) au niveau du muscle ciblé controlatéral. Les caractéristiques du PEM, telle que son amplitude ou son seuil, renseignent sur le niveau d'excitabilité de la voie corticospinale. *Adapté d'après Klomjai et al. (2015).*

La SMT permet également de mesurer la plasticité et l'excitabilité intracorticale, à l'aide de protocoles spécifiques. En effet, l'application de deux stimuli successifs permet, selon l'intervalle de temps entre ces deux stimulations, d'évaluer les phénomènes plastiques que sont la facilitation intracorticale (ICF, intracortical facilitation) et l'inhibition intracorticale (SICI, short intracortical inhibition et LICI, late intracortical inhibition). Ces deux mécanismes sont représentatifs respectivement des fonctions excitatrice et inhibitrice au sein du cortex (**Fig. 18**) (Barker et al., 1985; Cortes et al., 2012; D.-Y. Kim et al., 2005; Klomjai et al., 2015; Nakamura et al., 1997; Oliviero et al., 2011; Wagle-Shukla et al., 2009).

Chez des patients atteints de la SLA, la SMT révèle une excitabilité plus élevée de la voie corticospinale, sous la forme d'une augmentation de l'amplitude des PEM associée à une diminution de leur seuil de déclenchement, par rapport aux individus contrôles (Caramia et al., 1991; Menon et al., 2015, 2017; Zanette et al., 2002). De plus, de nombreuses études ont mis en évidence une altération de la plasticité corticale au sein du M1 dans le cadre de la maladie, les patients présentant une augmentation de l'ICF et/ou une diminution des SICI et LICI (Cengiz et Kuruoğlu, 2020; Menon et al., 2015, 2017; Salerno et Georgesco, 1998; Van den Bos et al., 2018; Vucic et al., 2008, 2009; Zanette et al., 2002; Ziemann et al., 1997). Ces données mettent en évidence la présence d'une hyperexcitabilité au sein du M1 dans le cadre de la SLA, qui proviendrait non seulement d'une augmentation anormale des phénomènes

excitateurs dépendants du glutamate, mais également d'une diminution délétère des mécanismes inhibiteurs liés au GABA au sein du cortex.

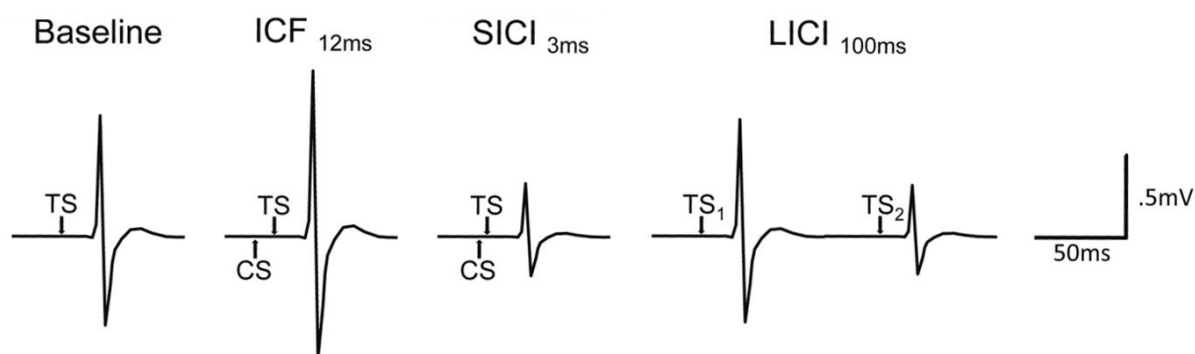


Figure 18. Potentiels évoqués moteurs typiques enregistrés par EMG selon les différents protocoles de SMT. Les PEM déclenchés suite aux stimuli appariés (ICF et SICI) sont comparés par rapport à la réponse de base évoquée par un stimulus seul (baseline). Pour la mesure de la LICI, le deuxième PEM issu du deuxième stimulus est comparé au premier PEM faisant suite à la première stimulation. *ICF*, intracortical facilitation; *SICI* short-interval intracortical inhibition; *LICI* long-interval intracortical inhibition; *TS*, test stimulus; *CS*, conditioning stimulus. Adapté d'après Morin-Parent et al. (2019).

2.2- Déficiets de la transmission glutamatergique au sein du M1

En accord avec les données issues des études de SMT, des travaux réalisés chez des patients atteints de SLA ont mis en évidence une augmentation des niveaux de glutamate (et de glutamine) au sein du M1. De plus, parmi les acteurs moléculaires en lien avec la transmission glutamatergique, des récepteurs au glutamate ont été retrouvés altérés dans leur composition ainsi que dans leur régulation au sein du cortex moteur de patients touchés par la maladie (Aronica et al., 2015; Foerster et al., 2012, 2013).

En parallèle, les études menées chez la souris $SOD1^{G93A}$ ont, quant à elles, mis en évidence une augmentation de l'excitabilité des neurones moteurs du cortex moteur, et ce avant leur dégénérescence, associée à une augmentation de l'expression du transporteur au glutamate VGLUT2 (vesicular glutamate transporter 2) au niveau des couches 2/3 et 5 du M1 (Saba et al., 2016). Kim et ses collaborateurs (2017) ont cependant montré que les neurones moteurs n'étaient pas les seules cellules excitatrices à être impactées, les autres types de neurones pyramidaux présentant également une élévation de leur excitabilité. Les travaux réalisés chez différents modèles murins TDP-43 (TAR DNA-binding protein 43, codée par le gène *TARDBP*) vont également dans le sens d'une hyperexcitabilité des neurones moteurs du M1 (Zhang et al.,

2016) mais également d'une augmentation des efférences excitatrices reçues par ces neurones moteurs à un stade présymptomatique (Fogarty et al., 2015).

Ces déficits de la transmission glutamatergique sont étroitement liés à des altérations de la fonction GABAergique corticale.

2.3- Déficiets de la transmission GABAergique au sein du M1

En opposition avec ce qui est observé concernant la transmission glutamatergique, les niveaux de GABA sont diminués au sein du cortex moteur de patients présentant une SLA (Foerster et al., 2012, 2013). Une baisse de la densité en récepteurs au GABA, ainsi que des modifications de leur composition ont également été rapportées chez les patients (Petri et al., 2003). Enfin, des études histologiques en post-mortem indiquent une diminution du nombre d'INs du cortex moteur dans le cadre de la SLA (Maekawa et al., 2004; Nihei et al., 1993).

Si la perte d'INs est moins évidente chez les modèles animaux (Ozdinler et al., 2011), des variations de leur nombre, dans le sens d'une augmentation ou d'une diminution selon le type d'IN, ont tout de même été observées chez la souris SOD1^{G93A} (Chung et al., 2005; Minciacchi et al., 2009).

De plus, les neurones pyramidaux ne sont pas les seuls à présenter une excitabilité altérée en cas de SLA. Les INs présentent également de tels changements, selon leur type et le stade de développement de la pathologie. En effet, alors que Kim et ses collaborateurs (2017) observent une hyperexcitabilité des INs PV au sein du M1 de souris SOD1^{G93A} symptomatiques, d'autres travaux, réalisés chez le même modèle mais à un stade présymptomatique tardif, ont au contraire mis en évidence une hypoexcitabilité de ces mêmes INs (Khademullah et al., 2020). Ces derniers auteurs, en stimulant l'activité de ces neurones PV dans la couche 5 du M1, ont rétabli l'inhibition intracorticale et réduit l'hyperexcitabilité des neurones moteurs.

Les travaux de Zhang et ses collaborateurs (2016), réalisés chez la souris TDP-43 âgée de trois semaines ont, quant à eux, révélé une hyperexcitabilité d'un autre type d'INs dans le M1, les SST. De façon concomitante, les INs PV étaient hypoexcitables chez ces souris, supposant une inhibition de ces derniers par les SST. Enfin, l'ablation de ces neurones SST ayant restauré une excitabilité normale des neurones moteurs, les auteurs ont alors suggéré que ces INs étaient à l'origine de l'hyperexcitabilité des neurones moteurs, par un phénomène de désinhibition.

Dans l'ensemble, ces données démontrent l'importance du maintien d'un équilibre entre phénomènes excitateurs et inhibiteurs au sein du M1, toute altération pouvant conduire à une situation pathologique.

3- Le stress et la SLA

Au cours de cette introduction, nous avons vu que le stress exerçait une influence sur les transmissions glutamatergique et GABAergique au sein de structures limbiques. Son lien avec le système moteur suppose que le stress pourrait aggraver les déficits d'excitabilité du M1 observés dans le cadre de la SLA, et influencer sur la progression de la pathologie. Peu de travaux se sont cependant penchés sur l'influence d'un stress sur le déclenchement et le développement de la SLA.

3.1- SLA et Axe corticotrope

Une étude menée chez le modèle murin Wobbler de la SLA a mis en évidence des taux de CORT plus élevés chez les souris malades, au niveau des glandes surrénales, de la moelle épinière et du cerveau (Gonzalez Deniselle et al., 2016). Dans la même idée, quelques travaux réalisés chez des patients atteints de SLA ont révélé des niveaux plus élevés de cortisol par rapport aux individus contrôles (Patacchioli et al., 2003; Spataro et al., 2015), ainsi qu'une absence d'élévation des taux de GCs circulants suite à un stress (réalisation d'un test de stroop). Ces données supposent donc l'existence d'une dérégulation de l'axe corticotrope en cas de SLA.

3.2- Influence du stress sur la SLA

Deux études se sont intéressées à la question de l'impact d'un stress sur la SLA, sur la base d'auto-questionnaires rétrospectifs. La première a déterminé qu'un haut niveau de stress général ressenti était associé à un risque plus élevé de déclencher une SLA (Okamoto et al., 2009). La seconde, évaluant le niveau de stress engendré par l'occurrence d'événements majeurs de la vie, ainsi que le stress occupationnel (c'est-à-dire en lien avec la situation professionnelle des sujets), a conclu au contraire que le stress n'était pas impliqué dans la pathogénésie de la SLA (Parkin Kullmann et al., 2018).

Ces divergences pourraient être dues au fait que le type de stress évalué diffère entre les deux études, et n'est de plus pas mesuré de la même manière. Par ailleurs, ces études basées sur l'utilisation d'auto-questionnaires, n'ont pas estimé l'impact du stress sur les processus

physiologiques impliqués dans le développement de la SLA. Aussi, l'influence du stress sur l'excitabilité et la plasticité au sein du M1 dans le cadre de la SLA reste encore à déterminer.

Objectifs de la thèse

Le stress est une réponse spontanée d'adaptation de l'organisme, visant à mobiliser les ressources nécessaires pour faire face à une situation perçue comme menaçante. Il met en jeu des circuits neuronaux précis, dont il influence la plasticité et l'excitabilité en agissant sur les transmissions excitatrice et inhibitrice, respectivement dépendantes du glutamate et du GABA. Bénéfique à court terme, le stress peut induire ou favoriser le développement de troubles cognitifs et/ou émotionnels, ou encore aggraver un terrain préalablement vulnérable, dans le cadre de maladies neurodégénératives. L'influence du stress a majoritairement été étudiée au sein de structures limbiques. Or, en tant que processus adaptatif, il met en place des stratégies comportementales précises, et impacterait donc les structures impliquées dans la motricité. Parmi ces dernières, le cortex moteur primaire (M1), aire cérébrale à l'origine des commandes motrices volontaires, présente des récepteurs aux glucocorticoïdes et partage des connexions avec l'amygdale et les glandes surrénales. Ces données suggérant un rôle particulier de cette structure dans la réponse au stress, des études, en majorité comportementales, ont mis en évidence une influence du stress sur diverses fonctions motrices. Peu de données existent cependant, quant à l'impact du stress sur l'excitabilité et la plasticité du réseau neuronal au sein du M1. Le fonctionnement cortical repose sur un équilibre précis entre phénomènes excitateurs et inhibiteurs, lesquels peuvent être modulés par le stress. Aussi, évaluer l'influence de ce dernier sur le M1 en conditions physiologiques, permettrait une meilleure compréhension de ses effets en cas de réseau altéré, comme dans le cadre de la sclérose latérale amyotrophique (SLA). Cette maladie neurodégénérative fatale, touchant spécifiquement les neurones moteurs du système nerveux central, présente en effet une altération présymptomatique du réseau au sein du M1, sous la forme d'une hyperexcitabilité neuronale due à un déséquilibre entre excitations et inhibitions, qui serait déterminante dans son développement. Le stress pourrait, en influençant la balance entre excitations et inhibition au sein du M1, contribuer aux déficits de l'excitabilité corticale observés dans la SLA.

Ce travail de recherche visait ainsi à déterminer chez la souris adulte, l'influence de deux types de stress, aigu et prénatal, sur l'excitabilité et la plasticité du M1 de souris en conditions physiologiques, et d'en évaluer les conséquences en cas de réseau préalablement altéré en utilisant un modèle murin de la SLA, la souris SOD1^{G93A} (SOD).

Le premier objectif (chapitre 1) de cette thèse consistait à évaluer, chez des souris WT et SOD mâles issues de la lignée murine transgénique SOD1^{G93A}, âgées de 10 à 12 semaines (correspondant à un stade présymptomatique tardif chez les SOD), l'influence d'un stress aigu de contention sur trois aspects de la transmission neuronale au sein du M1 :

- D'abord, sur l'excitabilité des interneurons GABAergiques du M1 *in vitro*, à l'aide de la technique électrophysiologique de patch clamp, via l'utilisation d'une lignée murine transgénique GAD67-GFP-SOD (permettant de visualiser les INs corticaux).
- Dans un deuxième temps, sur la plasticité du réseau moteur cortical, mesurée en enregistrant *in vivo* l'activité neuronale du M1, suivant la stimulation électrique du M1 controlatéral (réseau M1-M1).
- Enfin, sur l'expression globale des cotransporteurs au chlorure KCC2 et NKCC1 au sein du M1, quantifiée à l'aide d'une approche immunohistochimique. Leur implication dans l'efficacité de la transmission GABAergique et la régulation de la réponse au stress, pouvant permettre de trouver des corrélats anatomiques aux résultats électrophysiologiques.

Les données recueillies au cours de ces travaux vont donner lieu à une publication, laquelle est en cours de préparation : *Acute Stress Differently Modulates GABAergic Interneurons Excitability and Synaptic Plasticity in the Primary Motor Cortex of WT and SOD1^{G93A} mouse model of ALS.* Z. Mazurie, P. Branchereau, N. Henkous, D. Cattaert, C. Savona-Baron, R-M. Vouimba.

Le second objectif (chapitre 2) a été d'étendre notre connaissance de l'influence du stress sur le M1, et d'estimer quelles pouvaient être les conséquences à long terme d'un stress induit lors d'une période critique dans l'établissement des connexions corticales au cours du développement embryonnaire. Ainsi, les mêmes approches employées au cours de la première partie, électrophysiologique *in vivo* et immunohistochimique, ont permis de déterminer l'impact d'un stress prénatal chez les souris WT et SOD mâles adultes (âgées de 10 à 12 semaines) sur :

- Les phénomènes plastiques au sein du réseau M1-M1.
- L'expression globale des cotransporteurs au chlorure KCC2 et NKCC1, d'autant plus pertinente étant donné les rôles de ces protéines dans le développement neuronal.

Les résultats issus de cette seconde partie conduiront à une publication en cours de préparation : *Long-Term Influence of Prenatal Stress on Primary Motor Cortex Plasticity in adult WT and SOD1^{G93A} mice*. Z. Mazurie, P. Branchereau, N. Henkous, N. Argenta, R-M. Vouimba.

Enfin, le troisième objectif (chapitre 3) de ce travail s'appliquait à évaluer les effets du stress sur les comportements des souris WT et SOD âgées de 10-12 semaines afin de :

- Dans un premier temps, définir si les modifications du réseau M1-M1 induites par le stress étaient associées à une modification des apprentissages moteurs et cognitifs.
- En seconde intention, explorer son influence sur l'évolution de la SLA.

À cette fin, les souris mâles WT et SOD stressées ou non (stress prénatal ou aigu à l'âge adulte), ont été soumises à une batterie de tests comportementaux, évaluant leurs performances motrices et mnésiques.

Ces données engendreront une troisième publication, laquelle est en cours de préparation : *Stress impact on motor and cognitive learnings along with ALS progression in SOD1^{G93A} mice*. Z. Mazurie, P. Branchereau, J-L. Guillou, N. Argenta, R-M. Vouimba.

Résultats

Chapitre 1 : Influence d'un stress aigu sur le M1

1- Présentation

Ce premier article avait pour objectif d'évaluer, à l'aide de techniques d'électrophysiologie, l'impact d'un stress aigu de contention sur l'activité des INs au sein du M1, et sur la plasticité synaptique du réseau M1-M1 de souris wild type (WT) et SOD1^{G93A} (SOD) âgées de 10 à 12 semaines. Une approche supplémentaire immunohistochimique a enfin permis de déterminer l'influence de ce même stress sur l'expression globale des cotransporteurs au chlorure KCC2 et NKCC1 au sein du M1.

Les enregistrements *in vitro* des INs corticaux ont révélé l'existence de quatre clusters neuronaux, selon leurs caractéristiques électrophysiologiques. Le stress aigu a différenciellement impacté les INs du 1^{er} cluster, en augmentant leur excitabilité chez les WT et en la diminuant chez les SOD. Seul ce dernier groupe a par ailleurs démontré une excitabilité augmentée des INs provenant du 4^{ème} cluster. L'enregistrement *in vivo* de l'activité du M1, suite à la stimulation controlatérale du M1, a mis en évidence l'existence de deux composantes neuronales : une activité excitatrice localisée dans les couches supérieures (N1), ainsi qu'une activité inhibitrice située dans les couches inférieures (N2-P1). Chez les WT, le stress a supprimé la LTD de N1, observée suite à une stimulation de type theta-burst (TBS) dans le M1 controlatéral, sans induire de changements de la plasticité synaptique de N2-P1. Au sein des SOD, le stress n'a pas entraîné de modification de N1, mais a supprimé la LTD de N2-P1 observée après la TBS. Enfin, la quantification des cotransporteurs KCC2 et NKCC1 a mis en évidence une augmentation de KCC2 chez les WT, et de NKCC1 chez les SOD, lors d'un stress aigu.

Dans l'ensemble, ces résultats démontrent qu'un stress aigu influence la plasticité synaptique au sein du M1, notamment en modulant l'activité des INs GABAergiques corticaux. Cet effet est cependant différent selon le génotype des souris. Chez les WT, le stress tend à promouvoir une augmentation de l'activité globale du M1, probablement selon un mécanisme de désinhibition médié par certains INs. Chez les animaux SOD, le stress tend au contraire et de façon inattendue à favoriser l'inhibition du réseau, possiblement en diminuant ce processus de désinhibition. Le maintien dans le temps de telles modifications de l'excitabilité et/ou de plasticité au sein du M1 pourrait avoir des conséquences délétères dans un réseau préalablement altéré, comme observé dans la SLA.

2- Article 1

Acute Stress Differently Modulates GABAergic Interneurons Excitability and Synaptic Plasticity in the Primary Motor Cortex of WT and SOD1^{G93A} Mouse Model of ALS

Zoé Mazurie, Pascal Branchereau, Daniel Cattaert, Nadia Henkous, Catherine Savona-Baron, Rose-Marie Vouimba

Université de Bordeaux, Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France; CNRS, INCIA, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France

Corresponding author: Zoé Mazurie; Address: INCIA - UMR 5287 - Université de Bordeaux - Zone nord Bat. 2 - 2ème étage - 146, rue Léo Saignat 33076 Bordeaux cedex; E-mail address: zoe.mazurie@gmail.com

Running title: Acute Stress Influence on M1 in WT and SOD1^{G93A} mice

Disclosure Statement: All authors have seen and approved the manuscript. The authors report no conflicts of interest. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Author contributions: C.S-B, P.B, R-M.V and Z.M designed the research; R-M.V and Z.M performed in vivo electrophysiology and immunohistochemistry experiments; N.H and Z.M realized blood sampling and plasma corticosterone assay; Z.M performed confocal acquisition and patch clamp experiments under the guidance of P.B; D.C provided principal component analysis; Z.M conducted data analysis and drafted the manuscript; R-M.V and Z.M wrote the article. All authors provided revision of the manuscript.

Abstract

While studies assessing the effects of stress on mood, psychiatric and neurodegenerative disorders have largely focused on limbic structures, recent evidence highlight the involvement of the primary motor cortex (M1) as well. The stability of M1 network is shaped by GABAergic inhibitory interneurons (INs), whose susceptibility to stress have been revealed in limbic regions. Early feature and key pathological hallmark of the amyotrophic lateral sclerosis (ALS) disease is a motor cortical hyperexcitability, which may be consecutive to changes in the excitatory/inhibitory balance. Hence, using electrophysiological recordings, we assessed the impact of acute restraint stress on inhibitory GABAergic INs activity and synaptic plasticity in M1 of the SOD1^{G93A} (SOD) ALS mouse model and WT littermates. Recording from M1 slices revealed four INs clusters. Cluster 1 INs responded to stress by an excitability increase in WT and decrease in SOD animals. Clusters 2-3 were unaffected by acute stress whereas cluster 4 INs expressed excitability increase in SOD stressed animals. In vivo recordings from M1 in WT mice showed that stress suppressed theta burst-induced long-term depression (LTD) of an excitatory component (N1), recorded in the superficial layers, with no impact on synaptic transmission of the inhibitory component (P1) from the deeper layers. Similar in vivo recordings from M1 in SOD mice showed that stress did not affect N1 but suppressed theta burst-induced LTD in P1. The evaluation of two regulators of GABA function, the chloride co-transporters KCC2 and NKCC1, indicated that stress increased KCC2 expression in WT and increased NKCC1 in SOD mice. Together, our data suggest that stress alters M1 networks through dynamic changes of GABAergic inhibitory interneurons activities and synaptic plasticity. Such changes were associated with a deregulation of the chloride co-transporters KCC2 and NKCC1. The differential profile seen in WT vs. SOD suggested that acute stress influence highly depends on basal cortical excitability state. In the long run, such stress-induced excitability changes may, in combination with genetic weakness, have a deleterious effect on ALS outcomes.

Keywords: acute stress, amyotrophic lateral sclerosis, inhibition, interneuron, plasticity, primary motor cortex, SOD1^{G93A}

1- Introduction

Stress is a ubiquitous life experience that influences development and functioning. It can critically affect homeostatic mechanisms associated with the onset of neurological diseases, including neurodegenerative and mood disorders. Three key structures have been shown to be of importance for emotion processing and have received the most attention (McEwen et al., 2016): the amygdala, a center for emotional evaluation with specific involvement in the detection and manifestation of fear (J. LeDoux, 2003; J. E. LeDoux, 1994; J. E. LeDoux et al., 1990), the prefrontal cortex which participates in stress regulation through the inhibition of amygdala function, and the hippocampus with a key role in memory consolidation and configural representation of the emotional context. Yet, as an adapting process, the stress response encompasses various motor strategies, suggesting an interaction between stress and the motor system.

Supporting this interaction, glucocorticoid and mineralocorticoid receptors, the main targets of stress hormones, have been widely detected in motor regions including the motor cortex, basal ganglia, cerebellum and spinal cord (R. Ahima et al., 1991; R. S. Ahima et al., 1992; R. S. Ahima and Harlan, 1990; Marlier et al., 1995; Morimoto et al., 1996). In addition, behavioral studies conducted in rodents highlighted motor impairments in locomotion, coordination or skilled movements after stress or glucocorticoids administration (Broqua et al., 1992; Jadavji and Metz, 2008; Levshina et al., 2009; Matisz et al., 2021; G. A. Metz et al., 2005; G. A. S. Metz et al., 2001). A few human studies suggested that the motor cortex undergoes plasticity changes following glucocorticoids injection (Sale et al., 2008) or stressful situation (Concerto et al., 2017; Marker et al., 2014). Most interestingly, sparse but consistent functional and anatomical data have evidenced a link between cortical motor structures and two main actors of the stress response system, the amygdala and the adrenal glands (Dum et al., 2019; Grèzes et al., 2014; Kita and Kitai, 1990; Morecraft et al., 2007). Consequently, the primary motor cortex (M1) could have a complex scope of functions in the stress circuit, in altering ongoing behavior and in participating to stress load on the body.

Although a close relationship has been established between stress and motor behaviors, little is known about its precise impact on motor structures, and especially on the M1, a central hub integrating inputs from diverse brain areas, and playing a key role in movement regulation and motor learning (Bhattacharjee et al., 2021; Pearson, 2000; Sanes and Donoghue, 2000).

Functional stability within the M1 is known to be implemented by a heterogeneous population of GABAergic inhibitory interneurons (INs) (Donato et al., 2013; He et al., 2019), whose susceptibility to stress have been revealed in other brain regions (e.g. the hippocampus,

the prefrontal cortex and the amygdala). In the prefrontal cortex for example, stress altered the balance between excitatory and inhibitory (E/I) neurotransmission through a dysregulation of GABAergic and/or glutamatergic transmission (Page and Coutellier, 2019). A similar disruption of the E/I balance could be present in the motor cortex of patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS), the well-known motor neurons disease. Indeed, among symptoms, an early cortical hyperexcitability as reflected by transcranial magnetic stimulation showing abnormal reduction of short intracortical inhibition, along with a reduction of cortical silent period were reported in ALS patients. Both parameters are thought to underly cortical inhibitory activity necessary to shape cortical activity (Bos et al., 2018; R. Chen et al., 1999; Md et al., 1992; Menon et al., 2015; Salerno and Georgesco, 1998; Sanger et al., 2001; Vucic et al., 2008, 2009; Werhahn et al., 1999). In addition, post-mortem histological studies reported altered numbers of GABAergic INs in motor cortex of ALS patients and, to a lesser extent, of animal models (Y. H. Chung et al., 2005; Maekawa et al., 2004; Nihei et al., 1993). Other approaches using transgenic mice highlighted as well changes in INs excitability in the motor cortex of ALS mice (Clark et al., 2018; J. Kim et al., 2017; Zhang et al., 2016). Thus, understanding the impact of stress on the M1 could be of importance, when addressing the factors which can precipitate the onset and evolution of ALS (Brunet et al., 2020). Stress might, in combination with genetic deficiency, further increase E/I imbalance and contribute to the hyperexcitability seen in ALS.

To our knowledge, only two studies have evaluated the impact of psychological stress on ALS pathogenesis. However, both of them were retrospective studies relying on self-questionnaires in symptomatic patients with opposite conclusions (Okamoto et al., 2009; Parkin Kullmann et al., 2018), hence the impact of stress on cortical hyperexcitability and ALS remains to be determined.

Using the transgenic ALS mouse model SOD1^{G93A}, we investigated the impact of acute restraint stress on the activity of INs in the M1, as well as on M1 plasticity by stimulating the contralateral M1 (M1-M1 circuit), using both in vitro and in vivo approaches. In addition, and to further appraise stress impact on M1 INs network, we evaluate through an immunohistochemistry study the expression of two main regulators of GABA receptors' function, the K⁺-Cl⁻ cotransporter KCC2 and the Na⁺-K⁺-Cl⁻ cotransporter NKCC1, which extrudes and imports chloride in neurons, respectively, as it is well known that a disruption in their balance may result in ineffective GABA inhibition (Côme et al., 2020; Liu et al., 2020).

2- Material and Methods

2.1- Ethical considerations and subjects

All experiments were conducted in accordance with the guidelines of ethics committee of the University of Bordeaux and European Committee Council directives of 1st February 2013 (2010/63/EU).

Experiments were conducted on two transgenic mouse lines: The B6-SJL-TgN (SOD1*G93A)1Gur/J (SOD1 G93A) mice and the GAD67-GFP-SOD1^{G93A} mice.

The B6SJLTgN (SOD1-G93A)/1Gur/J mice expressing the human G93A Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) mutation (Gly93>Ala substitution, high transgene copy number) and their wild type (WT) counterpart were used for in vivo electrophysiology and immunochemistry studies. Mice were obtained from the Jackson Laboratory (<https://www.jax.org/strain/002726>) and heterozygous B6SJLTgN(SOD1-G93A)/1Gur/J lineage (named SOD in the present study) was maintained by crossing heterozygous transgene-positive male mice with B6SJL F1 hybrid females (Janvier labs, Le Genest-Saint-Isle, France).

The GAD67-GFP-SOD mice were used to visualize GABAergic INs in primary motor cortex (M1) for whole-cell patch-clamp recordings. These mice were obtained by crossing heterozygous B6SJLTgN(SOD1-G93A)/1Gur/J male with heterozygous GAD67-GFP knock-in Swiss female mice (Tamamaki et al., 2003).

Mice were housed in groups of five in large Plexiglas cages with access to food and water *ad libitum* under a standard 12h light/dark schedule. All procedures were carried out on male animals during the light phase of the cycle, before the onset of symptoms at approximately 10 to 12 weeks of age (late presymptomatic stage, see Gurney et al., 1994). Mice were separated in four experimental groups. Two groups which were subjected to acute restraint stress (WT stressed and SOD stressed) and two control groups (WT and SOD).

2.2- Patch-clamp experiments

2.2.1- Slices preparation

Mice were sacrificed by cervical dislocation, brain was quickly removed and immediately immersed in ice-cold cutting solution of the following composition in mM: 250 sucrose, 26 NaHCO₃, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 10 MgSO₄, 1.3 MgCl₂, 0.5 CaCl₂, and 10 glucose, gassed with 95% O₂-5% CO₂. Brain was cut in coronal slices containing the M1 (300 μm, approximately from 1.8 mm to 0.3 mm anterior to bregma) using a vibratome (VT1000 S, Leica Microsystems, Germany). The slices were then incubated at least 1 h at 34°C in standard

aCSF (containing, in mM: 126 NaCl, 26 NaHCO₃, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 2 MgSO₄, 2CaCl₂, and 10 glucose, gassed with 95% O₂–5% CO₂) until whole-cell patch-clamp recordings were performed.

2.2.2- Electrophysiology

Slices were transferred to a recording chamber under an upright microscope (Olympus BX51WI, Japan) and continuously perfused (2 mL/min) at 28–30°C with oxygenated standard aCSF. GAD67-GFP positive GABAergic INs within M1 were detected using 488 nm UV light under direct visualization with an infrared-sensitive CCD video camera (Infinity 3 Lumenera Corp., Ottawa, Ontario, Canada). Patch-clamp electrodes (6–8 MΩ) were made of thin-walled single filamented borosilicate glass (1.5 mm outer diameter, Sutter Instrument, Novato, CA) using a two-stage vertical microelectrode puller (PP-830, Narishige, Tokyo, Japan). Pipettes were filled with (in mM) 130 K-gluconate, 5 NaCl, 1 CaCl₂, 10 HEPES, 10 EGTA 2 MgATP, pH ~7.4 adjusted with KOH.

All recordings were performed in current-clamp mode. Junction potential was not corrected. The resting membrane potential was measured after whole-cell configuration achievement and neurons exhibiting a resting potential greater more depolarized than -50 mV were excluded from analyses. Recordings began 10 minutes after membrane rupture, and the membrane resting potential was then adjusted to -70 mV by continuous current injection before starting the V/I curve. Rheobase was determined by the use of successive 500 ms-long depolarizing currents pulses (2 pA steps, 1 s interstimulus interval). Action potential properties (threshold, amplitude and duration) were measured from the first single spike evoked during rheobase assessment. The current–spike frequency relationship was determined by injecting increasing depolarizing 500 ms current pulses (20 pA steps, ranging from 0 to 280 pA, 1 s interstimulus interval). Membrane response to hyperpolarization was investigated by a serie of hyperpolarizing 500 ms current pulses (20 pA steps, ranging from -100 to -20 pA, 1 s interstimulus interval). Accommodation parameters were calculated during continuous firing elicited by a 500 ms depolarizing current pulse. Spike frequency accommodation was calculated as the ratio between the last and first interspike intervals (last ISI/first ISI). Spike amplitude accommodation was measured as the absolute percentage of variation of the last AP amplitude compared to the first AP amplitude ($(A_{\text{first}}-A_{\text{last}})/A_{\text{first}}$). They were evaluated twice, at stimulation intensities triggering the minimal constantly maintained firing frequency (minimal continuous frequency, F_{cont}) and the maximal sustained firing frequency (saturating frequency, F_{sat}). Signals were obtained using an Axon Multiclamp 700B amplifier (Molecular Devices,

Sunnyvale, CA, USA). Data were low-pass filtered at 2 kHz, digitized online at 20 kHz using Digidata 1550B (Molecular Devices) and acquired with Clampex 10.7 software (Molecular Devices). Signal analyses were performed offline using pCLAMP 10.7 software (Molecular Devices).

2.2.3- Principal Component Analysis

In order to characterize INs clustering, a Principal Component Analysis (PCA) was performed using R software (Ade4 package), based on the behavioural variables described in **Table 1**.

In a first step, the contribution of each variable to the variance in the first and second components of the PCA was calculated. Only the variables whose contribution to the variance of a given component was larger than the mean contribution of all variables to that component were considered. This method revealed the variables mostly responsible for INs variance in the first component and in the second component.

In the second step, the location of each INs cluster was represented on the plane defined by the first and second components of the PCA. The separation between pairs of groups was evaluated by calculating the inertia, which was defined as the ratio of the between-group variance to the global variance. The statistical significance of inertia for group separation was estimated using a Monte Carlo permutation test (1000 runs) and fixed to $p < 0.05$. In each run, the simulated inertia was calculated and the distribution of simulated inertia values was compared to the real inertia. A P -value was then calculated as the ratio of the number of simulations in which the simulated inertia was larger than the real inertia to the total number of runs.

Table 1. Variables used for Principal Component Analysis

Variables	Definition	Measurement	Range
Em	Resting membrane potential	mV	-81 to -49
Rin	Input resistance	MΩ	113 to 871
Rheobase	Minimum current to initiate a spike	pA	2 to 232
Spike Threshold	Threshold membrane potential	mV	-62 to -30

2.3- In vivo electrophysiology

2.3.1- Surgery

Mice were anesthetized with isoflurane delivered in concentrations of 1-3 % in oxygen (up to 5 % for initial induction), using precision vaporizer and ventilation. Mice were placed in a stereotaxic frame (Stoelting Instruments) with the head placed in order to align bregma and lambda in the same horizontal plane. Body temperature was maintained at 37 °C by a heating pad and temperature controller (FHC Bowdoin, ME, USA) and eyes were hydrated with Lacrigel (Europhta Laboratories). After application of a local analgesic (lidocaine) the scalp was incised and retracted. Small burr holes were then drilled in the skull to allow the positioning of stimulating and recording electrodes.

2.3.2- Stimulating and recording procedures

Two recording electrodes (tungsten wires; diameter: 76.2 μm) separated vertically from ~1 mm to simultaneously record at two different depths) were stereotactically positioned in the M1 [1.6 mm anterior to bregma (AP), 1.6 mm from midline (ML), 0.35 to 1.35 mm dorsoventral (DV)]. A stimulating electrode composed of two tungsten wires (diameter: 76.2 μm) also separated vertically from ~1 mm was placed in the M1 [1.6 mm AP, 1.6 mm ML, 0.35 to 1.35 mm DV] to evoke field potentials in the contralateral M1. The DV location of both stimulating and recording electrodes was determined in order to maximize the amplitude of M1 evoked field potentials (or evoked potentials, EPs). A reference electrode (100 μm silver wire) was fixed with a screw to the skull, in the occipital area.

M1 EPs were elicited by single 0.2 ms rectangular monophasic pulses delivered in the contralateral M1, amplified by an A-M systems amplifier (Sequim, WA, USA - gain x100 or x1000), filtered (band-pass 0.1-10 000 Hz), digitized at 10 kHz (CED) and analyzed with Signal software v. 3.07 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK). Baseline responses were established according to the stimulation intensity sufficient to elicit an EP corresponding to ~50% of the response maximal amplitude.

In order to determine whether the EPs in M1 correspond to synaptic responses or neuronal firing, evoked extracellular multi-unit activity (MUA) was also recorded, using the same recording and stimulating electrodes as described earlier, in mice prior to EPs studies. Responses were amplified and filtered (gain x10 000; band-pass 300-500 Hz) digitized at 10 kHz (CED) and analyzed with Signal software v. 3.07 and Spike2 software v. 8.02 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK).

2.3.3- Protocols

Primary motor cortex excitability and plasticity was investigated in an effort to better understand the impact of stress on the motor cortical network functioning.

Input–output curve

Input-output curves (I/O) were generated by adjusting the stimulus intensity in increments of 0.2 mA, from 0.4 to 4 mA. Stimulus intensity producing ~50% of maximal amplitude was used for further analyses. I/O curve was followed by a paired-pulse protocol.

Paired-pulse

Short-term plasticity in M1 was assessed by means of a paired-pulse protocol. Two sequential identical paired stimuli with a varying inter-stimulus interval (ISI: 50, 150 and 250 ms) were delivered in the contralateral M1. Short-term plasticity was then determined by analyzing the paired-pulse ratio (PPR) between the EPs' amplitudes for each inter-stimulus interval ($PPR = EP2/EP1$). A ratio above 1 reflects a paired-pulse facilitation (PPF), while a ratio under 1 reflects a paired-pulse inhibition (PPI).

Long-term plasticity induction

Long-term plasticity was evaluated through the application in the contralateral M1 of a theta-like burst stimulation (TBS), which has been widely used to assess cortical plasticity and modulate corticospinal excitability in humans (S. W. Chung et al., 2016; Wischnewski and Schutter, 2015) and more recently in rats (Fujiki et al., 2020; Wu et al., 2018). The TBS (3 trains of 10 pulses at 100 Hz repeated 10 times at 5 Hz) was applied after a 30 min baseline period at 0.05 Hz. Long-term plasticity in the M1 was measured as the EP amplitude's mean percentage of variation from baseline, and was recorded during 60 min (at 0.05 Hz) (see **Fig. 1**).

2.3.4- Pharmacology

With the aim of investigating whether the EPs' components mainly reflect excitatory or inhibitory activity, pharmacological experiments were conducted in a subgroup of mice. The following antagonists were injected at the recording site (N = 6 per drug): a GABA_A receptor antagonist, (Gabazine at 3 μM; Tocris, Bio-technique, France); an NMDA receptor antagonist (DL-AP5; 40 μM, Tocris) and a kainate and AMPA receptor antagonist (CNQX; 20 μM, Tocris).

2.3.5- Histology

The correct placement of the electrodes was controlled according to the recorded EP general pattern and checked via a histological protocol after completion of experiments. Brain tissue was collected and post-fixed in a formalin-saccharose 30 % solution until sectioning. Coronal slices were cut at 80 μm thickness, using a vibratome (VT1000 S, Leica Microsystems, Germany), mounted on gelatin-coated slides and stained with cresyl violet for microscopic validation of electrodes correct placements within both M1.

2.4- Acute restraint stress protocol

Mice were placed individually in a transparent tube with ventilation holes (internal diameter 28 mm; length 105 mm) for 45 min. They were at the same time exposed to a bright light in a sound attenuated room adjacent to the housing room. Non stressed control groups were left undisturbed in their home cages.

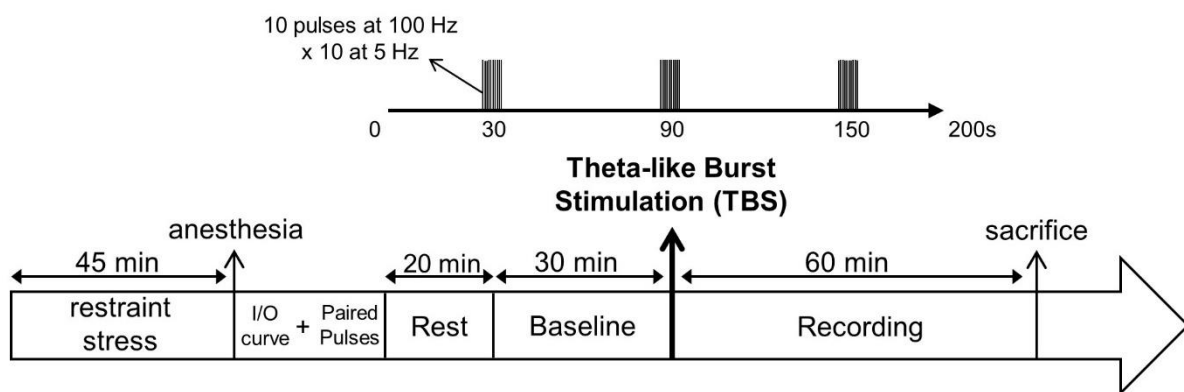


Figure 1. Workflow diagram of *in vivo* electrophysiological recordings. After a 45-min restraint stress, mice were anesthetized and an input–output (I/O) curve measuring EPs amplitude in response to gradual increases in stimulation intensity was realized, followed by a paired-pulse protocol. After a 20-min rest, a 30-min baseline (0.05 Hz) was recorded before the induction of a theta-like burst stimulation (TBS). After the TBS, EPs were recorded again during 60 min (0.05 Hz). Mice were sacrificed at the end of the procedure.

2.5- Blood Sampling and plasma corticosterone assay

To determine corticosterone (CORT) level, blood samples were collected from the submandibular vein of unanesthetized mice, with sterile 25-gauge needles (N = 9 WT and 13 SOD). Blood collection was performed during the same time interval in the morning (8:00 to 11:00), within 60-90 s from taking the mice from its home cage (basal CORT level: t_0). After

taking the first blood sample, stress animals were individually placed in restrainer tubes (as described above) for 45 min, while control mice return in their home cage for the same period, after which a second blood sample was taken for all groups (t_{45}).

Blood samples were deposited in tubes containing 10 % ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), centrifugate for 10 min at 4°C and 3000 rpm for serum separation. The supernatant plasma was stored at -80° C for subsequent analysis. Plasma CORT levels were measured using a commercial enzyme immunoassay kit that allowed us to measure corticosterone concentrations (Correlate-EIA, Assay Designs, Ann Arbor, USA).

2.6- Immunochemistry and confocal microscopy

Immunochemistry was performed on coronal slices containing M1 from SOD and WT animals. Mice were deeply anesthetized (euthasol and xylazine solution, 360 mg/kg and 20 mg/mL respectively, i.p) and transcardially perfused with 4 % paraformaldehyde (PFA). Brains were post-fixed overnight in PFA, then cryoprotected at 4°C in 15 % sucrose for 24 h followed by 30 % sucrose during another 24 h. Samples were frozen in Tissue-Tek (O.C.T. Compound, Sakura Finetek, Japan) using dry-ice cooled isopentane, and sliced into 25- μ m-thick sections using a cryostat (CM 3050; Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Sections containing M1 (approximately from 1.8 mm to 0.3 mm anterior to bregma) were affixed on gelatinized slides and stored at -80°C until future use.

Slides were thawed and then rinsed 3 times in 0.1M PBS before a 20-min incubation in NH_4Cl -PBS (50 mM) at room temperature, then rinsed 3 times again in 0.1M PBS and blocked 2 h at room temperature with a medium containing 2% BSA and 0.5% triton. Sections were then incubated 48 h at 4°C with combination of the following primary antibodies, prepared in PBST (0.2 % BSA, 1% triton): rabbit polyclonal anti-KCC2 antibody (1:200, Millipore 07-432, Millipore Sigma, USA) and mouse monoclonal anti-NKCC1 antibody (1:200, T4 from Developmental Studies Hybridoma Bank, The University of Iowa, USA). After three rinses in 0.1 M PBS, slides were incubated 2 h at room temperature with the following secondary fluorescent antibodies, along with 40,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI, 1:5000; D9542 Merck Sigma-Aldrich) for nuclear staining: goat anti-rabbit secondary antibody Alexa Fluor 488 (1:500, A-11034, Invitrogen, France) and goat anti-mouse secondary antibody Alexa Fluor 647 (1:500, A-21235, Invitrogen, France). Slides were rinsed again with 0.1 M PBS before finally being mounted with an anti-fade reagent (Fluoromount, Electron Microscopy Sciences) and stored at 4°C in obscurity until confocal observation.

Samples were imaged using a 20x objective with a confocal laser scanning microscope (LSM 900 Zeiss). Lasers were selected according to the wave-length required for visualization. Global fluorescence quantification of both KCC2 and NKCC1 proteins was performed using Fiji software (Imagej.net). Data were collected from both hemispheres when possible. Values are expressed as mean protein expression percentages \pm SEM, normalized to mean values from WT samples

2.7- Statistical Analysis

IBM SPSS Statistics software for Windows, v. 20 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA) was used for all statistical analyses. *P*-values less than 0.05 were considered statistically significant. Normality of the data was assessed using Shapiro Wilk normality test. If not said otherwise, continuous variables are expressed as mean \pm SEM and categorical variables are presented as proportions (%) \pm SEM. Comparisons of independent continuous variables were conducted using t-tests or non-parametric Mann-Whitney and Kruskal-Wallis analysis of variance tests. The Dunn's nonparametric post hoc test was performed following significant Kruskal-Wallis analyses. Paired continuous variables comparisons were analyzed by the means of paired t-test. Repeated measures ANOVA with a Greenhouse-Geisser correction was used for group comparisons of repeated variables. Significant between groups effect led to simple main effects analyses. Investigation of categorical variables was performed using the chi-square (χ^2) test.

3- Results

3.1- Effect of acute restraint stress on the properties of M1 GABAergic interneurons

Our first aim was to evaluate the effect of acute restraint stress on the electrophysiological properties of GABAergic INs in the M1 of WT and SOD mice (transgenic GAD67-GFP-SOD), at a late presymptomatic stage. To this end, patch-clamp experiments were conducted on M1 inhibitory GABAergic INs recorded from layer (L) 2/3 to L6 from acute coronal slices, from both SOD and their WT counterparts. As a first step, intrinsic properties of GABAergic IN within the M1 were investigated. As a second step, these properties were compared between WT and SOD animals. And as a third step the effect of restraint stress was assessed in both groups.

3.1.1- Recorded M1 GABAergic INs can be classified into 4 clusters

A total of 132 GFP-positive neurons were recorded and analyzed. Among them, four IN clusters were classified according to their electrophysiological properties and firing pattern in response to depolarizing current steps injection (see **Fig. 2**). In order to confirm INs clustering, a Principal Component Analysis (PCA) was performed. Four electrophysiological parameters were investigated among the 132 putative GABAergic INs (see **Table 1**). Only the variables whose contribution to the variance of a given component was larger than the mean contribution of all variables to that component were kept for subsequent investigations (e.g. 2502, see * in **Table 2**). This analysis indicated that the first component of the PCA (**Fig. 3A**, horizontal axis) mostly represented rheobase along with Rin. Using a similar method, the second component (**Fig. 3A**, vertical axis) was interpreted as spike threshold. These variables were mostly responsible for INs variance in the first and second components, hence they can be used as a basis for INs clustering. An illustration of INs clusters represented on the plane defined by the first and second components of the PCA can be seen **Fig. 3B**.

Finally, pairs of groups analyses revealed that all INs clusters significantly differed from each other, except for the 4th cluster compared to the 1st one (see **Fig. 3C**).

Table 2. Variables contribution to principal components 1 and 2 variance, regarding all interneurons

	Component 1	Component 2
Em	2270	883
Rin	2502*	2124
Rheobase	3502*	18
Spike threshold	1726	6975*
mean	2500	2500

**variable whose contribution to the variance of a given component is larger than the mean contribution of all variables to that component*

3.1.2- Electrophysiological properties of INs clusters in M1

The first cluster regrouped 34.1 % of the INs (n = 45). They were recorded from all layers but were more abundant in L2/3 and L6. Before holding current injection, they displayed a resting membrane potential of -66.93 ± 0.91 mV, an input resistance of 263.96 ± 12.80 M Ω , along with a rheobase of 54.76 ± 3.63 pA. Evoked action potentials (APs) of these neurons presented a mean threshold of -42.40 ± 0.64 mV with an average amplitude of 39.91 ± 1.90 mV

and a mean duration of 1.19 ± 0.05 ms. Their firing pattern in response to depolarizing current steps was continuous with a discharge frequency that increased with the stimulation intensity. Their mean maximum frequency was 58.90 ± 2.05 Hz, and measured when injecting between 220 to 280 pA. These neurons expressed moderate frequency accommodation (Fcont: 2.06 ± 0.17 and Fsat: 2.23 ± 0.10) and spike amplitude accommodation (Fcont: 7.33 ± 0.69 % and Fsat: 22.06 ± 1.90 %) (see **Fig. 2**).

The second cluster was composed of 27.3 % of the recorded INs, found in L2/3 and especially in L5 (n = 36). They presented a resting potential of -62.39 ± 1.32 mV, a mean input resistance of 334.78 ± 14.86 M Ω and a lower mean rheobase of 31.06 ± 3.36 pA. Their APs had a mean threshold of -46.59 ± 0.80 mV, a mean amplitude of 48.42 ± 1.98 mV and a mean duration of 1.16 ± 0.05 ms. These neurons also expressed a continuous firing pattern with a frequency of discharge increasing as a function of the stimulation intensity. Their maximum frequency of firing was obtained from 140 to 280 pA injection and was around 70.25 ± 3.32 Hz. As for what was observed in the 1st cluster, INs from the 2nd cluster displayed moderate frequency and spike amplitude accommodation at low stimulation intensities. (Fcont: frequency accommodation = 1.98 ± 0.18 and spike accommodation = 8.70 ± 1.04 %). They however presented a stronger spike amplitude accommodation than cluster 1 INs with moderate spike frequency changes at higher stimulation intensities (Fsat: frequency accommodation = 2.45 ± 0.13 and spike accommodation = 43.63 ± 3.10 %) (see **Fig. 2**).

The third cluster included 22.7 % of the INs (n = 30), obtained from L2/3 to L6, mainly in L2/3 and L5. They exhibited a resting potential of -56.60 ± 1.24 mV, associated with an input resistance of 444.87 ± 25.86 M Ω and a rheobase of 10.00 ± 1.56 pA. Their APs were similar to those recorded within the second cluster, with a mean threshold of -48.13 ± 0.75 mV, an average amplitude of 40.53 ± 2.08 mV, and a mean duration of 1.12 ± 0.04 ms. These neurons expressed moderate frequency and spike amplitude accommodation for the lowest stimulation intensities (Fcont: frequency accommodation = 1.62 ± 0.10 and spike accommodation = 9.01 ± 0.94 %). Comparable to cluster 2 INs, a moderate frequency and strong spike amplitude accommodation was observed at cluster 3 INs saturating frequency (Fsat: frequency accommodation = 1.91 ± 0.11 and spike accommodation = 42.99 ± 3.06 %). They displayed a continuous firing pattern for the lowest stimulation intensities of depolarizing currents but failed to elicit AP during the whole depolarizing step duration or switched to discontinuous firing for the highest stimulation intensities. Regarding this cluster, firing frequency was calculated during the time period of continuous firing pattern only, and reached a maximum of 99.91 ± 4.18 Hz with injected current of around 260 pA (see **Fig. 2**). Interestingly, 70 % of cells from this cluster initiated a rebound depolarization following hyperpolarization, leading to spike generation in 40 % of cases.

Finally, the fourth cluster regrouped the last 15.9 % of GABAergic INs ($n = 21$), located preferentially in L2/3 and L5 but observed from L2/3 to L6. They expressed a resting potential of -64.95 ± 1.72 mV, an average input resistance of 279.71 ± 26.55 M Ω and a mean rheobase of 68.10 ± 13.79 pA. Evoked APs from these INs were not different from those recorded from the first cluster and had a mean threshold of -43.90 ± 1.81 mV, a mean amplitude of 39.49 ± 3.07 mV, along with a duration of 1.14 ± 0.04 ms. Because of their irregular firing pattern, neither their firing frequency nor their accommodation profile were investigated (see **Fig. 2**).

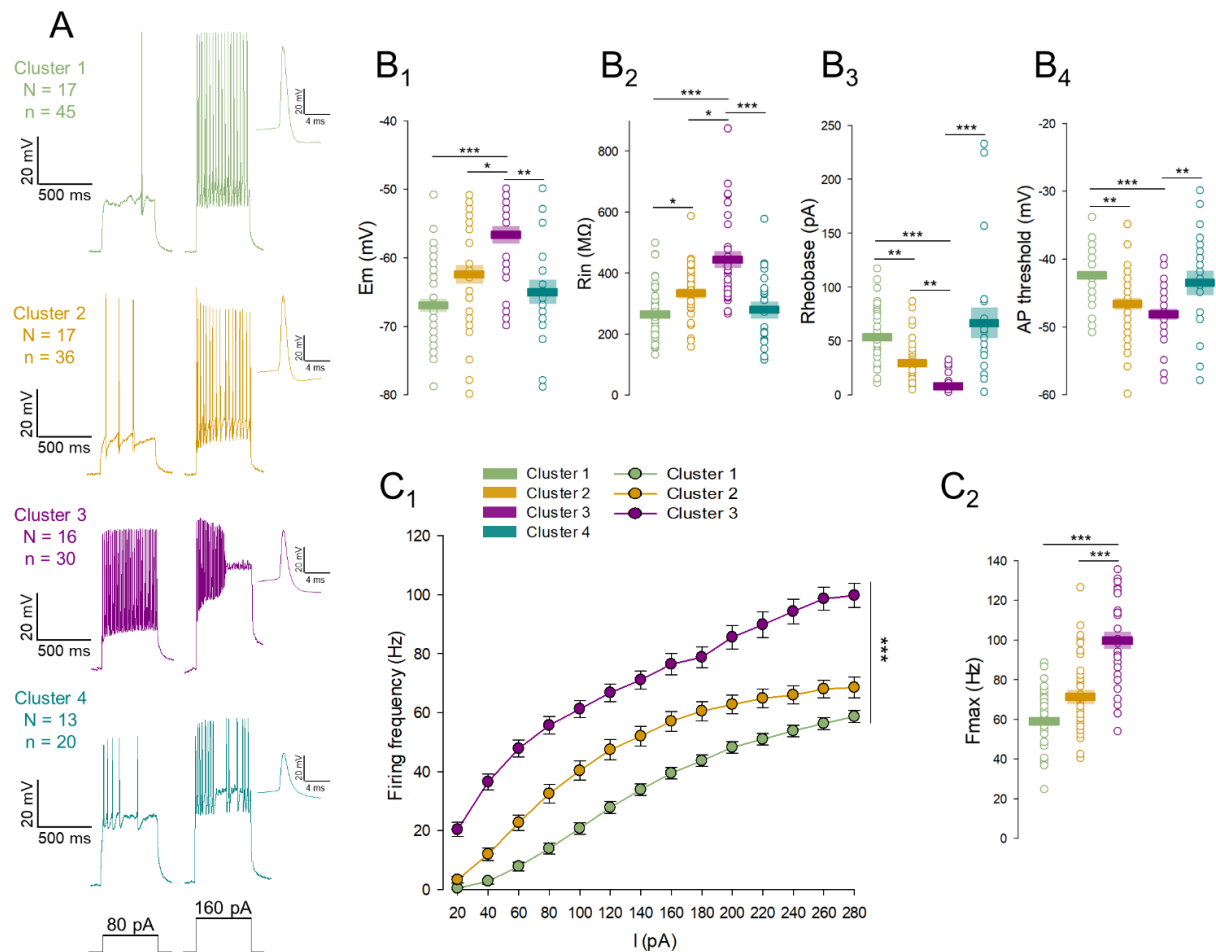


Figure 2. Electrophysiological characterization of M1 GABAergic interneurons. (A) Left, firing profile of the four interneuron (IN) clusters in M1, generated from 500-ms depolarizing current injections (80 and 160 pA). INs from clusters 1 (green, $n = 45$) and 2 (orange, $n = 36$) presented a continuous firing pattern. INs from cluster 3 (purple, $n = 30$) presented a continuous firing pattern for the lowest stimulation intensities only, while cluster 4 INs (teal, $n = 21$) displayed a discontinuous firing pattern. Left, an expanded view of single action potential (AP) for each cluster. (B₁-B₄) Electrophysiological passive membrane properties (resting potential, input resistance and rheobase) and spike threshold measurements between the four INs clusters. (C) Current-frequency curve (C₁) and maximum frequency (F_{max}) values (C₂) of the current-frequency relationship among clusters 1, 2 and 3. Data are shown as mean \pm SEM. N = number of animals, n = number of neurons. In B₁-B₄ and C₂, each dot corresponds to a single neuron. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

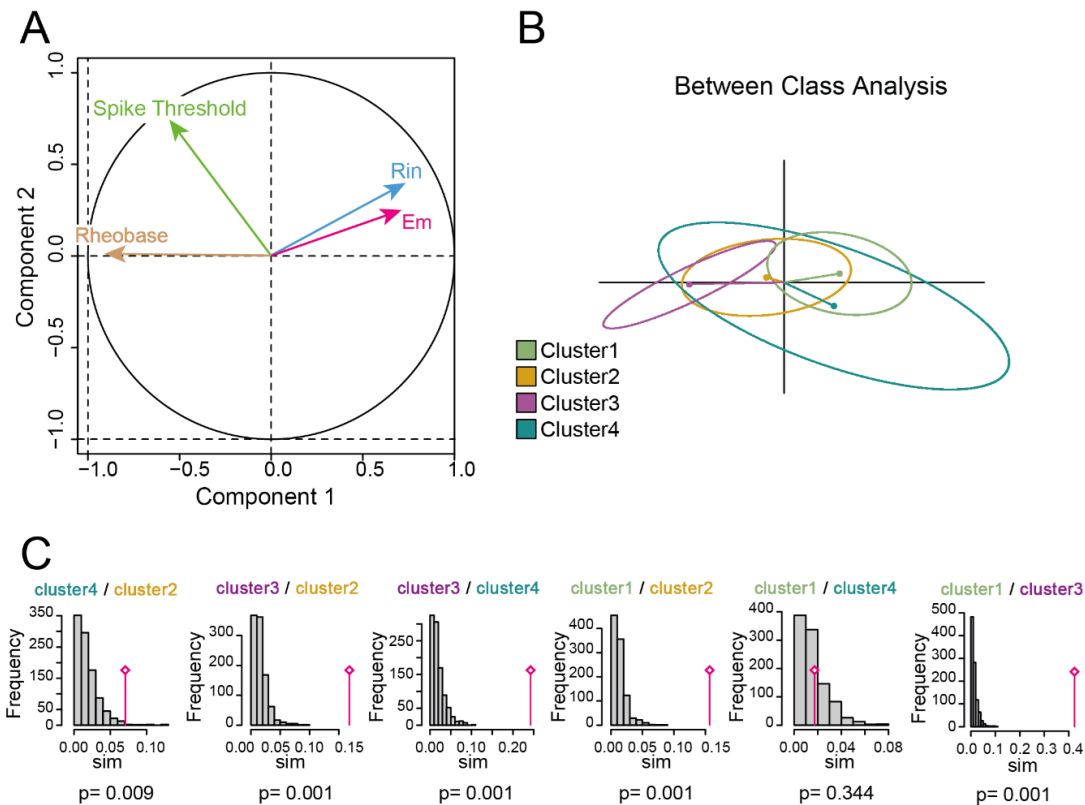


Figure 3. Principal Component Analysis of GABAergic INs in M1. (A) Principal components according to four electrophysiological parameters including Em, rheobase, Rin and spike threshold. The first component (horizontal axis) represented mainly rheobase and Rm, the second component (vertical axis) represented spike threshold. (B) INs clusters representation on the plane defined by the first and second components of the PCA. (C) Paired comparisons of INs clusters. All cluster differed from each other, except INs from the 4th cluster compared to cells from the 1st one.

Kruskal Wallis comparisons followed by Dunn's post-hoc tests revealed that electrophysiological properties of cells from the 4th cluster were similar to INs from the 1st and 2nd clusters ($p > 0.05$, see **Fig. 2**). Cluster 3 INs were significantly different from clusters 4 and 1 regarding their passive membrane properties and AP threshold ($p < 0.01$, see **Fig. 2**). Cluster 2 cells departed from cluster 3 neurons in terms of passive membrane properties ($p < 0.05$ see **Fig. 2**), and from cluster 1 regarding their resting potential, rheobase and spike threshold ($p < 0.05$ see **Fig. 2**). Considering their current-frequency curve and Fmax values, INs from the 3rd cluster appeared to be the most excitable compared to both clusters 1 and 2 ($p < 0.001$, see **Fig. 2**).

3.1.3- GABAergic INs percentages between WT and SOD mice

The probability to find INs from the four clusters differed between the WT and SOD animals ($n_{WT} = 54$, $n_{SOD} = 78$; $\chi^2(3) = 11.49$, $p = 0.009$). While INs from the 1st and 4th clusters

were equally represented between these two groups (32.7 % and 16.7 % in WT, respectively; 34.6 % and 15.4 % in SOD), cluster 2 and 3 ratios were inverted. INs from the 3rd cluster were predominant in WT mice compared with the 2nd cluster (34.5 % and 14.5 %, respectively) while SOD animals expressed inverted proportions (14.1 % INs from the 3rd cluster and 35.9 % from the 2nd cluster).

3.1.4- Stress-induced changes in INs electrophysiological properties between WT and SOD mice

Increased excitability of cluster 1 INs in SOD mice

Our analysis did not reveal any difference between the WT and SOD neurons from the first cluster regarding their resting potential, input resistance and AP characteristics such as the threshold, amplitude and duration ($p > 0.05$ in each case, **Table 3**). However, the SOD INs expressed a lower rheobase than their WT counterparts (74.25 ± 6.53 pA vs 43.50 ± 5.21 pA, $U = 10.50$, $z = -2.90$, $p = 0.002$) and a higher firing frequency in response to 500 ms depolarizing currents injections from 60 to 280 pA ($p < 0.05$ for these intensities), with a maximum frequency of 67.83 ± 2.92 Hz (vs 48.50 ± 4.40 Hz in WT, $U = 47.50$, $z = -2.83$, $p = 0.003$) (see **Table 3 and Fig. 4A₁**).

Interneurons from the three remaining clusters were similar between WT and SOD animals concerning their passive electrophysiological properties, as well as their AP characteristics ($p > 0.05$ in each case, see **Table 3 and Fig. 4A₂-A₄**).

Effect of acute stress on M1 GABAergic IN in WT and SOD mice

GAD67-EGP positive INs from the 1st cluster recorded in M1 of WT mice exposed to acute stress did not exhibit changes regarding their passive membrane properties such as the resting membrane potential and input resistance, neither the AP characteristics ($p > 0.05$ in each case, see **Table 3**). A non-significant decrease of the rheobase (74.25 ± 6.53 M Ω vs 53.00 ± 8.18 M Ω , $p = 0.101$) along with an augmented frequency of firing in response to depolarizing currents (significant for the 100-pA stimulation intensity, 8.25 ± 1.75 Hz vs 21.40 ± 4.52 Hz, $U = 16.00$, $z = -1.65$, $p = 0.034$), was however detected in these WT stressed animals (see **Table 3 and Fig. 4B₁**).

In SOD cluster 1 INs, stress did not change the resting potential nor the input resistance ($p > 0.05$ in both cases, see **Table 3**) but induced a slight but non-significant increase of the rheobase (43.50 ± 5.21 pA vs 54.53 ± 6.74 pA, $p = 0.256$). AP features didn't seem to be impacted either ($p > 0.05$ regarding threshold, amplitude and duration, see **Table 3**). However,

contrary to what was observed in WT stressed INs, our data showed that stress induction lowered the frequency of firing in response to depolarizing current steps in SOD mice (significant for the 260 and 280 pA stimulation intensities, 65.67 ± 2.89 Hz vs 54.67 ± 2.87 Hz, $U = 42.50$, $z = -2.32$, $p = 0.019$ and 67.67 ± 2.94 Hz vs 56.80 ± 2.84 Hz, $U = 41.00$, $z = -2.40$, $p = 0.016$, respectively), as well as the maximum frequency of firing (67.83 ± 2.92 Hz vs 57.20 ± 5.09 Hz, $U = 41.50$, $z = -2.37$, $p = 0.016$), see **Table 3** and **Fig. 4C₁**.

As showed in **Table 3** and **Fig. 4B₂-C₄**, stress alone did not induce significant changes within clusters 2 and 3 INs, concerning their membrane passive properties along with AP characteristics, regardless of the genotype ($p > 0.05$).

INs from the 4th cluster from WT stressed mice were similar to their equivalents from WT non-stressed animals, regarding their membrane passive properties and AP parameters ($p > 0.05$, see **Table 3**). SOD stressed cells from cluster 4 also expressed similar features than the SOD non-stressed INs ($p > 0.05$, see **Table 3**), except for their rheobase which was significantly lower (99.20 ± 34.07 pA vs 30.57 ± 6.65 pA, $p = 0.01$), see **Table 3**.

These results suggest that at a late pre-symptomatic stage (P70-P90), INs from M1 are altered in SOD mice. Interestingly, only interneurons from the 1st cluster are more excitable in SOD mice when compared to their WT counterparts. Following acute stress, excitability of these INs is increased in WT while it is decreased in SOD animals. In addition, stress increases excitability of INs from the 4th cluster only in SOD mice. These results reveal that acute stress alters motor cortical GABAergic circuitry differently in WT and SOD mice.

Table 3. Passive membrane properties and action potential characteristics of M1 GABAergic INs between WT, SOD, WT stressed and SOD stressed animals within each cluster

	Passive membrane properties				AP characteristics			
	Em (mV)	Rin (MΩ)	Rheobase (pA)	Threshold (mV)	Amplitude (mV)	Duration (ms)	F _{max} (Hz)	
Cluster 1								
WT (n = 8, N = 4)	-69.25 ± 2.12	233.25 ± 36.26	74.25 ± 6.53	-42.50 ± 1.19	45.31 ± 5.81	1.29 ± 0.21	48.50 ± 4.40	
WT stressed (n = 10, N = 4)	-65.90 ± 2.28 ^{ns}	235.50 ± 17.65 ^{ns}	53.00 ± 8.18 ^{ns}	-43.10 ± 1.79 ^{ns}	43.55 ± 3.58 ^{ns}	1.24 ± 0.08 ^{ns}	59.00 ± 5.37 ^{ns}	
SOD (n = 12, N = 5)	-66.33 ± 2.00 ^{ns}	260.17 ± 24.03 ^{ns}	43.50 ± 5.21^{**}	-43.33 ± 1.19 ^{ns}	35.12 ± 2.99 ^{ns}	1.10 ± 0.08 ^{ns}	67.83 ± 2.92^{**}	
SOD stressed (n = 15, N = 4)	-66.87 ± 1.28 ^{ns}	302.33 ± 22.76 ^{ns}	54.53 ± 6.74 ^{ns}	-40.92 ± 0.98 ^{ns}	38.21 ± 3.20 ^{ns}	1.19 ± 0.10 ^{ns}	57.20 ± 2.81[#]	
Cluster 2								
WT (n = 3, N = 2)	-54.67 ± 2.02	322.67 ± 74.21	40.67 ± 12.35	-47.00 ± 0.58	51.20 ± 4.22	1.17 ± 0.13	54.00 ± 3.05	
WT stressed (n = 5, N = 4)	-60.40 ± 3.19 ^{ns}	341.20 ± 22.78 ^{ns}	23.60 ± 4.71 ^{ns}	-49.00 ± 2.77 ^{ns}	46.86 ± 4.58 ^{ns}	1.22 ± 0.14 ^{ns}	67.80 ± 8.55 ^{ns}	
SOD (n = 14, N = 5)	-62.50 ± 2.14 ^{ns}	323.00 ± 30.00 ^{ns}	33.57 ± 6.96 ^{ns}	-46.50 ± 1.42 ^{ns}	51.75 ± 2.81 ^{ns}	1.15 ± 0.08 ^{ns}	75.71 ± 6.55 ^{ns}	
SOD stressed (n = 14, N = 6)	-64.64 ± 2.19 ^{ns}	346.86 ± 4.29 ^{ns}	29.14 ± 4.29 ^{ns}	-45.58 ± 1.10 ^{ns}	44.50 ± 3.97 ^{ns}	1.17 ± 1.11 ^{ns}	69.14 ± 4.29 ^{ns}	
Cluster 3								
WT (n = 9, N = 4)	-54.00 ± 1.58	406.44 ± 32.66	7.11 ± 1.16	-49.89 ± 1.59	39.42 ± 1.74	1.03 ± 0.11	105.70 ± 7.41	
WT stressed (n = 10, N = 4)	-56.80 ± 2.64 ^{ns}	429.40 ± 41.41 ^{ns}	12.00 ± 3.71 ^{ns}	-48.60 ± 1.26 ^{ns}	38.80 ± 4.39 ^{ns}	1.22 ± 0.07 ^{ns}	97.93 ± 8.33 ^{ns}	
SOD (n = 5, N = 5)	-60.80 ± 3.43 ^{ns}	447.20 ± 66.94 ^{ns}	8.00 ± 1.09 ^{ns}	-43.46 ± 3.02 ^{ns}	43.46 ± 3.02 ^{ns}	1.16 ± 0.07 ^{ns}	97.26 ± 9.13 ^{ns}	
SOD stressed (n = 6, N = 3)	-56.67 ± 2.20 ^{ns}	526.33 ± 82.78 ^{ns}	12.67 ± 4.58 ^{ns}	-46.17 ± 1.62 ^{ns}	42.63 ± 7.15 ^{ns}	1.03 ± 0.06 ^{ns}	97.71 ± 9.82 ^{ns}	
Cluster 4								
WT (n = 6, N = 4)	-66.33 ± 3.32	272.67 ± 64.30	66.00 ± 20.38	-42.00 ± 4.61	33.22 ± 6.52	1.10 ± 0.08	n.d.	
WT stressed (n = 3, N = 2)	-66.33 ± 7.26 ^{ns}	161.67 ± 25.30 ^{ns}	108.00 ± 61.61 ^{ns}	-46.33 ± 7.88 ^{ns}	46.63 ± 3.96 ^{ns}	1.10 ± 0.21 ^{ns}	n.d.	
SOD (n = 5, N = 2)	-66.80 ± 3.40 ^{ns}	272.80 ± 53.86 ^{ns}	99.20 ± 34.07 ^{ns}	-41.20 ± 2.13 ^{ns}	49.70 ± 4.09 ^{ns}	1.20 ± 0.09 ^{ns}	n.d.	
SOD stressed (n = 6, N = 4)	-61.86 ± 2.49 ^{ns}	341.29 ± 31.41 ^{ns}	30.57 ± 6.65^{##}	-46.43 ± 1.96 ^{ns}	34.51 ± 5.28 ^{ns}	1.14 ± 0.06 ^{ns}	n.d.	

Values are shown as mean ± SEM, n = number of neurons, N = number of animals

* p < 0.05, ** p ≤ 0.01: comparing WT and SOD neurons; # p < 0.05, ## p ≤ 0.01: comparing control and stressed neurons
ns not significant: comparing WT vs SOD or comparing control vs stressed neurons; n.d.: not determined

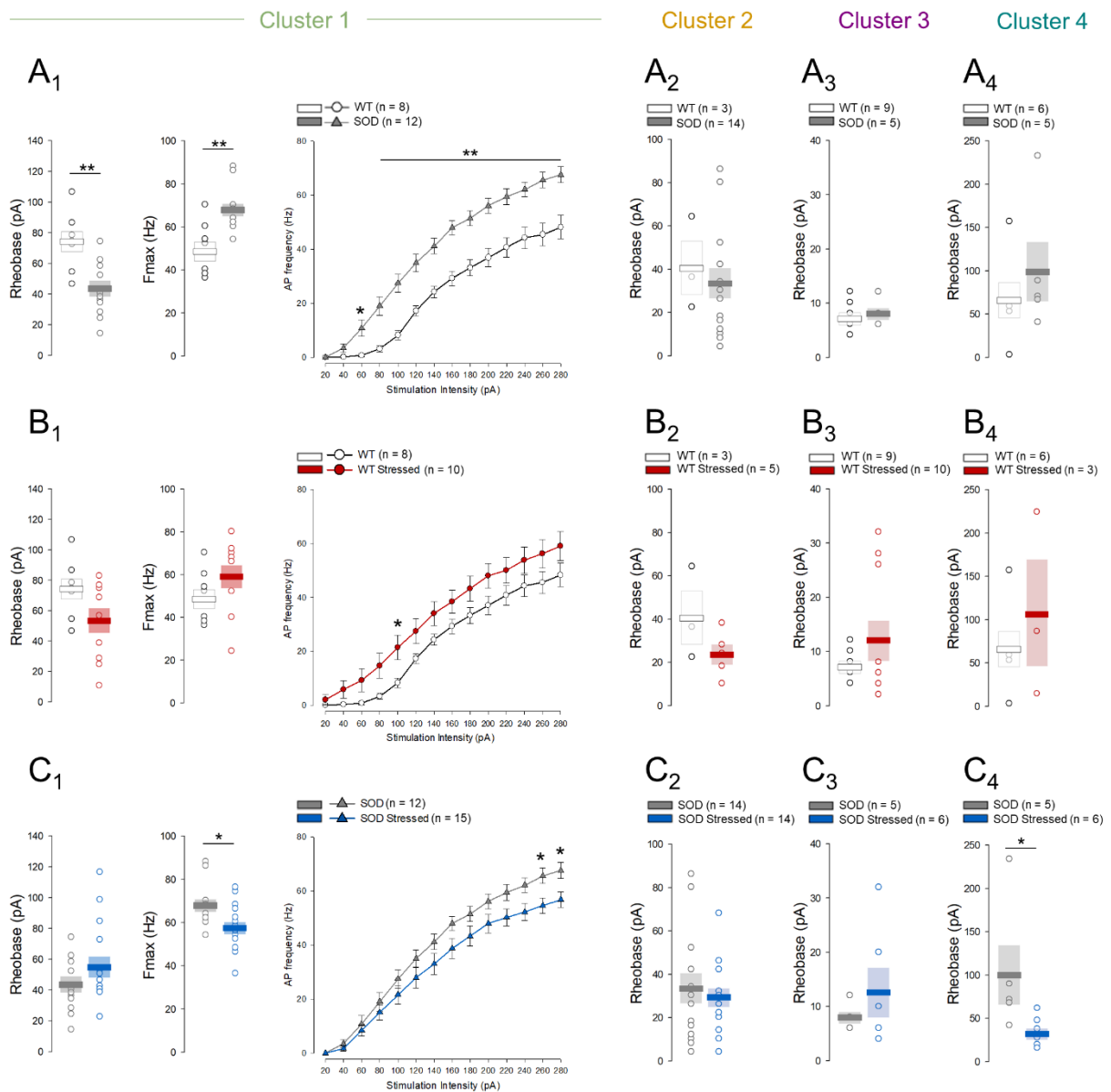


Figure 4. Effect of acute restraint stress on INs excitability. (A₁-A₄) Comparison between the WT and SOD animals regarding clusters excitability. In SOD mice, cluster 1 INs were hyperexcitable, with from left to right, a lower rheobase, a higher maximum frequency of firing (F_{max}) along with higher current-frequency curve values than WT cells (**A₁**). WT and SOD expressed comparable excitability regarding other clusters with similar rheobase values among cluster 2 (**A₂**), cluster 3 (**A₃**) or cluster 4 (**A₄**) INs. (**B₁-B₄**) Acute stress influence on IN clusters excitability in WT animals. Stress tended to slightly increase cluster 1 INs excitability in WT, with however no significant change regarding rheobase or F_{max} and moderately higher current-frequency curve values, significant for the 100-pA intensity only (**B₁**). No significant effect of stress was observed regarding cluster 2 (**A₂**), cluster 3 (**A₃**) or cluster 4 (**A₄**) INs rheobase. (**C₁-C₄**) Effect of acute stress on SOD INs. Despite the lack of significant change in rheobase, acute stress tended to decrease INs excitability in SOD mice with a lower F_{max} and lower current-frequency curve values (significant for the 260 and 280-pA intensities) in INs from the 1st cluster (**C₁**). While no difference was observed in INs from cluster 2 (**C₂**) and 3 (**C₃**) excitability, it tended to decrease cluster 4 INs rheobase (**C₄**). Data are shown as mean \pm SEM. Each dot corresponds to a single neuron, except for current-frequency curves; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

3.2- Effect of stress on M1 synaptic plasticity

3.2.1- Characterization of Evoked Field Potentials in M1

Since acute stress appeared to differently affect GABAergic INs in M1 of WT and SOD mice, our next step was to investigate such an impact on the cortical motor network plasticity. To this purpose, we recorded M1 global activity in response to the stimulation of the contralateral M1 in anesthetized animals. As described below, two evoked field potentials (EPs) were recorded in the M1 depending of recording depth.

General features of Evoked Field Potentials depending on the recording depth

Fig. 5A illustrates the location of both the stimulating and recording electrodes within the M1 (red dots). A representative example of EPs recorded along the M1 depth, with a phase reversal in the deeper layers of the M1 can be seen in **Fig. 5B₁-B₂**.

Two stable evoked responses were simultaneously recorded in the M1 whose maximal amplitudes were obtained in the superficial and deep layers (~ 350 and ~ 1350- μ m depths see **Fig. 5B₂**). The EP from the superficial layers was characterized by a negative component (N1), with a mean peak amplitude of 1.48 ± 0.11 mV and a peak latency obtained at 18.78 ± 0.67 ms. The EP localized in the deeper layer was characterized by two early negative components (N1' and N2) and a late positive component P1. N1' and N2 exhibiting mean amplitudes of 0.91 ± 0.06 mV and 0.30 ± 0.02 mV appearing at 3.05 ± 0.12 ms and 6.76 ± 0.35 ms respectively, and P1 had a mean amplitude of 0.96 ± 0.04 mV occurring at 21.76 ± 0.56 ms (see **Fig. 5C₁ and C₃**).

Simultaneous recording of evoked unit activity showed action potential firing occurring at the same latencies than N1 component and N2-P1 complex suggesting that N1 and N2P1 components could reflect neuronal activity in the superficial and deep layers of M1, respectively (see **Fig. 5C₂ and C₄**).

Pharmacological characterization of Evoked Field Potentials

As EPs correspond to a global network activity, which may encompass excitatory as well as inhibitory influences, we used a pharmacological approach aimed at deciphering the type of contributing neuronal activity of each EP component.

Injection at the recording site of the GABA_A antagonist, Gabazine (3 μ M), increased N1 amplitude, latency and duration along with an augmentation of the corresponding cell firing activity. On the contrary, the N2-P1 amplitude and corresponding cell firing activity was progressively reduced, then abolished (**Fig. 5D₁ and D₂**, green traces).

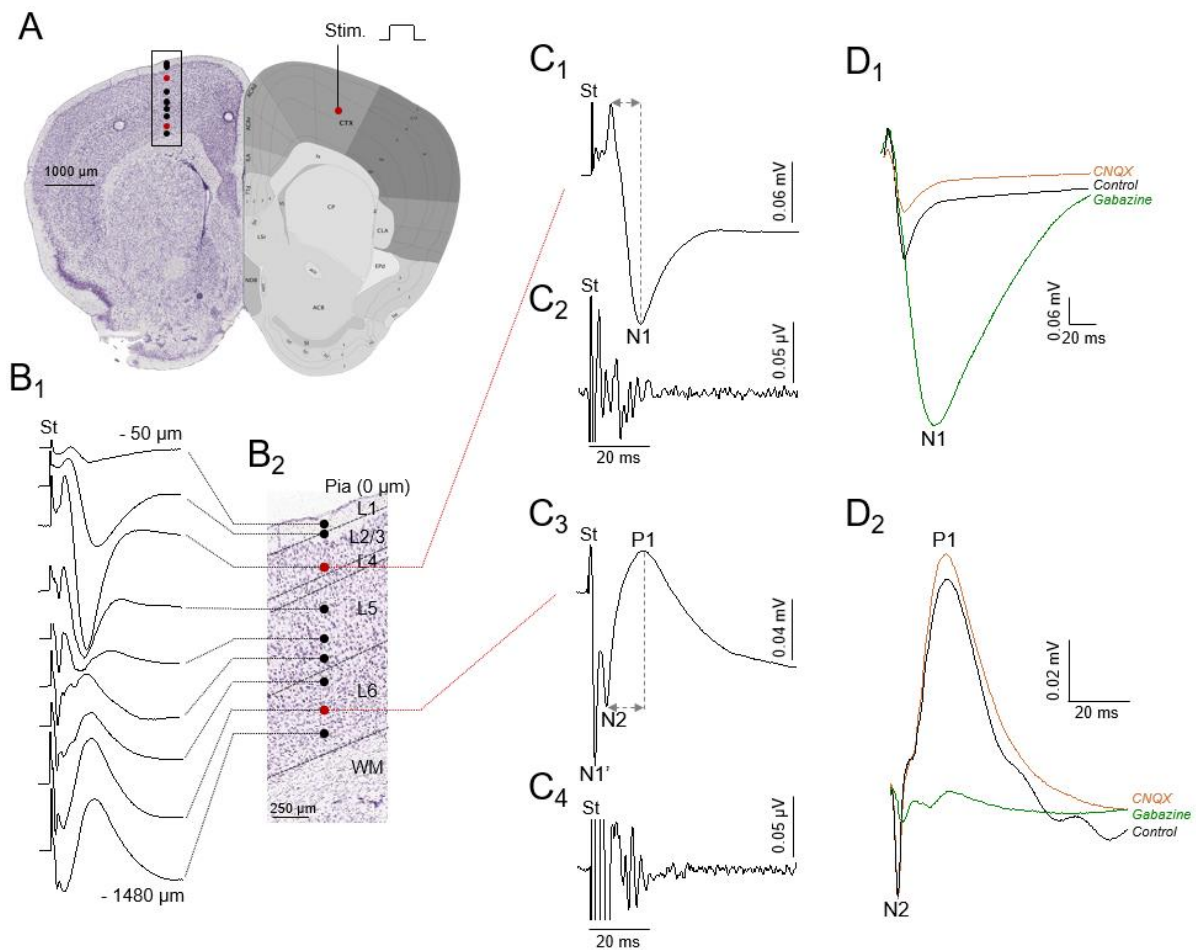


Figure 5. Characteristics of evoked field potentials in M1 following the electrical stimulation of the contralateral M1. (A) Depth profile of evoked potentials (EPs) recorded in the M1 following stimulation of the contralateral M1. (B₁) Illustration of both stimulating and recording electrodes tips positioning (red dots) in the right and left M1 respectively, on a coronal view at 1.6 mm anterior to bregma. Inset shows the area of M1 magnified in B₂. (B₂) Illustration of M1 cortical layers and recording sites. Red dots correspond to the recording sites where EPs maximum amplitude were reached. Nissl view and diagram are adapted from the Allen Mouse Brain Reference Atlas, atlas.brain-map.org. (C₁-C₄) Representative examples of EPs whose maximum amplitude were obtained in the superficial and deep layers of M1 (C₁ and C₃) and corresponding unit activity (C₂ and C₄). Action potential firing appeared at the same latencies as the N1 and N2P1 components. (D₁-D₄) Effect of 3-μM gabazine (green traces) and 20-μM CNQX (orange traces) application at the recording site. Gabazine injection greatly increased N1 amplitude and peak latency (D₁) while the N2P1 complex disappeared (D₃). CNQX application reduced N1 amplitude (D₂) while N2P1 amplitude was slightly increased (D₄). L, Layer. WM, white matter. St, stimulus artefact. N1, negative component of the most superficial EP. N1', N2 and P1, two early negative and late positive components of the deeper EP, respectively. Amplitudes of EPs were measured from peak to peak (see dot lines).

Injection of the kainate/AMPA receptor antagonist, CNQX (20 μ M) resulted in a long-term decrease of N1 amplitude as well as its corresponding firing activity. On the contrary, CNQX appeared to slightly increase N2-P1 amplitude (**Fig. 5D₁ and D₂**, orange traces). A local injection of the NMDA antagonist AP5 decreased N1 amplitude with slight and not significant change in N2-P1 (data not shown).

Finally, for all drugs, no significant effects were seen on N1', except for AP5 which induced a slight increase (data not shown).

Taken together, these pharmacological results suggest that N1 may mainly reflect glutamatergic excitatory activity within the superficial layers of M1, which are under GABAergic inhibitory control. N2-P1 complex, however, could reflect a GABAergic inhibitory activity in the deeper layers of M1. As for N1', giving it short latency, its absence of significant response to drug and stimulation, it may reflect presynaptic activity.

Stimulation intensity-evoked responses in SOD compared to WT mice

A comparison of the stimulus intensity required to evoke responses in both SOD and WT animals, showed no difference between groups ($I = 0.60 \pm 0.05$ mA in both cases, $p = 0.863$). The stimulation intensity was not affected by stress in WT mice ($I_{WT} = 0.60 \pm 0.05$ mA vs $I_{WTstressed} = 0.68 \pm 0.03$ mA, $p = 0.113$). However, the stimulation intensity was higher in SOD stressed mice compared to SOD mice ($I_{SOD} = 0.60 \pm 0.05$ mA vs $I_{SODstressed} = 0.85 \pm 0.06$ mA; $U = 33.0$, $z = -2.919$, $p = 0.003$).

3.2.2- Effects of stress on short- and long-term plasticity

In an attempt to better understand the M1 network functioning, short- and long-term plasticity was investigated by mean of paired-pulse and theta-like burst stimulation (TBS) paradigms. Since our preliminary data showed that significant changes occurred only in N1 and N2-P1, the following experiments focused on these two components only.

Effect of TBS on M1 long-term plasticity in stressed and control groups

Following TBS of M1 we observed in the contralateral M1, a long lasting depression (LTD) of N1 amplitude in WT but not in SOD animals, which on the contrary exhibited a slight but non-significant increase of N1 ~ 40 min after the stimulation ($F_{[1,22]} = 5.91$, $p = 0.024$) (**Fig. 6A₁**).

When stress was administrated, we observed a suppression of TBS-induced LTD in the N1 of WT animals. Specifically, they displayed a post tetanic depression, which came back to

baseline level within a 10 min period ($F_{[1,15]} = 5.68, p = 0.031$) (**Fig. 6B₁**). The SOD stressed mice on the other hand had a similar profile than the SOD control animals ($F_{[1,21]} = 0.219, p = 0.645$) (**Fig. 6C₁**).

Concerning the N2-P1 complex, TBS did not significantly change response amplitude in WT, but it induced a long-lasting depression in SOD groups ($F_{[1,22]} = 5.68, p = 0.026$) (**Fig. 6A₂**).

TBS did not induce significant change in N2-P1 in WT stressed mice. They displayed similar profile than WT control ($F_{[1,16]} = 0.441, p = 0.516$) (**Fig. 6B₂**). On the contrary, in SOD, stress suppressed TBS-induced LTD ($F_{[1,21]} = 5.789, p = 0.025$) (**Fig. 6C₂**).

Effect of Paired-pulse stimulation in stress and control groups

To further characterize the network dynamics, two sequential identical stimuli was delivered in the M1 with a varying inter-stimulus interval (ISI: 50, 150 and 250 ms).

Paired-pulse ratio analysis (PPR) of the N1 component revealed a similar paired-pulse inhibition (PPI) for all ISI in both WT and SOD ($PPR_{50} = 0.64 \pm 0.05$ vs 0.60 ± 0.03 ; $PPR_{150} = 0.56 \pm 0.06$ vs 0.55 ± 0.03 and $PPR_{250} = 0.64 \pm 0.05$ vs 0.57 ± 0.03 ; $p > 0.05$ in each case).

Acute stress did not affect the PPI in WT mice regardless of the ISI ($p > 0.05$). However, in SOD stressed animals, PPI was greatly reduced for the shortest ISI ($PPR_{50} = 0.60 \pm 0.03$ vs $0.96 \pm 0.07, U = 8, z = -3.68, p < 0.0001$) or weaker for the two remaining ISI ($PPR_{150} = 0.55 \pm 0.03$ vs $0.80 \pm 0.06, U = 22, z = -2.87$ and $PPR_{250} = 0.57 \pm 0.03$ vs $0.83 \pm 0.06, U = 17, z = -3.16, p < 0.01$ in both cases) (**Fig. 7A**).

The N2-P1 complex also expressed a PPI in both WT and SOD animals regarding all ISI ($PPR_{50} = 0.86 \pm 0.08$ vs 0.79 ± 0.03 ; $PPR_{150} = 0.87 \pm 0.05$ vs 0.83 ± 0.03 and $PPR_{250} = 0.85 \pm 0.02$ vs $0.81 \pm 0.03, p > 0.05$ in all cases).

Following stress, the PPI was not impacted in WT animals regardless of the ISI ($p > 0.05$), neither in SOD mice for the longest ISI (PPR_{150} and $PPR_{250}, p > 0.05$ in both cases). However, the N2-P1 complex displayed a weaker PPI for the shortest ISI in SOD stressed mice ($PPR_{50} = 0.79 \pm 0.03$ vs $0.95 \pm 0.08, U = 19, z = -2.237, p = 0.025$) (**Fig. 7B**).

Excitatory N1 response recorded from M1 superficial layers exhibited LTD following TBS of the contralateral M1 in WT but not in SOD. In M1 deeper layers, TBS induced LTD of the inhibitory N2-P1 complex in SOD but not WT. Moreover, we showed that acute stress suppressed the TBS-induced LTD of N1 in WT mice, and of N2-P1 in SOD mice. This differential profile for WT and SOD in superficial versus deeper layers suggests strong interaction between the two responses.

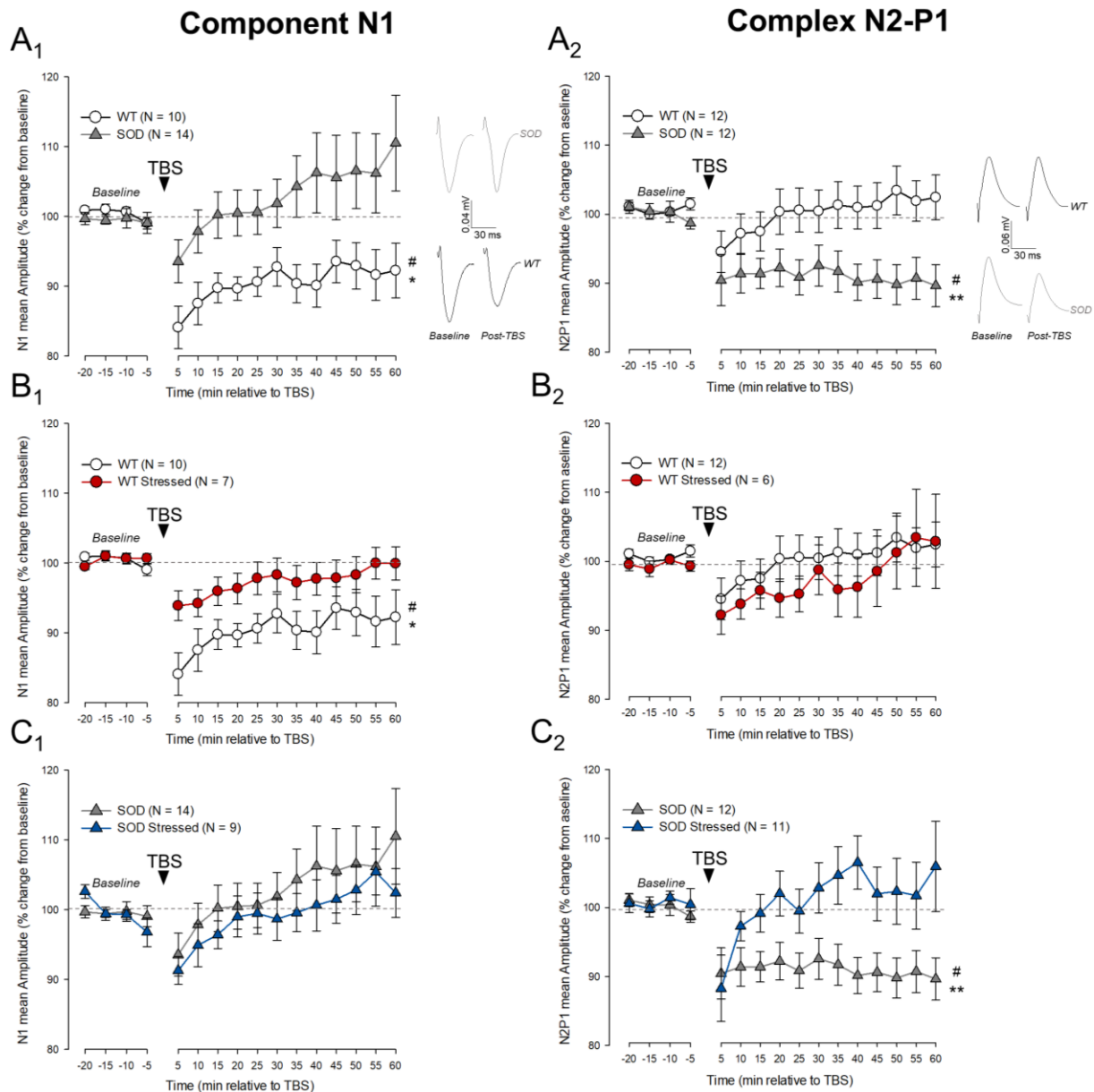


Figure 6. Effect of acute restraint stress on TBS-induced plasticity in M1 of WT and SOD mice. (A1 and A2) Effect of TBS on synaptic plasticity in M1. (A1) The TBS induced a long-term depression (LTD) of the N1 component in WT mice but not in SOD animals. Right, representative traces of the TBS induction effects in WT (black) and SOD (grey). **(A2)** SOD mice but not WT animals presented a LTD of the N2P1 complex following the TBS. Right, representative traces of the TBS induction effects in WT (black) and SOD (grey). **(B1-B4)** Effect of acute restraint stress on TBS-induced plasticity in M1. Acute stress reduced the TBS-induced LTD of N1 in WT mice **(B1)** but not in SOD animals **(B3)**. WT stressed mice presented a similar profile than the WT control animals **(B2)** while acute stress suppressed the TBS-induced LTD of the N2P1 complex of SOD mice **(B4)**. Amplitudes of EPs were measured from peak to peak and are expressed as mean \pm SEM percentages of baseline. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ indicates differences compared to baseline level (100 %); # $p < 0.05$, indicates differences between groups.

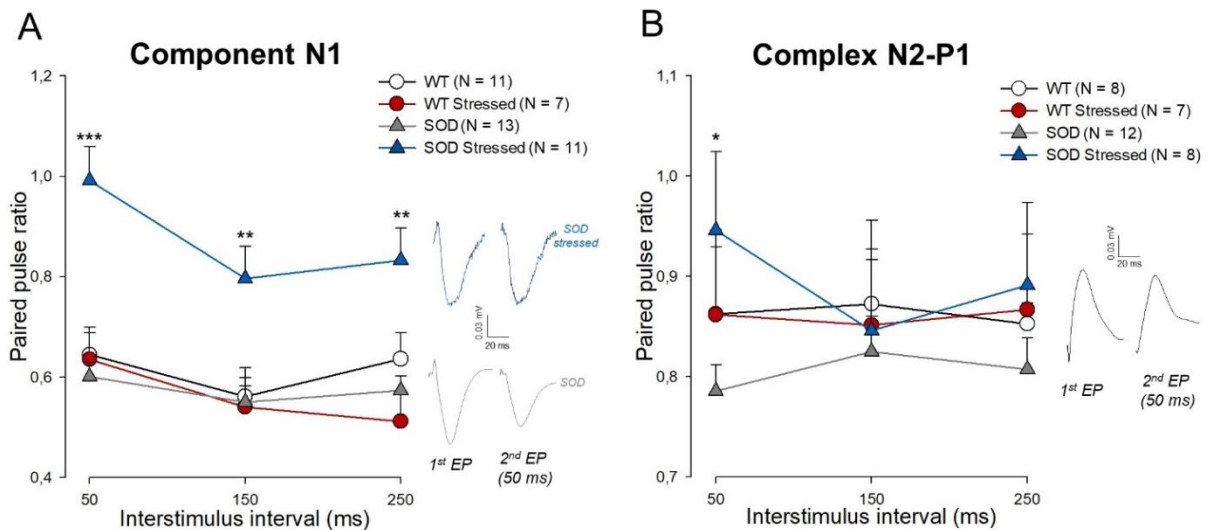


Figure 7. Effect of acute stress on paired-pulses-induced plasticity in M1 of WT and SOD mice. (A) Paired pulses ratios (PPR) of N1 between WT, SOD, WT stressed and SOD stressed animals. N1 presented a PPR < 1 reflecting a paired-pulse inhibition (PPI) in WT and SOD mice for all inter-stimulus interval (ISI). Acute stress did not impact the PPI in WT animals but decreased it for all ISI in SOD mice. Right, representative field potentials evoked by a 50-ms paired-pulses stimulation in SOD (grey) and in SOD stressed mice (blue). (B) PPR of N2-P1 between WT, SOD, WT stressed and SOD stressed animals. N2P1 also presented a PPI in WT and SOD mice for all ISI, which was not altered by acute stress in WT animals. SOD stressed mice expressed a decreased PPI for the 50-ms ISI only. Right, representative field potentials evoked by a 50-ms paired-pulses stimulation. *Paired-pulses ratio = 2nd EP amplitude/1st EP amplitude, calculated for each ISI (50, 150 and 250 ms). Data are expressed as PPR means \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ indicates differences between SOD control mice and SOD stressed animals.*

3.3- Effect of stress on the expression of KCC2 and NKCC1 in the M1 of WT and SOD mice

Chloride co-transporters KCC2 and NKCC1 are main regulators of GABAergic inhibition. Analyses of their expression in M1 showed that SOD and WT expressed similar global expression percentages of both KCC2 and NKCC1 proteins in M1 (WT: 100.00 ± 3.43 % vs. SOD: 92.83 ± 5.00 % for KCC2 and WT: 100.00 ± 3.86 % vs SOD: 98.87 ± 4.20 % for NKCC1, $p > 0.05$, see **Fig. 8B₁ and B₂**).

Acute stress induced an increase of KCC2 expression in WT but not in SOD mice (WT: 100.00 ± 3.43 % vs WT stressed: 125.40 ± 9.21 %, $U = 230.0$, $z = -2.15$, $p = 0.031$ and SOD: 92.83 ± 5.00 % vs. SOD stressed: 100.44 ± 7.80 %, $p > 0.05$). On the contrary, it increased NKCC1 expression in SOD but not in WT (WT: 100 ± 3.86 vs. WT stressed: 112.40 ± 6.42 %, $p > 0.05$ and SOD 98.87 ± 4.23 vs. SOD stressed: 119.66 ± 4.41 %, $U = 521.0$, $z = -3.05$, $p = 0.002$, see **Fig. 8B₁ and B₂**).

Our results showed that global expression of KCC2 and NKCC1 in M1 is similar in WT and SOD animals at a presymptomatic stage. However, acute stress differentially changed the balance of KCC2 and NKCC1 expression depending on the genotype.

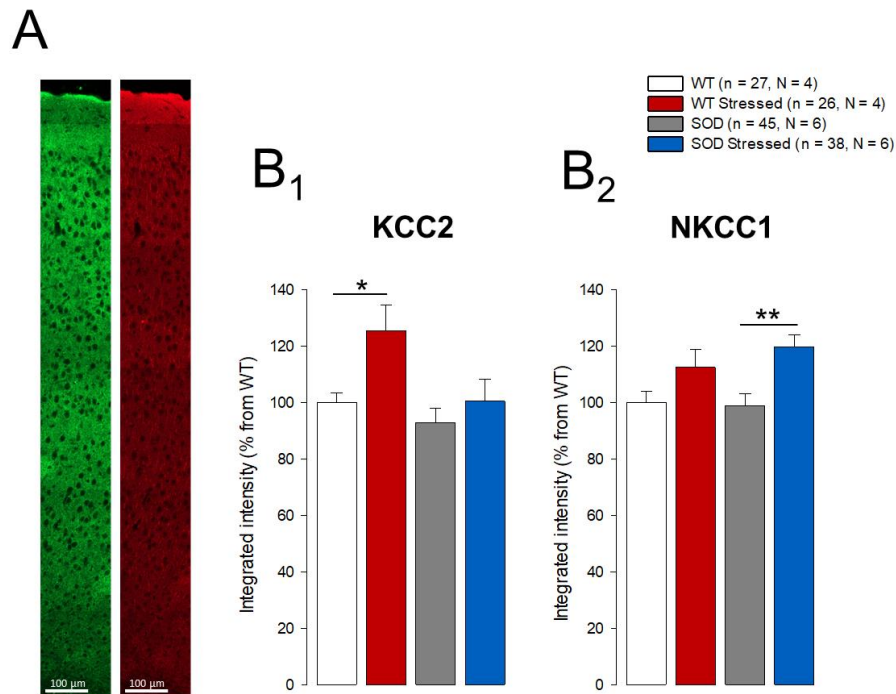


Figure 8. Effect of acute stress on global KCC2 and NKCC1 expression within M1 of WT and SOD animals. (A) Example of immunohistochemical KCC2 (left, green) and NKCC1 (right, red) staining in M1 of WT. Images were obtained with a 20x objective confocal microscope. **(B1-B2)** Quantification of the global KCC2 **(B1)** and NKCC1 **(B2)** staining in the M1 of WT, WT stressed, SOD and SOD stressed animals. **(B1)** WT and SOD animals expressed similar levels of KCC2 protein. Acute restraint stress increased KCC2 expression in WT but not SOD mice. **(B2)** NKCC1 expression was not different between the WT and SOD animals. Acute restraint stress increased NKCC1 expression in SOD but not WT mice. Values are expressed as mean protein expression percentages \pm SEM, normalized to mean values from WT samples. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. *n*, number of stained hemispheres. *N*, number of animals.

3.4- Effects of stress on plasma corticosterone levels

Restraint stress is well known to activate the hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) system by elevating plasma corticosterone levels (Lolait et al., 2007). However, to assess the reliability of the HPA axis in SOD we measured plasma corticosterone level before and after stress.

Our data showed that basal plasma CORT levels were similar between the WT and SOD mice ($N_{WT} = 9$, $N_{SOD} = 13$; $t(19) = -0.262$; $p = 0.796$) (**Fig. 9A**). Following stress, the increase of plasma CORT levels was not significantly different in WT vs. SOD ($N_{WT\ stressed} = 5$, $N_{SOD\ stressed} = 7$; $t(10) = -0.328$; $p = 0.750$, **Fig. 9B**), suggested no impairment of HPA axis.

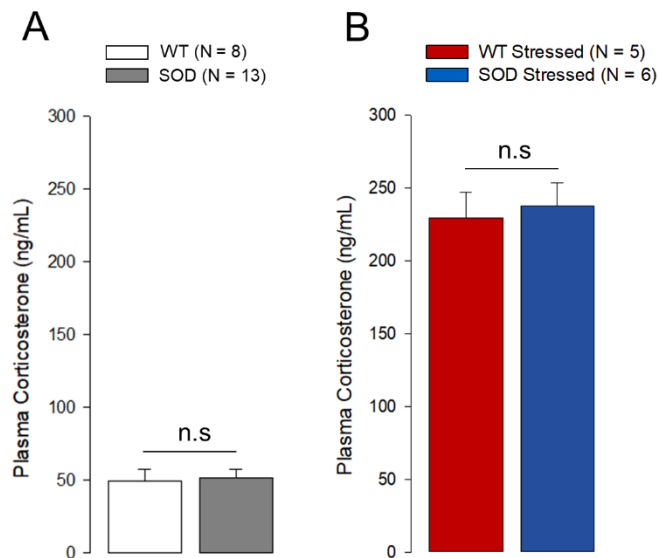


Figure 9. Plasma corticosterone levels in WT and SOD mice. Blood samples were collected before **(A)** and 45 min after a restraint stress **(B)**. **(A)** Basal plasma corticosterone (CORT) levels were similar between the WT (N = 9) and SOD (N = 13) mice. **(B)** Acute restraint stress significantly increased plasma CORT levels in both WT and SOD mice. No difference was found between the stressed WT (N = 5) and stressed SOD (N = 6) animals. *Data are expressed as plasma CORT means (ng/mL) \pm SEM. n.s, non-significant $p > 0.05$.*

4- Discussion

The M1 has recently been the focus of growing attention, since studies have begun to highlight a more prominent role than the mere involvement in the processing of motor information. The motor cortex, and particularly the M1, has been shown to have access to the adrenal medulla, through the corticospinal track (Dum et al., 2016) and to share structural and functional connections with the amygdala, a main structure of the affective circuitry (Loonen and Ivanova, 2018; Makovac et al., 2016; Péron et al., 2016). In addition, glucocorticoid and mineralocorticoid receptors, the main targets of stress hormones, have been detected in M1 (R. Ahima et al., 1991; Ahima et al., 1992; R. S. Ahima and Harlan, 1990; Morimoto et al., 1996). Collectively, these data suggest that the M1 could have a complex scope of functions in the stress circuit, in altering ongoing behavior and in participating to stress load on the body.

In the M1, the maintenance of the network functional stability, relies on a physiological balance between excitatory and inhibitory circuitry (E/I), orchestrated by a heterogeneous population of GABAergic inhibitory INs regulating the activity of excitatory PCs (Donato et al., 2013; He et al., 2019). Stress has been reported to alter INs excitability and E/I balance in cortical regions (Page and Coutellier, 2019). Such changes may have major consequences on M1, with repercussions in ALS disorder, as early symptom is a cortical hyperexcitability, likely resulting from disruption of the E/I balance (Brunet et al., 2020; Gunes et al., 2022).

It is in this context, where the M1 neuronal stability seems to be a cornerstone in both stress and ALS, we sought to expand our knowledge of the impact of an acute restraint stress on the inhibitory activity of GABAergic interneurons in M1, as well as synaptic plasticity in the M1-M1 network. It was supposed that acute stress may cause E/I imbalance in M1 that may

further exacerbate the hyperexcitability seen in ALS. We also investigated whether changes in plasticity and activity were correlated with deregulation of chloride co-transporters KCC2 and NKCC1, which are essential for GABAergic inhibition in the central nervous system.

4.1- GABAergic interneurons in the M1

4.1.1- Cortical GABAergic interneurons subtypes

Analyzing GABAergic interneurons in the M1 of WT and SOD mice at a late presymptomatic stage, we highlighted four clusters of GFP-positive putative GABAergic INs, on the basis of their firing pattern and electrophysiological properties. Due to their wide diversity, cortical INs classification is complex and is still an ongoing work (Gouwens et al., 2020; Tremblay et al., 2016). Three IN main types are thought to constitute almost all INs within the neocortex of rodents (Rudy et al., 2011). Their classification relies on the non-overlapping molecular markers they express, including the calcium-binding protein parvalbumin (PV), the neuropeptide somatostatin (SST) and the ionotropic serotonin receptor 5HT3a (5HT3aR). Among this last group, some INs express as well the vasointestinal peptide (VIP) (Tremblay et al., 2016). While electrophysiology alone is not sufficient to precisely identify cortical INs subtypes within the M1, which was beyond the scope of this study, it allows us to evaluate the impact of stress on INs and M1 cortical circuits.

Among the 4 clusters identified in our study, both first and second clusters presented properties resembling fast spiking-like (FS) neurons, such as a sustained high frequency of firing associated with moderate or inexistent accommodation. These FS were mostly described among PV and SST expressing neurons in mice somatosensory cortices (Helm et al., 2013; Naka et al., 2019; Tremblay et al., 2016). Around 70 % of cluster 3 cells displayed a rebound depolarization following hyperpolarization, leading to spike generation in 40 % of cases (Low-Threshold-Spiking, LTS). This feature, along with their electrophysiological properties have mainly been described in different subgroups of SST INs within the barrel cortex of mice (Ma, 2006; Naka et al., 2019). PCA analysis failed to separate cluster 4 neurons from cluster 1 cells, thus they could be part of the same group of neurons. However, the irregular firing pattern seems to be more representative of VIP INs, as reported by Tremblay et al. (2016).

4.1.2- Cortical interneurons in WT vs. SOD animals

Among the four INs clusters, the probability of recording neurons from cluster 2 increased in SOD mice, while neurons from the 3rd cluster were rarely found. While it may be a coincidence, these findings are consistent with animal studies showing variations in IN

numbers in motor cortices of SOD1^{G93A} mice at a presymptomatic stage. For example, a decrease of calretinin-positive interneurons, a calcium-binding protein specific of some VIP and SST neurons subgroups (Y. H. Chung et al., 2005), and increased numbers of PV cells (Minciacchi et al., 2009). However, Clark et al., (2018) suggested that cortical interneurons present morphological alterations in SOD animals. Moreover, some studies showed that INs morphology and electrophysiological properties can correlate (Bengtsson Gonzales et al., 2020; Buhl et al., 1996; Ding et al., 2021). Together, these data suggest that rather than a gain or loss of INs, early morphological changes could occur in the M1 of SOD mice and lead to increase similarity among INs electrophysiological characteristics. Nevertheless, alterations in INs ratios or INs firing pattern may result in a remodeling of cortical GABAergic interneurons connectivity with functional consequences.

In addition to an increase number of interneurons from cluster 2, we observed as well in SOD, an hyperexcitability of cluster 1 interneurons as revealed by lower rheobase and maximum frequency of firing. Variability in cortical INs excitability was often found in ALS animal models and is thought to play a significant role in GABAergic cortical dysfunction (Brunet et al., 2020). Cortical INs displaying hyper or hypoexcitability seems to be dependent of neurons subtype along with disease stage (J. Kim et al., 2017; Zhang et al., 2016). It is not very clear whether the altered ratio of cluster 2 and 3 populations in SOD mice is a cause or consequence of the observed excitability changes.

While all INs are likely to be involved in different inhibitory circuits, it is admitted that their probability to modulate either pyramidal cells (PCs) or other INs is highly dependent of INs subtype and the state of cortical circuit excitability (Tremblay et al., 2016). Hyperexcitability of cluster 1 INs in SOD mice could either be a compensating mechanism in order to maintain cortical inhibition due to cluster 3 INs loss, or lead to over inhibition of other INs, causing PCs disinhibition.

As inhibitory circuits are particularly efficient in compensating mechanisms (Blizzard et al., 2011; Méndez and Bacci, 2011), these cortical GABAergic INs excitability differences between WT and SOD animals may underlie distinct M1 plasticity changes and may be differentially impacted by stress.

4.1.3- Stress effect on M1 interneurons

The impact of stress on INs has been mainly investigated in limbic structures, where it appears to enhance the activity of SST INs involved in the regulation of the HPA axis

(Arancibia et al., 2001; Jefferson et al., 2020; Joffe et al., 2022; Stengel and Taché, 2017). Moreover, a marked reduction in SST mRNA expression in these interneurons have been found in the prefrontal cortex and amygdala in major depressive disorder (Fee et al., 2017). SST INs have been found to play a significant role in the inhibition of PC but also in disinhibitory circuits through the inhibition of PV INs in neocortex (Tremblay et al., 2016).

Here, we showed that among the 4 clusters, INs from cluster 1 tended to be more excitable after stress induction in WT. Consistent with what was described in SST INs, these cluster 1 neurons activity could participate in the stress response regulation. In addition, they could fulfil the same purpose as SST INs, in modulating PC activity both directly through feedback inhibition and by inhibiting other INs and promoting disinhibition.

In SOD mice, acute restraint stress induced, on the contrary, a decrease in cluster 1 INs excitability, along with simultaneous increase in excitability of the 4th cluster neurons. These changes may suggest an inability to correctly regulate the stress response, as well as a failure in the modulation of PC and disinhibition processes. SOD stressed and WT stressed animals exhibited similar plasticity profile, with however, distinct changes in interneurons excitability. This could be explained by the homeostatic processes that regulate electrical activity in neurons. Homeostatic regulation refers to the ability of a cell to cope with perturbations by generating a compensatory response aim at re-establishing baseline function. In other words, an alteration in excitability does not necessarily coincide with impaired neuronal activity or plasticity. Alterations in intrinsic excitability will be a compensatory mechanism to counterpoise network disturbance and restore previous activity levels (Hengen et al., 2013; Lambo and Turrigiano, 2013). Therefore, under pathological conditions, changes in excitability can be consistent or not with changes in neuronal activity (Busche and Konnerth, 2015; J. Kim et al., 2017). It is therefore important to simultaneously assess intrinsic properties of a neuron together with changes in synaptic strength.

4.2- Synaptic plasticity in M1-M1 network

Synaptic plasticity refers to the ability of synapses to undergo lasting increases or decreases in strength in response to activity patterns. Long-term potentiation (LTP) and depression (LTD) are two forms of long-lasting increase and decrease in synaptic strength, induced by a high or low frequency stimulation protocols. They are thought to be expressed in all excitatory and inhibitory synapses of the mammalian brain, to support the development of functional neuronal network as well as the storage of information in long-term memory. Although these mechanisms allow the body to adapt to changes in its environment, not all of

these adaptations are beneficial. During prolonged stress these mechanisms may become dysregulated, and aberrant synaptic plasticity (lost or excessive synaptic drive) may contribute to pathological behaviors and disorders.

4.2.1- Layer-dependent Evoked Field Potentials

In an attempt to understand the M1 network functioning, two evoked field potentials (EPs) recorded in M1 following stimulation of the contralateral M1 were investigated, whose maximal amplitudes were obtained in the superficial and deep cortical layers. These responses could reflect the activity of two interconnected circuits in M1, the upper closed-loop located in L2/3 involved in signal integration and the lower closed-loop extending from L5 to L6 shaping signal outputs (McColgan et al., 2020). However additional experiments are needed to confirm or not this hypothesis.

The superficial EP was constituted of one negative component N1 representing a neuronal polysynaptic activity. Our pharmacological approach revealed that this late component corresponded to a mixed AMPA and NMDA-receptor-mediated glutamatergic activity, under a strong GABAergic control. N1 could mostly result from M1 pyramidal neurons activity within the superficial layers, as they form strong horizontal connections with each other, along with activity from M1 neurons located in the deeper layers, sending excitatory projections ipsilaterally to the upper layers (Aroniadou and Keller, 1993; McColgan et al., 2020; Thomson, 2003; Troncoso et al., 2007). Contralateral M1 neurons should also participate to both EPs as they send excitatory inputs to the contralateral cortex through the corpus callosum (McColgan et al., 2020; Molyneaux et al., 2007). To this M1 pyramidal neurons activity could be added thalamic inputs influence to the upper layers of the motor cortex (Deschênes et al., 1998; Donoghue and Parham, 1983). Finally, the GABAergic control of the N1 component could be arising from INs mainly within the same layers, possibly PV and SST neurons which are known to form strong intralaminar connections with pyramidal cells (McColgan et al., 2020; Tremblay et al., 2016).

The deep EP was constituted of one negative component N1' along with a mixed negative and positive complex named N2-P1. As the N1' component appeared at a very early latency it may represent a presynaptic activity. According to our pharmacological experiments, the N2-P1 complex could mainly reflect a neuronal GABAergic inhibitory activity arising from INs located within the deeper layers, maybe from PV and SST INs. However, the slight CNQX-induced increase of N2-P1 suggests that, as for the upper layers, this complex is under inhibitory control emerging from INs within the same layers, through excitatory influence. Indeed,

excitatory inputs are sent from PCs onto INs, which perform disynaptic inhibition of their cellular targets (Apicella et al., 2012; McColgan et al., 2020; Tremblay et al., 2016). Excitatory transmission blockade may remove this disynaptic inhibition onto other INs activity underlying N2P1 complex.

In accordance with the work of Teleńczuk et al. (2017) showing that local field potentials in monkey and human neocortex mainly reflect inhibitory neurons activity, N1 component and N2-P1 complex both reflected GABAergic INs activity. However, in contrast to N2-P1 which mainly represents inhibitory activity, N1 represent a global excitatory activity, under GABAergic control. Therefore, changes in N1 will represent changes in GABAergic activity as well. In agreement with our result, Yamada et al. (2007) found in the rat somatosensory cortex a stronger GABAergic tonic activity directed onto L5 PC compared to L2/3, suggesting that PC excitatory activity could be only observed in the upper layers, where GABAergic tonic inhibition may be weaker.

4.2.2- Long-term plasticity in the M1

To induce long-term synaptic plasticity, we used a TBS protocol mostly known to trigger LTP in brain regions such as the hippocampus (Larson and Munkácsy, 2015). However, in our study, the TBS protocol failed to elicit LTP in M1 excitatory component N1, but rather induced a LTD. This could be due to a potentiation of the GABAergic control exerted over the cortical pyramidal activity in order to prevent network overexcitation (Davies et al., 1991; Hess and Donoghue, 1996; Lourenço et al., 2014; Maffei, 2011). Consistent with this hypothesis, Hess and Donoghue (1996) managed to elicit LTP in the motor cortex following TBS stimulation only after application of the GABAA antagonist bicuculline.

In the deeper layers, the N2-P1 complex didn't express long-term synaptic changes following TBS. Only a short depression was observed 5 to 10 min after stimulation, in WT animals. This lack of LTP is in accordance with our pharmacological study suggesting the presence of an inhibitory control over the GABAergic INs in the M1 deeper layers, in order to maintain the E/I ratio. In that case, the early and short decrease in GABAergic synapses efficacy following TBS could result from a disinhibitory mechanism performed by other INs, such as SST or VIP INs, which have been showed to be involved in disinhibition processes (Tremblay et al., 2016).

In SOD mice, TBS did not induce LTD of N1. Animals expressed on the contrary, a slight non-significant amplitude increase, 40 min after the stimulation. In tandem with changes in N1, TBS induced a LTD of the N2-P1 complex. These findings could be related to an alteration of the GABAergic inhibition onto PCs together with an alteration of intra GABAergic inhibitory connection. An abnormal inhibition process performed by INs, may lead to PCs disinhibition and increase excitability. This is consistent with previous reports signaling presymptomatic lack of cortical inhibition in patients and animal models of ALS (Brunet et al., 2020), as well as cortical hyperexcitability in ALS patients and animal models (Brunet et al., 2020). As previously discussed in our *in vitro* findings, the presymptomatic SOD animals displayed hyperexcitability of first cluster INs. Zhang et al. (2016) also reported hyperactivity in INs subtype in TDP-43 mouse model of ALS. Together, these results suggest that hyperactive INs from cluster 1 could induce overinhibition of other INs mediating PC inhibition, leading to a disinhibition of PCs and participating to cortical hyperexcitability.

Upper and lower cortical loops are interconnected, with interlaminar connections mostly composed of PCs projections in M1 (McColgan et al., 2020). Accordingly, the differential profile for WT and SOD in superficial versus deeper layers suggests strong interaction between the two responses. Thus, since INs control PCs activity, alteration of GABAergic component in one loop may modulate neuronal activity and plasticity in the other.

Stress is known to either decrease or increase synaptic plasticity in limbic structures such as the prefrontal cortex, hippocampus or amygdala (Diamond and Rose, 1994; Kavushansky et al., 2009; J. J. Kim et al., 1996; Maroun and Richter-Levin, 2003; Rocher, 2004; Vouimba et al., 2004; L. Xu et al., 1997; Yang et al., 2006). In contrast to results observed in the hippocampus, where stress enhances LTD (Chaouloff et al., 2007; Fan et al., 2019; J. J. Kim et al., 1996; L. Xu et al., 1997; Yang et al., 2006), we show here that acute restraint stress decreased the TBS-induced LTD of N1 in motor cortices of WT. Stress is also known to act on GABAergic metabolism in various ways (Maguire, 2014). For example, acute restraint stress was found to decrease GABA_A receptor $\alpha 1$ subunit expression in the prefrontal cortex of rats (Zheng et al., 2007). This $\alpha 1$ subunit appeared to be involved in GABA_A-mediated tonic inhibitory current in the upper layers of the somatosensory cortex (Yamada et al., 2007). A loss of function of these GABA_A receptor has been related to epileptic activity (Samarut et al., 2018). Along with that, Musazzi et al. (2010) showed an increased glutamate transmission in frontal cortices of rats after acute stress exposure. Together, these data support our *in vitro* and

in vivo findings and suggest that acute stress may partially remove the cortical inhibitory control exerted toward upper layers PCs, leading to a reduced LTD and increasing cortical excitability.

Despite a stress-induced reduction of inhibitory GABAergic influence in M1 upper layers, no significant changes were observed regarding the N2-P1 complex. Its tendency to express a decrease in amplitude can however suggest that acute stress may have induced homeostatic changes that precluded long-lasting changes of this particular component.

Since acute stress seems to act on GABAergic component, it is plausible that preexisting failure of inhibitory control in SOD animals prevented us to detect changes in N1 upper layers response.

The TBS-induced LTD of N2-P1 was however suppressed in SOD stressed mice, which may be due to the differential effect of stress on GABAergic INs in these animals.

It is interesting to note that SOD stressed mice exhibited a profile similar to the WT non-stressed animals regarding this N2-P1 complex. However, despite similar electrophysiological profile, the underlying mechanism may differ in the two conditions. What is considered as a normal physiological state in a non-stressful situation, may not be in a stressful one. With that in mind, it is unlikely that SOD stressed mice return to a “normal” condition following stress, but go through a complex adapting process leading to this specific neuronal excitability state.

4.2.3- Short-term plasticity in M1

Short-term plasticity is thought to play important roles in short-term adaptations, short-term information processing and transient changes in behavioral states. It can be triggered when a presynaptic neuron receives two stimuli in rapid succession; the postsynaptic response can be either larger or smaller than the first (Zucker and Regehr, 2002). This phenomenon is termed paired-pulse facilitation (PPF) and depression/inhibition (PPI), respectively. Short-term plasticity has been proposed to cause transient changes of calcium in the presynaptic terminals, which will impact the probability of vesicular release of neurotransmitter. For short interstimulus intervals ($ISI < 20$ ms), PPI will be usually observed at all synapses, because of transient vesicles depletion. However, for longer ISI (20 – 500 ms), most synapses will exhibit PPF, probably because of an accumulation of calcium in the presynaptic terminals (Citri and Malenka, 2008). Residual calcium from the first pulse will at the time of the second pulse cause more vesicles to be released. Whether a synapse exhibits PPF or PPI depends on the recent history of activation of the synapse. A Synapse that begin with a high release probability tend to depress their response to the second stimulus (Citri et Malenka, 2008; Dobrunz et Stevens, 1997). In contrast, synapses with a low initial release probability normally exhibit an increase

in response to the second pulse. Thus, the same synapse can display either facilitation or depression, depending on its recent history of activation and modulation. It has been suggested that PPF and PPI are essentially presynaptic phenomenon because during paired pulse stimulation, postsynaptic receptor population do not have time to undergo changes. However, postsynaptic mechanisms have been proposed to be also involved (Bouteiller et al., 2010). In the hippocampus, PPI may reflect the inhibition of principal neurons through local interneurons via both GABA_A and GABA_C receptors (Jedlicka et al., 2010; J.-Y. Xu et al., 2009). However, due to its polysynaptic nature, it is difficult to highlight the precise synaptic mechanisms underlying PPI (Jedlicka et al., 2010).

Here, despite using longer ISI usually linked with PPF exhibition, we show that both N1 and N2-P1 exhibited PPI, which may rely on two possible mechanisms. One is a decrease in release probability of excitatory neurotransmitters at synapses with excitatory afferents and the other is an increase in GABA release from INs terminals (Ramoia and Sur, 1996; Szabo et al., 2000; Tuff et al., 1983), stressing PPI as an important process in the maintain of E/I balance. Moreover, within the neocortex, short-term depression tends to be faster at excitatory synapses than inhibitory connections, shifting the E/I balance in favor of inhibition following high frequency firing (Varela et al., 1999). Thus, PPI in M1 may stabilize local circuits by playing an early role in preventing overexcitation of the network. However, no difference was found between SOD and WT mice regarding PPI, suggesting that the lack of cortical inhibition seen in SOD animals may lies in alteration in the maintenance of GABAergic activity onto PCs, rather than in its induction.

Only SOD mice submitted to acute stress presented a reduced or a suppressed PPI in both upper and deep layers components. As previously mentioned, PPI is an important actor of inhibition, suggesting that acute stress disrupts the initiation of GABAergic activity in SOD mice, which may favorize hyperexcitability in the upper layers, while promoting suppression of disinhibition in the deeper layers. As stated just above, PPI has been proposed to reflect principal cells inhibition by local interneurons activity in the hippocampus (Jedlicka et al., 2010; J.-Y. Xu et al., 2009). Here, the reduced PPI seen in SOD stressed mice only may be related to the increase in cluster 4 INs excitability observed in SOD stressed animals specifically, which could be either a cause or a consequence of PPI alteration, acting as compensatory mechanism.

Globally, our electrophysiological data shows that acute restraint stress induces changes in excitability and plasticity of primary motor cortex. In WT mice, stress induction tends to

disinhibit the cortex. As disinhibition processes in M1 are known to play roles in motor-related learning and decision making (Coxon et al., 2014; Kolasinski et al., s. d.; Maruyama et al., 2021), here it may be of importance to ensure a correct motor behavior in response to a stressful situation. Interestingly in SOD mice, stress tends on the contrary to favorize the inhibition of M1. Appropriate behavioral motor strategies establishment may lie on a specific excitability state of M1. Since SOD mice present an already hyperexcitable cortical network, it could explain the need to decrease M1 excitability following stress. However, the GABAergic function could be too altered in these animals to efficiently fulfil this purpose.

4.3- KCC2 and NKCC1 expressions in M1

One factor which play a critical role in the GABAergic inhibitory efficiency is the neuronal chloride homeostasis, which relies on two chloride co-transporters functioning, KCC2 which extrudes Cl⁻ and NKCC1 which intrudes Cl⁻. Study in our laboratory showed in the lumbar spinal MNs at an embryonic stage that the chloride homeostasis was altered in SOD1^{G93A} due to a reduction in KCC2 efficacy (Branchereau et al., 2019). Moreover, it has been shown that psychological stress can influence the activity of KCC2 as well as NKCC1's (Gao et al., 2017; Hewitt et al., 2009; Miller and Maguire, 2014; Sarkar et al., 2011; Tsukahara et al., 2016). Therefore, we measured global amounts of KCC2 and NKCC1 proteins in the M1 using immunohistochemistry in an attempt to find anatomical correlates to our *in vivo* electrophysiological results.

4.3.1- Chloride co-transporters expression between WT and SOD mice

WT and SOD animals expressed similar amounts of KCC2 and NKCC1 in M1. This implies the excitability and subsequent plasticity changes observed in SOD mice do not rely on drastic changes in KCC2 and/or NKCC1 in M1.

Studies evaluating these two cotransporters expression in SOD1^{G93A} mouse focused on the spinal cord, and two of them performed at a late presymptomatic stage showed conflicting results. One did not show any KCC2 expression impairment (Mòdol et al., 2014), while the other revealed a down-regulation of KCC2 in SOD mice (Fuchs et al., 2010). However, the latter study indicated that KCC2 down-regulation occurred in ALS-vulnerable MNs only, compared to ALS-resistant MNs. This suggests that neurons in M1 at a late presymptomatic stage may be ALS-resistant, leading to no change in KCC2 expression. However, another possibility is that KCC2 is not involved in excitability changes in M1.

In accordance with our data, Fuchs et al. (2010) also showed no NKCC1 expression impairment in SOD mice. The role of NKCC1 regarding GABAergic transmission control being mostly, but not solely, described in the immature brain (Liu et al., 2020), it could indicate that it may not be involved in adult M1 network excitability either.

4.3.2- Effect of acute stress on the two chloride co-transporters expression

Acute stress induced an increase in KCC2 expression in WT, with no change in NKCC1. It was surprising since KCC2 decrease was associated with shifting the E/I balance in favor of excitation (V. S. Chen et al., 2017; Lee et al., 2011), and a down-regulation of KCC2 was found following stress (Hewitt et al., 2009; Miller and Maguire, 2014; Sarkar et al., 2011). However, these three studies were conducted on the paraventricular nucleus (PVN), a key regulator of the HPA axis. In this structure, stress-induced down-regulation of KCC2 removed the inhibitory control exerted toward CRH neurons, promoting HPA axis activity and steroids release (Miller and Maguire, 2014; Sarkar et al., 2011). But in M1, KCC2 might have another purpose following stress. Some data shows that KCC2 holds a separate role in dendritic spinogenesis (Fiumelli et al., 2013; Li et al., 2007; Llano et al., 2015). Dendritic spinogenesis has been correlated to motor behaviors improvement during learning (T. Xu et al., 2009) and Nakamura et al. (2019) showed that overexpression of KCC2 enhanced dendritic spine plasticity in the motor cortex during motor learning, and enhanced motor acquisition. Suppression of KCC2 expression has been showed to block LTP and to decrease the efficacy of hippocampal excitatory synapses (Chevy et al., 2015; Gauvain et al., 2011). Finally, acute stress has been related to spinogenesis in structure such as the amygdala (Chakraborty and Chattarji, 2019). Taken together, these data suggest that stress-induced upregulation of KCC2 in motor cortices might in fact act in favor of M1 disinhibition, as part of the adapting process enabling appropriate motor strategies establishment.

In SOD mice, acute stress did not induce an increase in KCC2 but in NKCC1. NKCC1 upregulation in mature structures, associated with KCC2 downregulation, has classically been linked to chloride homeostasis disruption and subsequent synaptic inhibition impairment (Liu et al., 2020). Such changes have been described following stress in the hippocampus and hypothalamus (Gao et al., 2017; Tsukahara et al., 2016). However, here NKCC1 increase is not accompanied by decrease in KCC2 expression, thus it is not clear whether its upregulation may induce inhibitory function deficiency in M1 of SOD stressed mice, or serve another purpose.

Although no significant difference was seen in the amount of NKCC1 and KCC2, between control and SOD animals in normal condition, the impact of acute stress on these cotransporters reveals a probable dysfunction in SOD animals. The increase of NKCC1 may be a countervailing mechanism to rescue KCC2 function in SOD stressed mice. Moreover, here we measured global amounts of both KCC2 and NKCC1, thus we do not know whether they were expressed preferentially by one of the M1 cortical neurons populations. Such neuron type-dependent expression and its subsequent effect on GABA transmission efficiency could compensate for INs excitability changes. More studies are however required to determine the exact nature of these impairments.

4.4- Corticosterone levels

The stress response is known to activate the hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) axis, inducing an elevation of plasma corticosterone (CORT) levels. Our data analyses revealed no difference in basal CORT levels between the WT and SOD mice, which differs from some reports showing higher cortisol and corticosterone levels in ALS patients and in the Wobbler mouse model of ALS, respectively (Gonzalez Deniselle et al., 2016; Patacchioli et al., 2003; Spataro et al., 2015). This discrepancy may lie in the fact that patients and animals were symptomatic, while our results were obtained from presymptomatic mice.

Moreover, following acute stress, increase CORT level was similar in both groups. This suggests that HPA axis reactivity could not be accountable for the physiological changes seen in SOD following stress. However, Patacchioli et al. (2003) reported in ALS patients, an adrenal dysregulation with a loss of circadian rhythm of cortisol levels and an absence of physiological increase of cortisol levels following an unexpected mild stress (color-word Stroop test). Main difference with our data could be explained by the duration of stress exposure (chronic life stress + acute vs. acute only). It will be therefore interesting to know if a chronic or early stress experience could affect HPA axis and have different impact on plasticity in the M1.

Some limitations of this study should be considered when interpreting our findings. First, all experiments were conducted on male mice. As the HPA axis shares a close link with gonadal hormones, a differential impact in female and male could be expected (Heck and Handa, 2019). Some of our preliminary data seem to lead toward such a differential impact of stress on the M1 plasticity in female mice. Second, the technical tools that we used did not

allow us to clearly identify the nature of INs populations. Additional morphological and molecular experiments associated with electrophysiological investigation will be necessary. As a consequence, INs putative subgroups and their roles in M1 circuits remain speculative. However, as a whole our data highlight the impact of stress on INs excitability, as well as its global repercussion on M1 network. Third, we measured global amounts of KCC2 and NKCC1 with antibodies recognizing both active and inactive forms of these two co-transporters. Thus, our conclusions remain theoretical and precise role of KCC2 and NKCC1 in M1 following stress remains to be determined. Finally, no direct causality link was made between *in vitro*, *in vivo* and immunochemistry experiments, which limits our understanding of the data. However, as an exploratory study, these data revealed the importance to address the impact of stress on the primary motor cortex and the resulting aftermaths. Aberrant plasticity and neuronal activity on primary motor cortex following stress could be relevant not only for motor neuron disease, as it may constitute a prominent factor of disease progression. Indeed, the impact of stress may also be pertinent for non-motor function, as the primary motor cortex has anatomical and functional interaction with various brain structures involved in mood, learning as well as stress load on the body.

5- Conclusion

As a whole, our data highlighted an impact of acute stress on INs excitability and network plasticity in M1. Stress reduced inhibition in WT animal and led to increased excitability in M1, probably through disinhibition mechanism. The inhibitory processes in the M1 of ALS mouse model, was differently impacted by stress. Contrary to what we expected, it tended to promote inhibition in SOD animals, possibly by reducing disinhibition processes. This could be explained by a compensatory mechanism to re-establish balance following stress, but does not imply an effective adaptation for the functioning of the motor cortical networks. These excitability changes were associated with minor chloride co-transporters KCC2 and NKCC1 deregulation, however their precise role in the inhibition process remain to be determined.

Due to the interactions of the M1 with the main structures of the emotional circuit, the motor cortex should have a more important role in modulating aversive information, and will need to be further investigated. Stress-induced motor cortex changes, in activity and plasticity in M1, may be of importance when evaluating ALS outcomes. Long-lasting effects of other stress paradigms could be particularly interesting to determine, as the maintenance of such excitability changes within an already altered M1 network may have deleterious consequences

on ALS progression. Manipulation of synaptic strength may have important clinical applications, as it provides a means of normalizing synaptic strength and thereby ameliorating plasticity-related disorders of the central nervous system.

Acknowledgements

We thank Nathalie Argenta for her outstanding technical support and animal breeding management.

6- References

- Ahima, R., Krozowski, Z., & Harlan, R. E. (1991). Type I corticosteroid receptor-like immunoreactivity in the rat CNS : Distribution and regulation by corticosteroids. *The Journal of Comparative Neurology*, 313(3), 522-538. <https://doi.org/10.1002/cne.903130312>
- Ahima, R. S., & Harlan, R. E. (1990). Charting of Type II glucocorticoid receptor-like immunoreactivity in the rat central nervous system. *Neuroscience*, 39(3), 579-604. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(90\)90244-X](https://doi.org/10.1016/0306-4522(90)90244-X)
- Ahima, R. S., Tagoe, C. N. B., & Harlan, R. E. (1992). Type II Corticosteroid Receptor-Like Immunoreactivity in the Rat Cerebellar Cortex : Differential Regulation by Corticosterone. *Neuroendocrinology*, 55(6), 683-694. <https://doi.org/10.1159/000126188>
- Apicella, A. J., Wickersham, I. R., Seung, H. S., & Shepherd, G. M. G. (2012). Laminarly Orthogonal Excitation of Fast-Spiking and Low-Threshold-Spiking Interneurons in Mouse Motor Cortex. *Journal of Neuroscience*, 32(20), 7021-7033. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0011-12.2012>
- Arancibia, S., Payet, O., Givalois, L., & Tapia-Arancibia, L. (2001). Acute stress and dexamethasone rapidly increase hippocampal somatostatin synthesis and release from the dentate gyrus hilus. *Hippocampus*, 11(4), 469-477. <https://doi.org/10.1002/hipo.1061>
- Aroniadou, V. A., & Keller, A. (1993). The patterns and synaptic properties of horizontal intracortical connections in the rat motor cortex. *Journal of Neurophysiology*, 70(4), 1553-1569. <https://doi.org/10.1152/jn.1993.70.4.1553>
- Bengtsson Gonzales, C., Hunt, S., Munoz-Manchado, A. B., McBain, C. J., & Hjerling-Leffler, J. (2020). Intrinsic electrophysiological properties predict variability in morphology and connectivity among striatal Parvalbumin-expressing Pthlh-cells. *Scientific Reports*, 10(1), 15680. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72588-1>
- Bhattacharjee, S., Kashyap, R., Abualait, T., Annabel Chen, S.-H., Yoo, W.-K., & Bashir, S. (2021). The Role of Primary Motor Cortex : More Than Movement Execution. *Journal of Motor Behavior*, 53(2), 258-274. <https://doi.org/10.1080/00222895.2020.1738992>
- Blizzard, C. A., Chuckowree, J. A., King, A. E., Hosie, K. A., McCormack, G. H., Chapman, J. A., Vickers, J. C., & Dickson, T. C. (2011). Focal Damage to the Adult Rat Neocortex Induces Wound Healing Accompanied by Axonal Sprouting and Dendritic Structural Plasticity. *Cerebral Cortex*, 21(2), 281-291. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhq091>
- Bos, M. A. J. V. den, Higashihara, M., Geevasinga, N., Menon, P., Kiernan, M. C., & Vucic, S. (2018). Imbalance of cortical facilitatory and inhibitory circuits underlies hyperexcitability in ALS. *Neurology*, 91(18), e1669-e1676. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006438>
- Bouteiller, J.-M. C., Allam, S. L., Greget, R., Ambert, N., Hu, E. Y., Bischoff, S., Baudry, M., & Berger, T. W. (2010). Paired-pulse stimulation at glutamatergic synapses—Pre- and postsynaptic components. 2010 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology, 787-790. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2010.5626491>
- Branchereau, P., Martin, E., Allain, A.-E., Cazenave, W., Supiot, L., Hodeib, F., Laupénie, A., Dalvi, U., Zhu, H., & Cattaert, D. (2019). Relaxation of synaptic inhibitory events as a compensatory mechanism in fetal SOD spinal motor networks. *ELife*, 8, e51402. <https://doi.org/10.7554/eLife.51402>
- Broqua, P., Baudrie, V., Laude, D., & Chaouloff, F. (1992). Influence of the novel antidepressant tianeptine on neurochemical, neuroendocrinological, and behavioral effects of stress in rats. *Biological Psychiatry*, 31(4), 391-400. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(92\)90232-O](https://doi.org/10.1016/0006-3223(92)90232-O)
- Brunet, A., Stuart-Lopez, G., Burg, T., Seckic-Zahirovic, J., & Rouaux, C. (2020). Cortical Circuit Dysfunction as a Potential Driver of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 363. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00363>

- Buhl, E. H., Szilágyi, T., Halasy, K., & Somogyi, P. (1996). Physiological properties of anatomically identified basket and bistratified cells in the CA1 area of the rat hippocampus in vitro. *Hippocampus*, 6(3), 294-305. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1996\)6:3<294::AID-HIPO7>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1996)6:3<294::AID-HIPO7>3.0.CO;2-N)
- Busche, M. A., & Konnerth, A. (2015). Neuronal hyperactivity—A key defect in Alzheimer’s disease? : Neuronal hyperactivity. *BioEssays*, 37(6), 624-632. <https://doi.org/10.1002/bies.201500004>
- Chakraborty, P., & Chattarji, S. (2019). Interventions after acute stress prevent its delayed effects on the amygdala. *Neurobiology of Stress*, 10, 100168. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100168>
- Chaouloff, F., Hemar, A., & Manzoni, O. (2007). Acute Stress Facilitates Hippocampal CA1 Metabotropic Glutamate Receptor-Dependent Long-Term Depression. *Journal of Neuroscience*, 27(27), 7130-7135. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1150-07.2007>
- Chen, R., Lozano, A. M., & Ashby, P. (1999). Mechanism of the silent period following transcranial magnetic stimulation. *Experimental Brain Research*, 128(4), 539-542. <https://doi.org/10.1007/s002210050878>
- Chen, V. S., Morrison, J. P., Southwell, M. F., Foley, J. F., Bolon, B., & Elmore, S. A. (2017). Histology Atlas of the Developing Prenatal and Postnatal Mouse Central Nervous System, with Emphasis on Prenatal Days E7.5 to E18.5. *Toxicologic Pathology*, 45(6), 705-744. <https://doi.org/10.1177/0192623317728134>
- Chevy, Q., Heubl, M., Goutierre, M., Backer, S., Moutkine, I., Eugene, E., Bloch-Gallego, E., Levi, S., & Poncer, J. C. (2015). KCC2 Gates Activity-Driven AMPA Receptor Traffic through Cofilin Phosphorylation. *Journal of Neuroscience*, 35(48), 15772-15786. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1735-15.2015>
- Chung, S. W., Hill, A. T., Rogasch, N. C., Hoy, K. E., & Fitzgerald, P. B. (2016). Use of theta-burst stimulation in changing excitability of motor cortex : A systematic review and meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 63, 43-64. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.01.008>
- Chung, Y. H., Joo, K. M., Nam, R. H., Cho, M. H., Kim, D. J., Lee, W. B., & Cha, C. I. (2005). Decreased expression of calretinin in the cerebral cortex and hippocampus of SOD1G93A transgenic mice. *Brain Research*, 1035(1), 105-109. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.12.022>
- Citri, A., & Malenka, R. C. (2008). Synaptic Plasticity : Multiple Forms, Functions, and Mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 18-41. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301559>
- Clark, R. M., Brizuela, M., Blizzard, C. A., & Dickson, T. C. (2018). Reduced Excitability and Increased Neurite Complexity of Cortical Interneurons in a Familial Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12, 328. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00328>
- Côme, E., Marques, X., Poncer, J. C., & Lévi, S. (2020). KCC2 membrane diffusion tunes neuronal chloride homeostasis. *Neuropharmacology*, 169, 107571. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.03.014>
- Concerto, C., Patel, D., Infortuna, C., Chusid, E., Muscatello, M. R., Bruno, A., Zoccali, R., Aguglia, E., & Battaglia, F. (2017). Academic stress disrupts cortical plasticity in graduate students. *Stress*, 20(2), 212-216. <https://doi.org/10.1080/10253890.2017.1301424>
- Coxon, J. P., Peat, N. M., & Byblow, W. D. (2014). Primary motor cortex disinhibition during motor skill learning. *Journal of Neurophysiology*, 112(1), 156-164. <https://doi.org/10.1152/jn.00893.2013>
- Davies, C. H., Starkey, S. J., Pozza, M. F., & Collingridge, G. L. (1991). GABA autoreceptors regulate the induction of LTP. *Nature*, 349(6310), 609-611. <https://doi.org/10.1038/349609a0>
- Deschênes, M., Veinante, P., & Zhang, Z.-W. (1998). The organization of corticothalamic projections : Reciprocity versus parity. *Brain Research Reviews*, 28(3), 286-308. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(98\)00017-4](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(98)00017-4)
- Diamond, D. M., & Rose, G. M. (1994). Stress impairs LTP and hippocampal-dependent memory. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 746, 411-414. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1994.tb39271.x>
- Ding, C., Emmenegger, V., Schaffrath, K., & Feldmeyer, D. (2021). Layer-Specific Inhibitory Microcircuits of Layer 6 Interneurons in Rat Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex*, 31(1), 32-47. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhaa201>
- Dobrunz, L. E., & Stevens, C. F. (1997). Heterogeneity of Release Probability, Facilitation, and Depletion at Central Synapses. *Neuron*, 18(6), 995-1008. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80338-4](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80338-4)
- Donato, F., Rompani, S. B., & Caroni, P. (2013). Parvalbumin-expressing basket-cell network plasticity induced by experience regulates adult learning. *Nature*, 504(7479), 272-276. <https://doi.org/10.1038/nature12866>
- Donoghue, J. P., & Parham, C. (1983). Afferent connections of the lateral agranular field of the rat motor cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, 217(4), 390-404. <https://doi.org/10.1002/cne.902170404>
- Dum, R. P., Levinthal, D. J., & Strick, P. L. (2016). Motor, cognitive, and affective areas of the cerebral cortex influence the adrenal medulla. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(35), 9922-9927. <https://doi.org/10.1073/pnas.1605044113>
- Dum, R. P., Levinthal, D. J., & Strick, P. L. (2019). The mind–body problem : Circuits that link the cerebral cortex to the adrenal medulla. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(52), 26321-26328. <https://doi.org/10.1073/pnas.1902297116>
- Fan, K.-M., Qiu, L.-J., Ma, N., Du, Y.-N., Qian, Z.-Q., Wei, C.-L., Han, J., Ren, W., Shi, M.-M., & Liu, Z.-Q. (2019). Acute Stress Facilitates LTD Induction at Glutamatergic Synapses in the Hippocampal CA1 Region by Activating μ -Opioid Receptors on GABAergic Neurons. *Frontiers in Neuroscience*, 13. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2019.00071>

- Fee, C., Banasr, M., & Sibille, E. (2017). Somatostatin-Positive Gamma-Aminobutyric Acid Interneuron Deficits in Depression : Cortical Microcircuit and Therapeutic Perspectives. *Biological Psychiatry*, 82(8), 549-559. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.05.024>
- Fiumelli, H., Briner, A., Puskarjov, M., Blaesse, P., Belem, B. J., Dayer, A. G., Kaila, K., Martin, J.-L., & Vutskits, L. (2013). An Ion Transport-Independent Role for the Cation-Chloride Cotransporter KCC2 in Dendritic Spinogenesis In Vivo. *Cerebral Cortex*, 23(2), 378-388. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs027>
- Fuchs, A., Ringer, C., Bilkei-Gorzo, A., Weihe, E., Roeper, J., & Schütz, B. (2010). Downregulation of the Potassium Chloride Cotransporter KCC2 in Vulnerable Motoneurons in the SOD1-G93A Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 69(10), 1057-1070. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181f4dcef>
- Fujiki, M., Kawasaki, Y., & Fudaba, H. (2020). Continuous Theta-Burst Stimulation Intensity Dependently Facilitates Motor-Evoked Potentials Following Focal Electrical Stimulation of the Rat Motor Cortex. *Frontiers in Neural Circuits*, 14, 585624. <https://doi.org/10.3389/fncir.2020.585624>
- Gao, Y., Zhou, J.-J., Zhu, Y., Kosten, T., & Li, D.-P. (2017). Chronic Unpredictable Mild Stress Induces Loss of GABA Inhibition in Corticotrophin-Releasing Hormone-Expressing Neurons through NKCC1 Upregulation. *Neuroendocrinology*, 104(2), 194-208. <https://doi.org/10.1159/000446114>
- Gauvain, G., Chamma, I., Chevy, Q., Cabezas, C., Irinopoulou, T., Bodrug, N., Carnaud, M., Lévi, S., & Poncer, J. C. (2011). The neuronal K-Cl cotransporter KCC2 influences postsynaptic AMPA receptor content and lateral diffusion in dendritic spines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(37), 15474-15479. <https://doi.org/10.1073/pnas.1107893108>
- Gonzalez Deniselle, M. C., Liere, P., Pianos, A., Meyer, M., Aprahamian, F., Cambourg, A., Di Giorgio, N. P., Schumacher, M., De Nicola, A. F., & Guennoun, R. (2016). Steroid Profiling in Male Wobbler Mouse, a Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Endocrinology*, 157(11), 4446-4460. <https://doi.org/10.1210/en.2016-1244>
- Gouwens, N. W., Sorensen, S. A., Baftizadeh, F., Budzillo, A., Lee, B. R., Jarsky, T., Alfiler, L., Baker, K., Barkan, E., Berry, K., Bertagnolli, D., Bickley, K., Bomben, J., Braun, T., Brouner, K., Casper, T., Crichton, K., Daigle, T. L., Dalley, R., ... Zeng, H. (2020). Integrated Morphoelectric and Transcriptomic Classification of Cortical GABAergic Cells. *Cell*, 183(4), 935-953.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.057>
- Grèzes, J., Valabrègue, R., Gholipour, B., & Chevallier, C. (2014). A direct amygdala-motor pathway for emotional displays to influence action : A diffusion tensor imaging study. *Human Brain Mapping*, 35(12), 5974-5983. <https://doi.org/10.1002/hbm.22598>
- Gunes, Z. I., Kan, V. W. Y., Jiang, S., Logunov, E., Ye, X., & Liebscher, S. (2022). Cortical Hyperexcitability in the Driver's Seat in ALS. *Clinical and Translational Neuroscience*, 6(1), 5. <https://doi.org/10.3390/ctn6010005>
- Gurney, M. E., Pu, H., Chiu, A. Y., Dal Canto, M. C., Polchow, C. Y., Alexander, D. D., Caliendo, J., Hentati, A., Kwon, Y. W., & Deng, H. X. (1994). Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu,Zn superoxide dismutase mutation. *Science (New York, N.Y.)*, 264(5166), 1772-1775. <https://doi.org/10.1126/science.8209258>
- He, J. L., Fuelscher, I., Coxon, J., Chowdhury, N., Teo, W.-P., Barhoun, P., Enticott, P., & Hyde, C. (2019). Individual differences in intracortical inhibition predict motor-inhibitory performance. *Experimental Brain Research*, 237(10), 2715-2727. <https://doi.org/10.1007/s00221-019-05622-y>
- Heck, A. L., & Handa, R. J. (2019). Sex differences in the hypothalamic–pituitary–adrenal axis' response to stress : An important role for gonadal hormones. *Neuropsychopharmacology*, 44(1), 45-58. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0167-9>
- Helm, J., Akgul, G., & Wollmuth, L. P. (2013). Subgroups of parvalbumin-expressing interneurons in layers 2/3 of the visual cortex. *Journal of Neurophysiology*, 109(6), 1600-1613. <https://doi.org/10.1152/jn.00782.2012>
- Hengen, K. B., Lambo, M. E., Van Hooser, S. D., Katz, D. B., & Turrigiano, G. G. (2013). Firing Rate Homeostasis in Visual Cortex of Freely Behaving Rodents. *Neuron*, 80(2), 335-342. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.08.038>
- Hess, G., & Donoghue, J. P. (1996). Long-term Depression of Horizontal Connections in Rat Motor Cortex. *European Journal of Neuroscience*, 8(4), 658-665. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1996.tb01251.x>
- Hewitt, S. A., Wamsteeker, J. I., Kurz, E. U., & Bains, J. S. (2009). Altered chloride homeostasis removes synaptic inhibitory constraint of the stress axis. *Nature Neuroscience*, 12(4), 438-443. <https://doi.org/10.1038/nn.2274>
- Jadavji, N. M., & Metz, G. A. (2008). Sex differences in skilled movement in response to restraint stress and recovery from stress. *Behavioural Brain Research*, 195(2), 251-259. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.09.011>
- Jedlicka, P., Deller, T., & Schwarzacher, S. W. (2010). Computational modeling of GABAA receptor-mediated paired-pulse inhibition in the dentate gyrus. *Journal of Computational Neuroscience*, 29(3), 509-519. <https://doi.org/10.1007/s10827-010-0214-y>
- Jefferson, S. J., Feng, M., Chon, Ur., Guo, Y., Kim, Y., & Luscher, B. (2020). Disinhibition of somatostatin interneurons confers resilience to stress in male but not female mice. *Neurobiology of Stress*, 13, 100238. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2020.100238>
- Joffe, M. E., Maksymetz, J., Lusching, J. R., Dogra, S., Ferranti, A. S., Luessen, D. J., Gallinger, I. M., Xiang, Z., Branthwaite, H., Melugin, P. R., Williford, K. M., Centanni, S. W., Shields, B. C., Lindsley, C. W., Calipari, E. S., Siciliano, C. A., Niswender, C. M., Tadross, M. R., Winder, D. G., & Conn, P. J. (2022). Acute restraint

- stress redirects prefrontal cortex circuit function through mGlu5 receptor plasticity on somatostatin-expressing interneurons. *Neuron*, 110(6), 1068-1083.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.12.027>
- Kavushansky, A., Ben-Shachar, D., Richter-Levin, G., & Klein, E. (2009). Physical stress differs from psychosocial stress in the pattern and time-course of behavioral responses, serum corticosterone and expression of plasticity-related genes in the rat. *Stress*, 12(5), 412-425. <https://doi.org/10.1080/10253890802556081>
- Kim, J., Hughes, E. G., Shetty, A. S., Arlotta, P., Goff, L. A., Bergles, D. E., & Brown, S. P. (2017). Changes in the Excitability of Neocortical Neurons in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis Are Not Specific to Corticospinal Neurons and Are Modulated by Advancing Disease. *The Journal of Neuroscience*, 37(37), 9037-9053. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0811-17.2017>
- Kim, J. J., Foy, M. R., & Thompson, R. F. (1996). Behavioral stress modifies hippocampal plasticity through N-methyl-D-aspartate receptor activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(10), 4750-4753. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.10.4750>
- Kita, H., & Kitai, S. T. (1990). Amygdaloid projections to the frontal cortex and the striatum in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 298(1), 40-49. <https://doi.org/10.1002/cne.902980104>
- Kolasinski, J., Hinson, E. L., Zand, D., Rizov, A., & Emir, U. E. (s. d.). The dynamics of cortical GABA in human motor learning. 14.
- Lambo, M. E., & Turrigiano, G. G. (2013). Synaptic and Intrinsic Homeostatic Mechanisms Cooperate to Increase L2/3 Pyramidal Neuron Excitability during a Late Phase of Critical Period Plasticity. *Journal of Neuroscience*, 33(20), 8810-8819. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4502-12.2013>
- Larson, J., & Munkácsy, E. (2015). Theta-burst LTP. *Brain Research*, 1621, 38-50. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.10.034>
- LeDoux, J. (2003). The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 23(4-5), 727-738. <https://doi.org/10.1023/a:1025048802629>
- LeDoux, J. E. (1994). Emotion, memory and the brain. *Scientific American*, 270(6), 50-57. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0694-50>
- LeDoux, J. E., Cicchetti, P., Xagoraris, A., & Romanski, L. M. (1990). The lateral amygdaloid nucleus : Sensory interface of the amygdala in fear conditioning. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 10(4), 1062-1069.
- Lee, H. H. C., Deeb, T. Z., Walker, J. A., Davies, P. A., & Moss, S. J. (2011). NMDA receptor activity downregulates KCC2 resulting in depolarizing GABAA receptor-mediated currents. *Nature Neuroscience*, 14(6), 736-743. <https://doi.org/10.1038/nn.2806>
- Levshina, I. P., Mats, V. N., Pasikova, N. V., & Shuikin, N. N. (2009). Comparison of the Behavior of Rats after Immobilization with Structural Changes in the Motor Cortex. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 39(9), 915-919. <https://doi.org/10.1007/s11055-009-9202-y>
- Li, H., Khirug, S., Cai, C., Ludwig, A., Blaesse, P., Kolikova, J., Afzalov, R., Coleman, S. K., Lauri, S., Airaksinen, M. S., Keinänen, K., Khiroug, L., Saarna, M., Kaila, K., & Rivera, C. (2007). KCC2 Interacts with the Dendritic Cytoskeleton to Promote Spine Development. *Neuron*, 56(6), 1019-1033. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.10.039>
- Liu, R., Wang, J., Liang, S., Zhang, G., & Yang, X. (2020). Role of NKCC1 and KCC2 in Epilepsy : From Expression to Function. *Frontiers in Neurology*, 10, 1407. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01407>
- Llano, O., Smirnov, S., Soni, S., Golubtsov, A., Guillemin, I., Hotulainen, P., Medina, I., Nothwang, H. G., Rivera, C., & Ludwig, A. (2015). KCC2 regulates actin dynamics in dendritic spines via interaction with β -PIX. *The Journal of Cell Biology*, 209(5), 671-686. <https://doi.org/10.1083/jcb.201411008>
- Lolait, S. J., Stewart, L. Q., Jessop, D. S., Young, W. S., & O'Carroll, A.-M. (2007). The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Response to Stress in Mice Lacking Functional Vasopressin V1b Receptors. *Endocrinology*, 148(2), 849-856. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1309>
- Loonen, A. J., & Ivanova, S. A. (2018). The evolutionary old forebrain as site of action to develop new psychotropic drugs. *Journal of Psychopharmacology*, 32(12), 1277-1285. <https://doi.org/10.1177/0269881118798617>
- Lourenço, J., Pacioni, S., Rebola, N., van Woerden, G. M., Marinelli, S., DiGregorio, D., & Bacci, A. (2014). Non-associative Potentiation of Perisomatic Inhibition Alters the Temporal Coding of Neocortical Layer 5 Pyramidal Neurons. *PLoS Biology*, 12(7), e1001903. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001903>
- Ma, Y. (2006). Distinct Subtypes of Somatostatin-Containing Neocortical Interneurons Revealed in Transgenic Mice. *Journal of Neuroscience*, 26(19), 5069-5082. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0661-06.2006>
- Maekawa, S., Al-Sarraj, S., Kibble, M., Landau, S., Parnavelas, J., Cotter, D., Everall, I., & Leigh, P. N. (2004). Cortical selective vulnerability in motor neuron disease : A morphometric study. *Brain*, 127(6), 1237-1251. <https://doi.org/10.1093/brain/awh132>
- Maffei, A. (2011). The Many Forms and Functions of Long Term Plasticity at GABAergic Synapses. *Neural Plasticity*, 2011, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2011/254724>
- Maguire, J. (2014). Stress-induced plasticity of GABAergic inhibition. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00157>

- Makovac, E., Meeten, F., Watson, D. R., Herman, A., Garfinkel, S. N., D. Critchley, H., & Ottaviani, C. (2016). Alterations in Amygdala-Prefrontal Functional Connectivity Account for Excessive Worry and Autonomic Dysregulation in Generalized Anxiety Disorder. *Biological Psychiatry*, 80(10), 786-795. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.10.013>
- Marker, R. J., Stephenson, J. L., Kluger, B. M., Curran-Everett, D., & Maluf, K. S. (2014). Modulation of intracortical inhibition in response to acute psychosocial stress is impaired among individuals with chronic neck pain. *Journal of Psychosomatic Research*, 76(3), 249-256. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2013.12.001>
- Marlier, L. N., Csikós, T., Rebaudengo, N., Borboni, P., Patacchioli, F. R., Angelucci, L., Privat, A., & Lauro, R. (1995). Distribution of glucocorticoid receptor mRNA in the rat spinal cord. *Neuroreport*, 6(16), 2245-2249. <https://doi.org/10.1097/00001756-199511000-00034>
- Maroun, M., & Richter-Levin, G. (2003). Exposure to Acute Stress Blocks the Induction of Long-Term Potentiation of the Amygdala–Prefrontal Cortex Pathway In Vivo. *The Journal of Neuroscience*, 23(11), 4406-4409. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-11-04406.2003>
- Maruyama, S., Fukunaga, M., Sugawara, S. K., Hamano, Y. H., Yamamoto, T., & Sadato, N. (2021). Cognitive control affects motor learning through local variations in GABA within the primary motor cortex. *Scientific Reports*, 11(1), 18566. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97974-1>
- Matisz, C. E., Badenhorst, C. A., & Gruber, A. J. (2021). Chronic unpredictable stress shifts rat behavior from exploration to exploitation. *Stress*, 24(5), 635-644. <https://doi.org/10.1080/10253890.2021.1947235>
- McColgan, P., Joubert, J., Tabrizi, S. J., & Rees, G. (2020). The human motor cortex microcircuit : Insights for neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 21(8), 401-415. <https://doi.org/10.1038/s41583-020-0315-1>
- McEwen, B. S., Nasca, C., & Gray, J. D. (2016). Stress Effects on Neuronal Structure : Hippocampus, Amygdala, and Prefrontal Cortex. *Neuropsychopharmacology*, 41(1), 3-23. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.171>
- Md, R. C., Md, M. G., Md, C. C., & Md, R. M. (1992). Magnetic brain stimulation : The silent period after the motor evoked potential. *Neurology*, 42(10), 1951-1951. <https://doi.org/10.1212/WNL.42.10.1951>
- Méndez, P., & Bacci, A. (2011). Assortment of GABAergic Plasticity in the Cortical Interneuron Melting Pot. *Neural Plasticity*, 2011, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2011/976856>
- Menon, P., Kiernan, M. C., & Vucic, S. (2015). Cortical hyperexcitability precedes lower motor neuron dysfunction in ALS. *Clinical Neurophysiology*, 126(4), 803-809. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.04.023>
- Metz, G. A., Jadavji, N. M., & Smith, L. K. (2005). Modulation of motor function by stress : A novel concept of the effects of stress and corticosterone on behavior. *European Journal of Neuroscience*, 22(5), 1190-1200. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04285.x>
- Metz, G. A. S., Schwab, M. E., & Welzl, H. (2001). The effects of acute and chronic stress on motor and sensory performance in male Lewis rats. *Physiology & Behavior*, 72(1-2), 29-35. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(00\)00371-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(00)00371-1)
- Miller, S., & Maguire, J. (2014). Deficits in KCC2 and activation of the HPA axis lead to depressionlike behavior following social defeat. *Hormonal Studies*, 2(1), 2. <https://doi.org/10.7243/2052-8000-2-2>
- Minciacchi, D., Kassa, R. M., Del Tongo, C., Mariotti, R., & Bentivoglio, M. (2009). Voronoi-based spatial analysis reveals selective interneuron changes in the cortex of FALS mice. *Experimental Neurology*, 215(1), 77-86. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.09.005>
- Mòdol, L., Mancuso, R., Alé, A., Francos-Quijorna, I., & Navarro, X. (2014). Differential effects on KCC2 expression and spasticity of ALS and traumatic injuries to motoneurons. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00007>
- Molyneaux, B. J., Arlotta, P., Menezes, J. R. L., & Macklis, J. D. (2007). Neuronal subtype specification in the cerebral cortex. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(6), 427-437. <https://doi.org/10.1038/nrn2151>
- Morecraft, R. J., McNeal, D. W., Stilwell-Morecraft, K. S., Gedney, M., Ge, J., Schroeder, C. M., & van Hoesen, G. W. (2007). Amygdala interconnections with the cingulate motor cortex in the rhesus monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, 500(1), 134-165. <https://doi.org/10.1002/cne.21165>
- Morimoto, M., Morita, N., Ozawa, H., Yokoyama, K., & Kawata, M. (1996). Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain : An immunohistochemical and in situ hybridization study. *Neuroscience Research*, 26(3), 235-269. [https://doi.org/10.1016/S0168-0102\(96\)01105-4](https://doi.org/10.1016/S0168-0102(96)01105-4)
- Musazzi, L., Milanese, M., Farisello, P., Zappettini, S., Tardito, D., Barbiero, V. S., Bonifacino, T., Mallei, A., Baldelli, P., Racagni, G., Raiteri, M., Benfenati, F., Bonanno, G., & Popoli, M. (2010). Acute Stress Increases Depolarization-Evoked Glutamate Release in the Rat Prefrontal/Frontal Cortex : The Dampening Action of Antidepressants. *PLoS ONE*, 5(1), e8566. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008566>
- Naka, A., Veit, J., Shababo, B., Chance, R. K., Risso, D., Stafford, D., Snyder, B., Egladyous, A., Chu, D., Sridharan, S., Mossing, D. P., Paninski, L., Ngai, J., & Adesnik, H. (2019). Complementary networks of cortical somatostatin interneurons enforce layer specific control. *ELife*, 8, e43696. <https://doi.org/10.7554/eLife.43696>

- Nakamura, K., Moorhouse, A. J., Cheung, D. L., Eto, K., Takeda, I., Rozenbroek, P. W., & Nabekura, J. (2019). Overexpression of neuronal K⁺-Cl⁻ co-transporter enhances dendritic spine plasticity and motor learning. *The Journal of Physiological Sciences: JPS*, 69(3), 453-463. <https://doi.org/10.1007/s12576-018-00654-5>
- Nihei, K., McKee, A. C., & Kowall, N. W. (1993). Patterns of neuronal degeneration in the motor cortex of amyotrophic lateral sclerosis patients. *Acta Neuropathologica*, 86(1), 55-64. <https://doi.org/10.1007/BF00454899>
- Okamoto, K., Kihira, T., Kondo, T., Kobashi, G., Washio, M., Sasaki, S., Yokoyama, T., Miyake, Y., Sakamoto, N., Inaba, Y., & Nagai, M. (2009). Lifestyle Factors and Risk of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Case-Control Study in Japan. *Annals of Epidemiology*, 19(6), 359-364. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2009.01.015>
- Page, C. E., & Coutellier, L. (2019). Prefrontal excitatory/inhibitory balance in stress and emotional disorders: Evidence for over-inhibition. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 105, 39-51. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.07.024>
- Parkin Kullmann, J. A., Hayes, S., & Pamphlett, R. (2018). Is psychological stress a predisposing factor for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)? An online international case-control study of premorbid life events, occupational stress, resilience and anxiety. *PLOS ONE*, 13(9), e0204424. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204424>
- Patacchioli, F. R., Monnazzi, P., Scontrini, A., Tremante, E., Caridi, I., Brunetti, E., Buttarelli, F. R., & Pontieri, F. E. (2003). Adrenal dysregulation in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Endocrinological Investigation*, 26(12), RC23-RC25. <https://doi.org/10.1007/BF03349149>
- Pearson, K. (2000). Motor systems. *Current Opinion in Neurobiology*, 10(5), 649-654. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(00\)00130-6](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(00)00130-6)
- Péron, J., Frühholz, S., Ceravolo, L., & Grandjean, D. (2016). Structural and functional connectivity of the subthalamic nucleus during vocal emotion decoding. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 11(2), 349-356. <https://doi.org/10.1093/scan/nsv118>
- Ramoia, A. S., & Sur, M. (1996). Short-Term Synaptic Plasticity in the Visual Cortex During Development. *Cerebral Cortex*, 6(4), 640-646. <https://doi.org/10.1093/cercor/6.4.640>
- Rocher, C. (2004). Acute Stress-induced Changes in Hippocampal/Prefrontal Circuits in Rats: Effects of Antidepressants. *Cerebral Cortex*, 14(2), 224-229. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhg122>
- Rudy, B., Fishell, G., Lee, S., & Hjerling-Leffler, J. (2011). Three groups of interneurons account for nearly 100% of neocortical GABAergic neurons. *Developmental Neurobiology*, 71(1), 45-61. <https://doi.org/10.1002/dneu.20853>
- Sale, M. V., Ridding, M. C., & Nordstrom, M. A. (2008). Cortisol Inhibits Neuroplasticity Induction in Human Motor Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 28(33), 8285-8293. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1963-08.2008>
- Salerno, A., & Georgesco, M. (1998). Double magnetic stimulation of the motor cortex in amyotrophic lateral sclerosis. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 107(2), 133-139. [https://doi.org/10.1016/S0013-4694\(98\)00054-6](https://doi.org/10.1016/S0013-4694(98)00054-6)
- Samarut, É., Swaminathan, A., Riché, R., Liao, M., Hassan-Abdi, R., Renault, S., Allard, M., Dufour, L., Cossette, P., Soussi-Yanicostas, N., & Drapeau, P. (2018). γ -Aminobutyric acid receptor alpha 1 subunit loss of function causes genetic generalized epilepsy by impairing inhibitory network neurodevelopment. *Epilepsia*, 59(11), 2061-2074. <https://doi.org/10.1111/epi.14576>
- Sanes, J. N., & Donoghue, J. P. (2000). Plasticity and Primary Motor Cortex. *Annual Review of Neuroscience*, 23(1), 393-415. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.23.1.393>
- Sanger, T. D., Garg, R. R., & Chen, R. (2001). Interactions between two different inhibitory systems in the human motor cortex. *The Journal of Physiology*, 530(2), 307-317. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.03071.x>
- Sarkar, J., Wakefield, S., MacKenzie, G., Moss, S. J., & Maguire, J. (2011). Neurosteroidogenesis Is Required for the Physiological Response to Stress: Role of Neurosteroid-Sensitive GABAA Receptors. *Journal of Neuroscience*, 31(50), 18198-18210. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2560-11.2011>
- Spataro, R., Volanti, P., Vitale, F., Meli, F., Colletti, T., Di Natale, A., & La Bella, V. (2015). Plasma cortisol level in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 358(1-2), 282-286. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.09.011>
- Stengel, A., & Taché, Y. F. (2017). Activation of Brain Somatostatin Signaling Suppresses CRF Receptor-Mediated Stress Response. *Frontiers in Neuroscience*, 11, 231. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00231>
- Szabo, B., Wallmichrath, I., Mathonia, P., & Pfreundtner, C. (2000). Cannabinoids inhibit excitatory neurotransmission in the substantia nigra pars reticulata. *Neuroscience*, 97(1), 89-97. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(00\)00036-1](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00036-1)
- Tamamaki, N., Yanagawa, Y., Tomioka, R., Miyazaki, J.-I., Obata, K., & Kaneko, T. (2003). Green fluorescent protein expression and colocalization with calretinin, parvalbumin, and somatostatin in the GAD67-GFP knock-in mouse. *The Journal of Comparative Neurology*, 467(1), 60-79. <https://doi.org/10.1002/cne.10905>

- Teleńczuk, B., Dehghani, N., Le Van Quyen, M., Cash, S. S., Halgren, E., Hatsopoulos, N. G., & Destexhe, A. (2017). Local field potentials primarily reflect inhibitory neuron activity in human and monkey cortex. *Scientific Reports*, 7(1), 40211. <https://doi.org/10.1038/srep40211>
- Thomson, A. M. (2003). Interlaminar Connections in the Neocortex. *Cerebral Cortex*, 13(1), 5-14. <https://doi.org/10.1093/cercor/13.1.5>
- Tremblay, R., Lee, S., & Rudy, B. (2016). GABAergic Interneurons in the Neocortex : From Cellular Properties to Circuits. *Neuron*, 91(2), 260-292. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.033>
- Troncoso, J., Múnera, A., & Delgado-García, J. M. (2007). Learning-dependent potentiation in the vibrissal motor cortex is closely related to the acquisition of conditioned whisker responses in behaving mice. *Learning & Memory*, 14(1-2), 84-93. <https://doi.org/10.1101/lm.341807>
- Tsukahara, T., Masuhara, M., Iwai, H., Sonomura, T., & Sato, T. (2016). The effect of repeated stress on KCC2 and NKCC1 immunoreactivity in the hippocampus of female mice. *Data in Brief*, 6, 521-525. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2015.12.041>
- Tuff, L. P., Racine, R. J., & Adamec, R. (1983). The effects of kindling on GABA-Mediated inhibition in the dentate gyrus of the rat. I. Paired-pulse depression. *Brain Research*, 277(1), 79-90. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(83\)90909-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(83)90909-5)
- Varela, J. A., Song, S., Turrigiano, G. G., & Nelson, S. B. (1999). Differential Depression at Excitatory and Inhibitory Synapses in Visual Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 19(11), 4293-4304. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-11-04293.1999>
- Vouimba, R.-M., Yaniv, D., Diamond, D., & Richter-Levin, G. (2004). Effects of inescapable stress on LTP in the amygdala versus the dentate gyrus of freely behaving rats. *European Journal of Neuroscience*, 19(7), 1887-1894. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03294.x>
- Vucic, S., Cheah, B. C., & Kiernan, M. C. (2009). Defining the mechanisms that underlie cortical hyperexcitability in amyotrophic lateral sclerosis. *Experimental Neurology*, 220(1), 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.08.017>
- Vucic, S., Nicholson, G. A., & Kiernan, M. C. (2008). Cortical hyperexcitability may precede the onset of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, 131(6), 1540-1550. <https://doi.org/10.1093/brain/awn071>
- Werhahn, K. J., Kunesch, E., Noachtar, S., Benecke, R., & Classen, J. (1999). Differential effects on motorcortical inhibition induced by blockade of GABA uptake in humans. *The Journal of Physiology*, 517(2), 591-597. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.0591t.x>
- Wischniewski, M., & Schutter, D. J. L. G. (2015). Efficacy and Time Course of Theta Burst Stimulation in Healthy Humans. *Brain Stimulation*, 8(4), 685-692. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2015.03.004>
- Wu, C.-W., Chiu, W.-T., Hsieh, T.-H., Hsieh, C.-H., & Chen, J.-J. J. (2018). Modulation of motor excitability by cortical optogenetic theta burst stimulation. *PLOS ONE*, 13(8), e0203333. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203333>
- Xu, J.-Y., Yang, B., & Sastry, B. R. (2009). The involvement of GABA-C receptors in paired-pulse depression of inhibitory postsynaptic currents in rat hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Experimental Neurology*, 216(1), 243-246. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.11.013>
- Xu, L., Anwyl, R., & Rowan, M. J. (1997). Behavioural stress facilitates the induction of long-term depression in the hippocampus. *Nature*, 387(6632), 497-500. <https://doi.org/10.1038/387497a0>
- Xu, T., Yu, X., Perlik, A. J., Tobin, W. F., Zweig, J. A., Tennant, K., Jones, T., & Zuo, Y. (2009). Rapid formation and selective stabilization of synapses for enduring motor memories. *Nature*, 462(7275), 915-919. <https://doi.org/10.1038/nature08389>
- Yamada, J., Furukawa, T., Ueno, S., Yamamoto, S., & Fukuda, A. (2007). Molecular Basis for the GABAA Receptor-Mediated Tonic Inhibition in Rat Somatosensory Cortex. *Cerebral Cortex*, 17(8), 1782-1787. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhl087>
- Yang, J., Han, H., Cao, J., Li, L., & Xu, L. (2006). Prenatal stress modifies hippocampal synaptic plasticity and spatial learning in young rat offspring. *Hippocampus*, 16(5), 431-436. <https://doi.org/10.1002/hipo.20181>
- Zhang, W., Zhang, L., Liang, B., Schroeder, D., Zhang, Z., Cox, G. A., Li, Y., & Lin, D.-T. (2016). Hyperactive somatostatin interneurons contribute to excitotoxicity in neurodegenerative disorders. *Nature Neuroscience*, 19(4), 557-559. <https://doi.org/10.1038/nn.4257>
- Zheng, G., Zhang, X., Chen, Y., Zhang, Y., Luo, W., & Chen, J. (2007). Evidence for a role of GABAA receptor in the acute restraint stress-induced enhancement of spatial memory. *Brain Research*, 1181, 61-73. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.08.077>
- Zucker, R. S., & Regehr, W. G. (2002). Short-Term Synaptic Plasticity. *Annual Review of Physiology*, 64(1), 355-405. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.64.092501.114547>

Chapitre 2 : Influence d'un stress prénatal sur le M1

1- Présentation

La première étude ayant permis de mettre en évidence des modifications du réseau moteur cortical suite à un stress aigu, ce deuxième article visait à compléter ces données, en déterminant si un stress intervenant très tôt dans la vie pouvait amplifier les changements observés, en raison de l'impact du stress prénatal sur le développement cérébral. Son influence sur la plasticité du réseau M1-M1 de souris WT et SOD adultes (10-12 semaines) a donc été estimée à l'aide d'une technique d'électrophysiologie *in vivo*. Toujours dans l'optique de faire un parallèle avec les résultats précédents, une étude immunohistochimique de l'expression globale des co-transporteurs au chlorure KCC2 et NKCC1 au sein du M1 a également été menée.

La composante excitatrice N1 retrouvée au sein des couches corticales supérieures, ainsi que le complexe inhibiteur N2-P1 localisé dans les couches inférieures, ont à nouveau été enregistrés dans le M1. Chez les WT, le stress a eu tendance à réduire la LTD de la composante N1, bien que ce ne soit pas significatif. En parallèle, le stress a induit une LTD du complexe N2-P1 chez ces mêmes animaux. Chez les souris SOD, le stress prénatal n'a entraîné aucun changement de N1 suite à la TBS, mais a en revanche supprimé, la LTD de la composante N2-P1. Enfin, l'expression globale de KCC2 et de NKCC1 était augmentée chez les souris ayant été soumises à un stress prénatal, quel que soit leur génotype.

Ces données révèlent l'impact à long terme d'un stress survenant à un stade embryonnaire, sur la plasticité du M1 de souris adultes. De façon similaire à ce qui a été observé dans le cadre du stress aigu, le stress prénatal tend à promouvoir l'augmentation de l'activité du M1 chez les animaux WT, tout en favorisant son inhibition chez les animaux SOD. L'augmentation de l'expression de KCC2 et NKCC1 suite au stress, quel que soit le génotype, pourrait être en lien avec leurs fonctions respectives dans la formation *de novo* d'épines dendritiques et dans la régulation de la réponse inflammatoire. Le stress prénatal pourrait ainsi durablement influencer les transmissions excitatrices et inhibitrices au sein du M1, ce qui pourrait avoir des répercussions sur les comportements moteurs et influencer négativement le développement de la SLA.

2- Article 2

Long-Term Influence of Prenatal Stress on Primary Motor Cortex Plasticity in Adult WT and SOD1^{G93A} Mice

Zoé Mazurie, Pascal Branchereau, Nadia Henkous, Nathalie Argenta, Rose-Marie Vouimba

Université de Bordeaux, Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France; CNRS, INCIA, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France

Corresponding author: Zoé Mazurie; Address: INCIA - UMR 5287 - Université de Bordeaux - Zone nord Bat. 2 - 2ème étage - 146, rue Léo Saignat 33076 Bordeaux cedex; E-mail address: zoe.mazurie@gmail.com

Running title: Prenatal stress influence on M1 in WT and SOD1^{G93A} mice

Disclosure Statement: All authors have seen and approved the manuscript. The authors report no conflicts of interest. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Author contributions: P.B, R-M.V, N.A and Z.M designed the research; R-M.V and Z.M performed in vivo electrophysiology and immunohistochemistry experiments; N.H and Z.M realized blood sampling and plasma corticosterone assay; Z.M performed confocal acquisition under the guidance of P.B; Z.M conducted data analysis and drafted the manuscript; R-M.V and Z.M wrote the article. All authors provided revision of the manuscript.

Abstract

Prenatal stress (PNS) exposure is known to induce profound structural and functional changes in the brain leading to cognitive, behavioural and emotional disorders later in life. Among changes, an excitatory/inhibitory (E/I) imbalance has been reported in limbic structures, such as the amygdala, hippocampus or the prefrontal cortex. In cortical areas, including the primary motor cortex (M1), a fine-tuning of excitatory and inhibitory events is required to achieve homeostatic plasticity of the neuronal network. Stress impact on M1 may induce functional connectivity impairment, which may be detrimental for an already altered network, as in the case of amyotrophic lateral sclerosis (ALS), the motor neuron disease. We previously showed that acute restraint stress tended to enhance M1 inhibitory activity in WT while decreasing it in the SOD1^{G93A} (SOD) mouse model of ALS. These changes were associated with an increase of synaptic plasticity in SOD suggesting that an impaired inhibition may account for increased excitability in SOD. The present study, aimed at extending these findings by assessing the influence of a prenatal stress on M1 plasticity of WT and SOD mice, using an *in vivo* electrophysiological approach. This was associated with an immunohistochemistry measure of the expression in M1 of two main regulators of inhibitory GABA activity, the chloride cotransporters KCC2 and NKCC1. Here, we show that compared to control counterparts, a PNS exposition induced long-term plasticity impairment in the M1 of both WT and SOD adult mice. However, changes were dependent of the genotype. While WT mice expressed a long-term depression (LTD) of an inhibitory component recorded in lower layers of M1, following a theta burst stimulation (TBS) of the contralateral M1, no changes were seen in SOD mice exposed to a PNS. Finally, we show that the expression of KCC2 and NKCC1 were increased in both WT and SOD mice exposed to PNS. Altogether, our data show that an early exposure to stress induced long lasting changes in M1 synaptic plasticity with subsequent impairment in synaptic plasticity in SOD and WT mice. This suggests that PNS may sustainably impair cortical synaptic plasticity in M1, which, in interaction with the already altered neural network in SOD mice, may potentially participate to E/I imbalance in M1 of SOD animals, possibly leading to detrimental consequences in regarding ALS course.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis, plasticity, prenatal stress, primary motor cortex, SOD1G93A

1- Introduction

The impact of stress on brain functioning may begin as early as in the mother's womb. Early-life stress exposure (e.g., prenatally as maternal stress during pregnancy (PNS) or early postnatally in infant) is one of crucial risk factors for developing a range of behavioral and emotional disorders later in adult life. Evidence from animal studies suggests that stress in the last week of gestation changes the trajectory of foetal brain development, interfering with neuronal migration, brain maturation and function, with various adverse effects in offspring (Bock et al., 2015; Hodes and Epperson, 2019). Part of this brain maturation process is achieved through the neurotransmitter GABA, which is excitatory early in development (Ben-Ari, 2002, 2014; Wang et al., 2018; Watanabe and Fukuda, 2015). In addition to delaying GABAergic progenitor migration, PNS was reported to decrease GABAergic interneurons populations in the adult prefrontal cortex and hippocampus (Lussier and Stevens, 2016). More recently, Marchisella et al. (2021) demonstrated that PNS was associated with an excitatory/inhibitory (E/I) imbalance in rat prefrontal cortex and amygdala, with an increased risk for emotional dysregulation. Cortical E/I balance relies on a dynamic interplay between excitatory pyramidal cells and inhibitory GABAergic interneuron (INs) in order to maintain homeostatic plasticity (Donato et al., 2013; He et al., 2019).

It was previously believed that the brain circuits of emotion and movement operate as parallel and independent closed circuits (Alexander et al., 1986). However, the observation of motor impairment, decrease or increase, in neuropsychiatric and mood disorders pointed on the contrary toward interactions between these two circuits. Therefore, understanding the functional connection of the primary cortex (M1), a prominent regulator of motor functions, with stress is of utmost importance. In M1, INs are known to strongly shape excitatory pyramidal activity, and to participate in motor cortical stability (Donato et al., 2013; He et al., 2019). Factors which impact M1 network may lead to abnormal functional connectivity resulting in motor functions impairment. Furthermore, as studies revealed functional and anatomical connections between M1 and main structures involved in the stress response (amygdala and adrenal glands) (Dum et al., 2019; Grèzes et al., 2014; Morecraft et al., 2007), M1 appears as a probable regulator of stress response as well.

One other important aspect of investigating the impact of stress on M1 is to gain insight into its contribution to the pathophysiological process leading to motor cortical neurodegeneration. Indeed, one key pathological hallmark of the motor neuron disease amyotrophic lateral sclerosis (ALS), is an early motor cortical hyperexcitability which has been implicated with motor neurons death (Brunet et al., 2020). This selective hyperexcitability may

result from compromised inhibitions and excitations, leading to dysregulation of E/I balance (Saba et al., 2016).

We recently showed that acute restraint stress in adulthood enhanced M1 activity, likely through a disinhibition mechanism involving increased excitability of specific GABAergic INs (Mazurie et al., *in preparation*). On the contrary, in the SOD1^{G93A} (SOD) mouse model of ALS, at presymptomatic stage (P100), acute stress fostered cortical inhibition, by decreasing the same INs excitability, leading to an enhanced inhibitory activity within M1. Acute stress also altered two regulators of GABAergic transmission, the chloride co-transporters KCC2 and NKCC1. While their involvement in inhibitory processes within M1 in the context of stress is not clear, they may be of importance in mediating stress-related influence in M1, possibly through structural alterations. (Mazurie et al. *in preparation*).

Collectively, these data suggest that PNS may also disrupt neuronal activity and subsequent plasticity in M1. A deficit in inhibitory tuning will alter synaptic plasticity, blunt the circuit functionality and hinder the efficiency of the information-bearing motor and non-motor functions of the network. In addition, such changes may increase motor neurons vulnerability and exacerbate ALS progression.

The present investigation was therefore designed to extend our previous findings, to better understand the impact of stress on the M1. Our goal was to evaluate the influence of stress occurring at early stages of life, when the motor cortex is vulnerable, because of the establishment of definitive cortical connections (Rakic, 1988). Using *in vivo* electrophysiology, we assessed the effect of a PNS exposure on M1 plasticity and activity of adult male SOD and wild type (WT) mice. Changes in an excitatory (N1) and inhibitory (P1) component recorded, respectively, in superficial and deep M1 layers, following the stimulation of contralateral-M1 (M1-M1 network) were evaluated following theta burst stimulation (TBS). We also evaluated if, contrary to acute stress, prenatal stress exposure resulted in a dysregulation of the HPA axis, as elevated adrenal glucocorticoids have been linked with compromised inhibition and aberrant plasticity in limbic structures (Myers et al., 2014; Summers et al., 2003; Wosiski-Kuhn et al., 2014). In addition, we also quantified, using immunohistochemistry, the level of KCC2 and NKCC1 proteins in the different above conditions. In the context of PNS, alterations of the expression of these chloride co-transporters could be pertinent, since they have been implicated in cortical development (Veerawatananan et al., 2016; Virtanen et al., 2020, 2021).

2- Material and Methods

2.1- Ethical considerations and subjects

Experiments were performed in accordance with ethics committee of the University of Bordeaux guidelines and European Committee Council directives of 1st February 2013 (2010/63/EU).

All experiments were conducted on the B6-SJL-TgN (SOD1*G93A)1Gur/J (SOD1^{G93A}) transgenic mouse line, expressing the human G93A Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) mutation (Gly93>Ala substitution, high transgene copy number). Heterozygous B6SJLTgN(SOD1-G93A)/1Gur/J lineage (named SOD in the present study) was maintained by crossing heterozygous transgene-positive male mice with B6SJL F1 hybrid females (Janvier labs, Le Genest-Saint-Isle, France). Mice were obtained from the Jackson Laboratory (<https://www.jax.org/strain/002726>).

Mice were housed in groups of five in large Plexiglas cages with access to food and water *ad libitum* under a standard 12h light/dark schedule. Pregnant mice were housed alone before delivery. Gestation in SOD mice last ~18.5 days and pregnant mice went under stress protocol from embryonic day 16 to 18 (E16-E18). Only male descendance, at approximately 10 to 12 weeks of age (which corresponds to a late presymptomatic stage in SOD mice, see Gurney et al., 1994), was used for electrophysiology and immunochemistry procedures. Experiments were conducted during the light phase of the cycle and mice were separated in four experimental groups. Two groups which were subjected to a prenatal stress (PNS: WT PNS and SOD PNS) and two control groups (WT and SOD).

2.2- In vivo electrophysiology

2.2.1- Surgery

Mice were anesthetized with isoflurane (concentrations of 1-3 % in oxygen; 5 % for initial induction) and placed in a stereotaxic frame (Stoelting Instruments) with the head positioned in order to align bregma and lambda in the same horizontal plane. The scalp was then incised and retraced following the application of a local analgesic (lidocaine), and small burr holes were drilled in the skull to allow the positioning of stimulating and recording electrodes. Body temperature was maintained at 37 °C by a heating pad and temperature controller (FHC Bowdoin, ME, USA) and eyes were hydrated with Lacrigel (Europhta Laboratories).

2.2.2- Stimulating and recording procedures

Both recording and stimulating electrodes were composed of two tungsten wires (diameter: 76.2 μm) separated vertically from ~ 1 mm to simultaneously record at two different depths and stimulate the whole M1, respectively. The stimulating electrode was stereotactically positioned in the M1 [1.6 mm AP, 1.6 mm ML, 0.1 to 1.4 mm DV] to evoke field potentials (elicited by single 0.2-ms rectangular monophasic pulses) in the contralateral M1, where was placed the recording electrode [1.6 mm AP, 1.6 mm ML, 0.4 to 1.4 mm DV]. The DV location of both stimulating and recording electrodes was determined in order to maximize the amplitude of M1 evoked field potentials (or evoked potentials, EPs). A 100- μm silver wire reference electrode was affixed with a screw to the skull, in the occipital area. EPs were amplified by an A-M systems amplifier (Sequim, WA, USA - gain x100 or x1000), filtered (band-pass 0.1-10 000 Hz), digitized at 10 kHz (CED) and analyzed with Signal software v. 3.07 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK). Baseline responses were established according to the stimulation intensity sufficient to elicit an EP corresponding to $\sim 50\%$ of the response maximal amplitude.

2.2.3- Protocols

Primary motor cortex plasticity was examined with the aim of evaluating the consequences of a stress occurring at an embryonic stage on the adult motor cortical network functioning.

Input–output curve

Input-output curves (I/O) were first achieved by incrementing the stimulus intensity from 0.4 to 4 mA (0.2-mA steps) and stimulus intensity producing $\sim 50\%$ of maximal amplitude was used for further analyses.

Paired-pulse

A paired-pulse protocol was conducted following the I/O curve in order to investigate short-term plasticity in M1. This paradigm consisted in two sequential identical paired stimuli delivered in the M1, with a varying inter-stimulus interval (ISI: 50, 150 and 250 ms), in order to elicit paired EPs in the contralateral M1. The paired-pulse ratio between the EPs' amplitudes ($\text{PPR} = \text{EP}_2/\text{EP}_1$) for each ISI reflects different forms of short-term plasticity: a ratio above 1 is interpreted as a paired-pulse facilitation (PPF), while a ratio under 1 corresponds to a paired-pulse inhibition (PPI).

Long-term plasticity induction

As theta-like burst stimulation (TBS) is often used to assess and modulate cortical plasticity along with corticospinal excitability in both humans and rodents (S. W. Chung et al., 2016; Fujiki et al., 2020; Wischnewski and Schutter, 2015; Wu et al., 2018), we applied a TBS in M1 in order to evaluate the resultant long-term plasticity in the contralateral M1. The stimulation included 3 trains of 10 pulses at 100 Hz repeated 10 times at 5 Hz and was applied 30 min following a baseline period at 0.05 Hz. Long-term plasticity in the M1 was measured as the EP amplitude's mean percentage of variation from baseline, and was recorded during 60 min at 0.05 Hz (see Mazurie et al for schematic representation of *in vivo* electrophysiological recordings workflow).

2.2.4- Histology

During experiments, the correct placement of the stimulating and recording electrodes was confirmed by the recorded EP general pattern, and checked afterwards via a histological protocol. Brains were quickly removed, post-fixed in a formalin-saccharose 30 % solution and 80- μ m-thickness coronal slices were cut using a vibratome (VT1000 S, Leica Microsystems, Germany). Sections were then mounted on gelatin-coated slides and stained with cresyl violet for microscopic validation of both electrodes correct placements in M1.

2.3- Prenatal stress protocol

Pregnant mice were placed individually in a transparent tube with ventilation holes (internal diameter 33 mm; length 105 mm) in a bright light and sound attenuated room for 45 min, once a day, during the last three days of gestation (E16 to E18). This period was chosen because it is known to be the most vulnerable for cortical development in mice. Indeed, during foetal life, neocortical neurons generated in proliferative zones, migrate to their final destinations at the end of gestation. E16 to E18 are the late stage of corticogenesis, characterized by the longest migratory pathways and intense migration across the cerebral wall (Ang et al., 2006). Factors impacting this migration may lead in neurons failure to acquire their proper position in the appropriate cortical layers, with subsequent abnormal behavior (Rakic, 1988).

The starting time for stress protocol was flexible, as it changed across the 3 days period. Male descendance constituted the PNS groups. Non-stressed control groups were originated from pregnant mice which were left in their home cages and not exposed to stressful manipulation.

2.4- Blood Sampling and plasma corticosterone assay

Impact of PNS on hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) system was evaluated by the measure of plasmatic corticosterone (CORT) levels. To this end, we collected blood samples from the submandibular vein of unanesthetized mice (WT = 9, SOD = 13, WT PNS = 10, SOD PNS = 10) with sterile 25-gauge needles in the morning (8:00 to 11:00), within 60-90 s from taking the mice from its home cage (basal CORT level: t_0). In addition, the reactivity of the HPA axis was evaluated using an acute restraint stress. After t_0 sample, animals were individually placed in restrainer tubes for 45 min (similar to what was described above, see also Mazurie et al., *in preparation*), while non-stressed PNS mice and control animals returned in their home cage for the same period, after which a second blood sample was taken for all groups (CORT level after 45 min: t_{45} ; PNS stressed: N = 5 PNS stressed WT and 5 PNS stressed SOD ; control stressed: N = 5 WT stressed and 7 SOD stressed).

After collection, blood samples were immediately placed in tubes containing 10 % ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA). Following a 10-min centrifugation (3000 rpm at 4°C) for serum separation, the supernatant plasma was stored at -80° C until future use. Plasma CORT levels were investigated through CORT concentrations measurements using a commercial enzyme immunoassay kit (Correlate-EIA, Assay Designs, Ann Arbor, USA).

2.5- Immunohistochemistry and confocal microscopy

Immunohistochemistry on coronal slices containing M1 from SOD and WT animals was performed as previously described (Mazurie et al.). Briefly, mice were deeply anesthetized (euthazol and xylazine solution, 360 mg/kg and 20 mg/mL respectively, i.p) and transcardially perfused with 4 % paraformaldehyde (PFA). Brains were post-fixed overnight in PFA, cryoprotected, frozen in Tissue-Tek (O.C.T. Compound, Sakura Finetek, Japan) and sliced into 25- μ m-thick sections with a cryostat (CM 3050; Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). After being affixed on gelatinized slides, sections containing M1 (approximately from 1.8 mm to 0.3 mm anterior to bregma) were stored at -80°C until future use.

Slides were thawed, rinsed in 0.1M PBS (medium used for all rinses), incubated 20 min in NH₄Cl-PBS (50 mM) at room temperature, rinsed again and blocked 2 h at room temperature in PBST (2 % BSA, 0.5 % triton). Sections were then incubated 48 h at 4°C with the following primary antibodies, prepared in PBST (0.2 % BSA, 1% triton): rabbit polyclonal anti-KCC2 antibody (1:200, Millipore 07-432, Millipore Sigma, USA) and mouse monoclonal anti-NKCC1 antibody (1:200, T4 from Developmental Studies Hybridoma Bank, The University of Iowa, USA). Slides were then rinsed before being incubated 2 h at room temperature with the

following secondary fluorescent antibodies, along with DAPI for nuclear staining (1:5000; D9542 Merck Sigma-Aldrich): goat anti-rabbit secondary antibody Alexa Fluor 488 (1:500, A-11034, Invitrogen, France) and goat anti-mouse secondary antibody Alexa Fluor 647 (1:500, A-21235, Invitrogen, France). After final rinses, slides were mounted with an anti-fade reagent (Fluoromount, Electron Microscopy Sciences) and stored at 4°C in obscurity until confocal observation.

Slides were imaged using a confocal laser scanning microscope (LSM 900 Zeiss, 20x objective), with lasers selected according to the wave-length required for visualization. Both KCC2 and NKCC1 proteins global fluorescence quantifications were performed using Fiji software (Imagej.net). When possible, data were collected from both hemispheres and values are presented as mean protein expression percentages \pm SEM, normalized to mean values from WT samples.

2.6- Statistical Analysis

All statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics software for Windows, v. 20 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA). A Shapiro Wilk normality test was primarily used to assess normality of the data. *P*-values less than 0.05 were considered statistically significant and if not said otherwise, continuous variables are expressed as mean \pm SEM. Independent continuous variables were compared by the means of t-tests or non-parametric Mann-Whitney tests, and paired continuous variables were compared using paired t-tests. Repeated measures ANOVA with a Greenhouse-Geisser correction was used for group comparisons of repeated variables. Significant between groups effect led to simple main effects analyses.

3- Results

3.1- Evoked field potentials in M1

The stimulus intensity required to evoke responses in M1 was not significantly influenced by prenatal stress in WT ($I_{WT} = 0.60 \pm 0.05$ mA vs $I_{WT\ PNS} = 0.84 \pm 0.13$ mA, $p = 0.286$). However, this stimulus intensity was higher in SOD PNS mice compared to the SOD animals ($I_{SOD} = 0.60 \pm 0.05$ mA vs $I_{SOD\ PNS} = 0.96 \pm 0.09$ mA, $U = 66.50$, $z = -2891$, $p = 0.003$).

3.1.1- Features of Evoked Field Potentials depending on the recording depth

As in our previous work, two different EPs were simultaneously recorded in the M1, whose maximal amplitudes were obtained in the superficial and deep layers ($\sim 350 \mu\text{m}$ and $\sim 1350 \mu\text{m}$ depths see **Fig. 1**). Both EPs presented the same pattern as recorded before (Mazurie et al., *in preparation*).

The negative component N1, which is a characteristic feature of the EP localized in the superficial layers, presented a mean peak amplitude of $1.40 \pm 0.10 \text{ mV}$ with a peak latency obtained at $18.30 \pm 0.61 \text{ ms}$. Typical early negative (N1' and N2) and positive (P1) components constituted the EP from the deeper layers. N1' and N2 expressed mean amplitudes of $0.96 \pm 0.06 \text{ mV}$ and $0.32 \pm 0.02 \text{ mV}$ appearing at $3.23 \pm 0.24 \text{ ms}$ and $6.58 \pm 0.32 \text{ ms}$ respectively, and P1 exhibited a mean amplitude of $1.01 \pm 0.05 \text{ mV}$ occurring at $21.22 \pm 0.63 \text{ ms}$. The location of the stimulating and recording electrodes within the M1 is illustrated **Fig. 1** along with representative examples of both EPs.

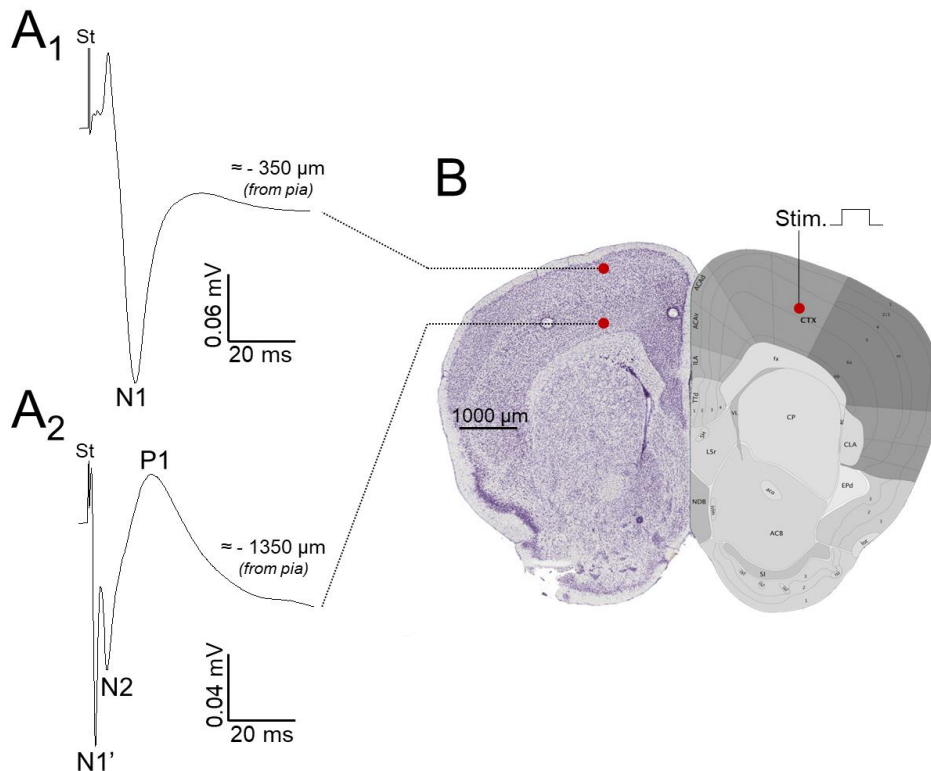


Figure 1. Evoked field potentials recorded in M1 following electrical stimulation of the contralateral M1. (A₁-A₂) Representative examples of EPs whose maximum amplitude were obtained in the superficial (**A₁**) and deep (**A₂**) layers of M1. (**B**) Illustration of both stimulating (right hemisphere) and recording (left hemisphere) electrodes tips positioning (red dots) in M1, on a coronal view at 1.6 mm anterior to bregma. *Nissl view and diagram are adapted from the Allen Mouse Brain Reference Atlas (atlas.brain-map.org). St, stimulus artefact. N1, negative component of the EP from upper layers. N1', N2 and P1, two early negative and late positive components of the EP localized in lower layers.*

On the basis of our previous pharmacological and electrophysiological studies we have identified N1 as a global glutamatergic excitatory activity emerging from pyramidal cells, while N2-P1 complex, was labelled as a global GABAergic inhibitory activity originating from interneurons (INs) (Mazurie et al., *in preparation*). All analyses in this present work were performed on these responses.

The impact of PNS on M1 was assessed by analyzing the network's ability to develop long-term and short-term plasticity using theta-like burst stimulation (TBS) and paired-pulse protocols, respectively.

3.1.2- Long-term plasticity following TBS

TBS was applied on the contralateral M1 to evaluate long term plasticity. We have previously reported, that contrary to what was found in the hippocampus, TBS did not induce long term potentiation in M1, but rather a long-term depression (LTD, for N1) or no change (for N2-P1 complex) in WT control (**Fig. 2A₁ and A₂**). In WT mice exposed to PNS, we observed a suppression, although non-significant, of the TBS-induced LTD of the N1 component along with a significant long term decrease of N2-P1 complex ($F_{[1,25]} = 4.62, p = 0.041$) (**Fig. 2A₁ and A₂**). In SOD, as reported before, TBS did not induce LTD in N1 but rather a small non-significant increase as compare to baseline (**Fig. 2B₁**). PNS did not impact further N1, as similar changes were observed after TBS (SOD vs. SOD PNS: $F_{[1,25]} = 0.037, p = 0.848$). In N2-P1 complex, PNS prevented the long-term decrease seen in SOD control. Precisely, both PNS and control SOD exhibited an initial decrease of N2-P1 complex, however, while decrease endured an hour in control SOD, it faded away in about 20 min in SOD PNS mice. ($F_{[3,2,64,3]} = 3.696, p = 0.014$) (**Fig. 2B₂**).

These data show that PNS affects M1 long-term plasticity in a different manner in WT and SOD animals. Similar to what was observed with an acute stress (Mazurie et al., *in preparation*), PNS tended to suppress TBS-induced LTD in N1 while promoting depression of N2-P1 complex in WT mice. In SOD animals, the impact of PNS was more complex, with no observable changes in N1 and suppression of depression in N2-P1 complex.

3.1.3- Short-term inhibition in M1

Paired-pulse ratio (PPR) analysis revealed a paired-pulse inhibition (PPI) of the N1 component and N2-P1 complex for all ISI and all groups (**Fig 3**).

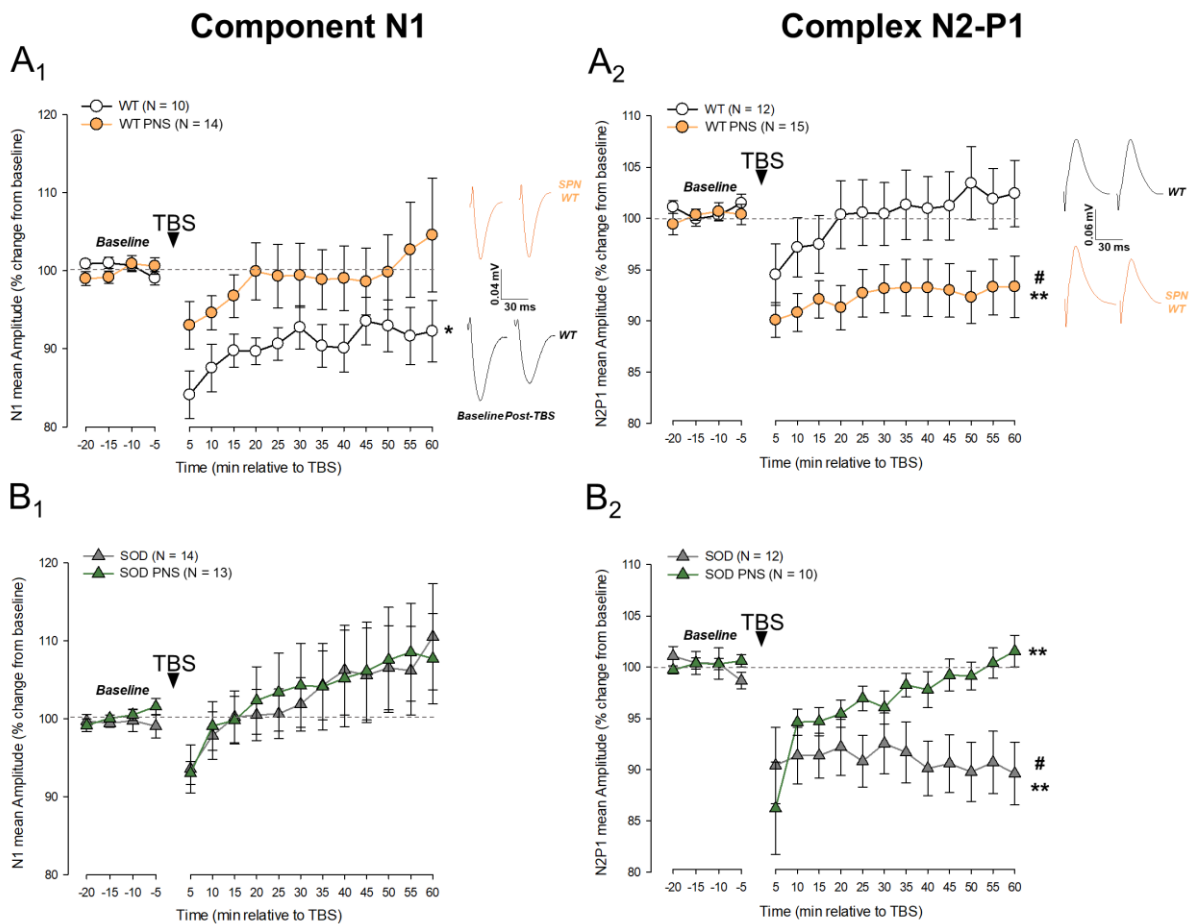


Figure 2. Effect of prenatal stress on M1 plasticity following TBS of the contralateral M1 in WT and SOD mice. (A₁-A₂) Effect of prenatal stress (PNS) on TBS-induced synaptic plasticity in M1 of WT mice. Right, representative traces of M1 plasticity in WT (black) and WT PNS (orange). **(A₁)** WT mice subjected to a PNS tended to exhibit a reduced LTD of the N1 component, however it was not significant. **(A₂)** Only WT PNS animals presented a LTD of the N2P1 complex following the TBS. **(B₁-B₂)** Effect of PNS on TBS-induced synaptic plasticity in M1 of SOD mice. **(B₁)** PNS animals expressed a similar profile as SOD non-stressed mice, with a slight non-significant increase in N1 amplitude following TBS. **(B₂)** PNS suppressed the TBS-induced LTD of the N2P1 complex observed in SOD mice. Amplitudes of EPs were measured from peak to peak and are expressed as mean \pm SEM percentages of baseline. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ indicates differences compared to baseline level (100 %); # $p < 0.05$, indicates differences between groups.

In both PNS groups, despite a trend toward a reduction of PPI in N1 for all ISI, statistical analyses did not reveal any significant differences in WT ($PPR_{50} = 0.64 \pm 0.05$ vs 0.74 ± 0.05 ; $PPR_{150} = 0.56 \pm 0.06$ vs 0.65 ± 0.05 and $PPR_{250} = 0.64 \pm 0.05$ vs 0.66 ± 0.03 ; $p > 0.05$ in each case) and SOD mice ($PPR_{50} = 0.60 \pm 0.03$ vs 0.69 ± 0.06 ; $PPR_{150} = 0.55 \pm 0.03$ vs 0.60 ± 0.06 and $PPR_{250} = 0.57 \pm 0.03$ vs 0.64 ± 0.05 ; $p > 0.05$ in each case) (**Fig. 3A**).

For N2-P1 complex, despite a PPI increase tendency in WT PNS along with a downward trend of PPI in SOD PNS, changes were not statistically significant in WT ($PPR_{50} = 0.86 \pm 0.08$

vs 0.87 ± 0.05 ; $PPR_{150} = 0.87 \pm 0.05$ vs 0.77 ± 0.03 and $PPR_{250} = 0.85 \pm 0.02$ vs 0.77 ± 0.03 ; $p > 0.05$ in each case) or SOD animals ($PPR_{50} = 0.79 \pm 0.03$ vs 0.90 ± 0.06 ; $PPR_{150} = 0.83 \pm 0.03$ vs 0.83 ± 0.06 and $PPR_{250} = 0.81 \pm 0.03$ vs 0.89 ± 0.03 ; $p > 0.05$ in each case) (**Fig. 3B**).

Despite the fact that changes in short-term plasticity following PNS were non statistically significant, they could participate in long-term inhibition impairment in M1 of adult WT and SOD mice.

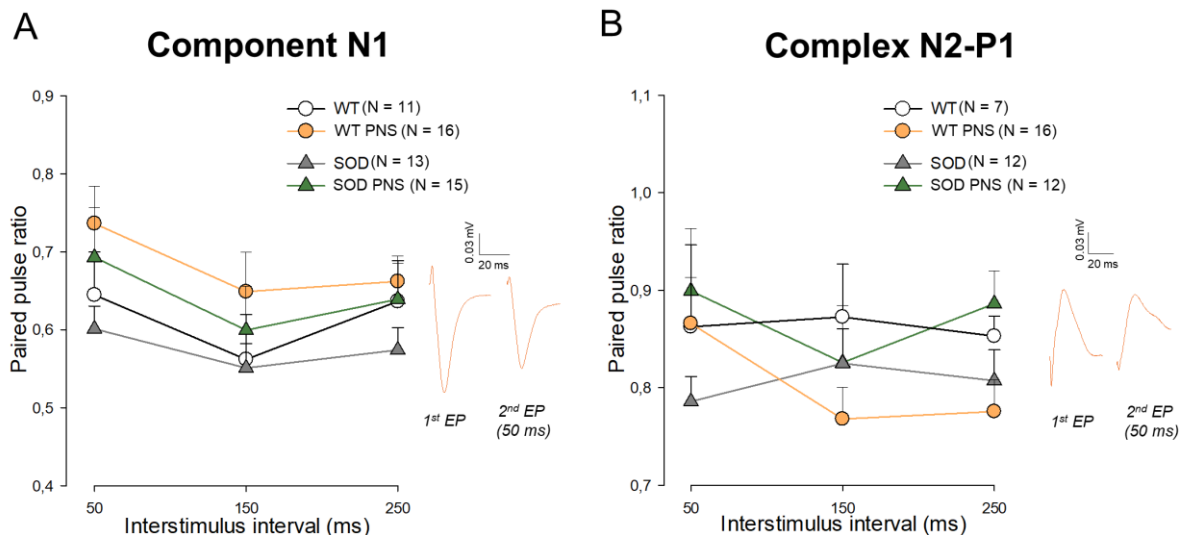


Figure 3. Effect of prenatal stress on paired-pulse-induced plasticity in M1 of WT and SOD mice. (A) Paired pulses ratios (PPR) of N1 between prenatal stress (PNS) and control animals. PNS did not significantly influence short-term plasticity of N1, with all groups expressing a PPR < 1 reflecting a paired-pulse inhibition (PPI) for all inter-stimulus interval (ISI), despite a trend for PNS mice to express higher PPR. Right, representative field potentials evoked by a 50-ms paired-pulse stimulation in WT PNS mice. (B) PNS did not significantly impact N2P1 paired-pulse-induced plasticity either, with all groups presenting a PPI of this complex regardless of the ISI. WT PNS tended however to present lower PPR and SOD PNS higher PPR than their respective counterparts. Right, representative field potentials evoked by a 50-ms paired-pulses stimulation in WT PNS. *Paired-pulses ratio* = $2^{nd} EP \text{ amplitude} / 1^{st} EP \text{ amplitude}$, calculated for each ISI (50, 150 and 250 ms). Data are expressed as PPR means \pm SEM.

3.2- Higher expression levels of KCC2 and NKCC1 in M1 of prenatal stressed mice

Both PNS groups expressed higher levels of KCC2 in M1 compared to their non-stressed counterparts, especially in SOD mice (WT: 100.00 ± 3.43 % vs WT PNS: 146.29 ± 11.05 %, $U = 161.0$, $z = -3.52$, $p < 0.0001$ and SOD: 92.83 ± 5.00 % vs. SOD PNS: 201.86 ± 21.63 %, $U = 206.0$, $z = -4.52$, $p < 0.0001$, see **Fig. 4**). A similar phenomenon was observed regarding NKCC1 expression, but at a lesser extent (WT: 100.00 ± 3.86 vs. WT PNS: 119.86 ± 6.79 %, $U = 233.0$, $z = -2.27$, $p = 0.023$ and SOD: 98.87 ± 4.23 vs. SOD PNS: 128.47 ± 12.28 %, $U = 420.0$, $z = -1.97$, $p = 0.049$, see **Fig. 4**).

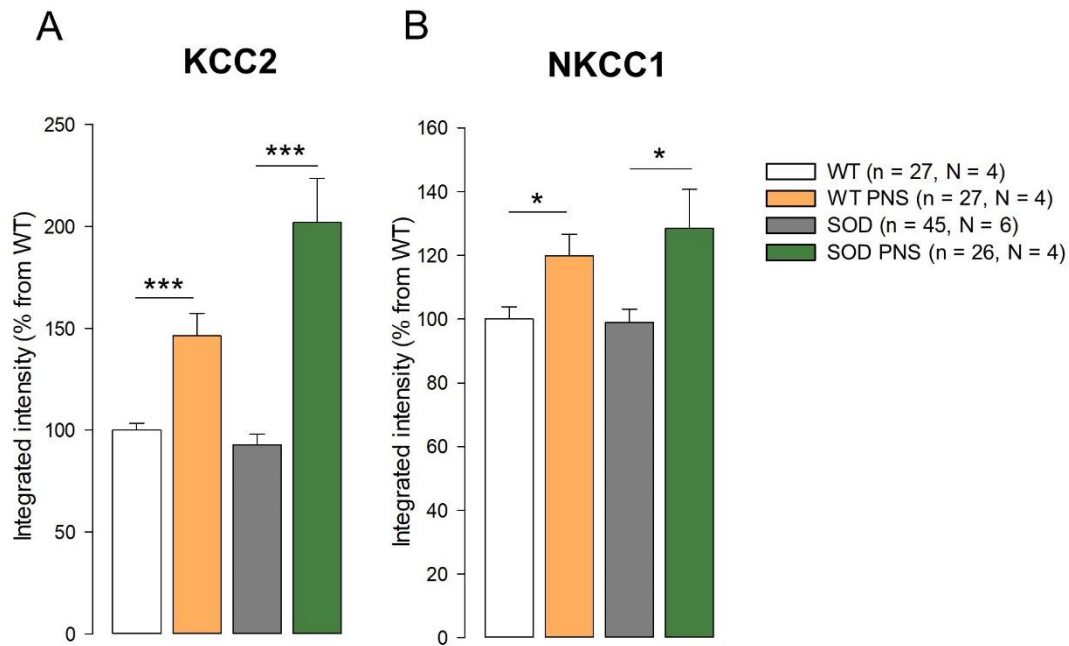


Figure 4. Effect of prenatal stress on global KCC2 and NKCC1 expression within M1 of WT and SOD mice. (A) PNS increased KCC2 expression in both WT and SOD mice. **(B)** NKCC1 expression was also increased in WT and SOD mice subjected to a PNS. Values are expressed as mean protein level percentages \pm SEM, normalized to mean values from WT samples. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$. n , number of stained hemispheres. N , number of animals.

3.3- Consequences of prenatal stress on plasma corticosterone levels

3.3.1- Basal corticosterone level is altered in SOD PNS but not WT PNS mice

PNS is known to impact the HPA axis functioning (Creutzberg et al., 2021; Glover et al., 2010), thus we first assessed HPA basal activity by measuring basal plasma CORT levels in control versus PNS mice.

Interestingly, while basal CORT levels (t_0) were similar between WT and WT PNS animals (WT: 49.95 ± 7.09 ng/mL vs. WT PNS: 68.16 ± 12.92 ng/mL; $t(16) = -1.03$; $p = 0.317$), SOD PNS animals expressed lower basal CORT levels compared to their SOD counterparts (SOD: 51.57 ± 5.75 ng/mL vs. SOD PNS: 27.98 ± 4.99 ng/mL; $t(21) = 2.99$; $p = 0.007$), suggesting a PNS-induced impairment of the HPA axis basal activity in SOD mice (see **Fig. 5A**). No significant changes were seen between WT and SOD ($p > 0.05$).

3.3.2- HPA axis is overactivated in PNS animals

In order to investigate whether a prenatal stress would induce an alteration of HPA axis reactivity, subgroups of PNS and control mice underwent additional acute restraint stress.

Following acute stress (t_{45}), WT PNS and SOD PNS mice expressed higher levels of plasma CORT than WT and SOD mice (WT stressed: 229.55 ± 17.77 ng/mL vs. WT PNS stressed: 361.51 ± 34.11 ng/mL; $t(8) = -3.43$; $p = 0.009$ and SOD stressed: 237.52 ± 16.11 ng/mL vs. SOD PNS stressed: 351.11 ± 41.22 ng/mL; $t(21) = 2.987$; $p = 0.007$, see **Fig. 5B**), which corroborates an HPA axis overactivity in animals exposed to early stress. After PNS, CORT level was not different in WT PNS vs. SOD PNS ($p > 0.05$). However, when comparing the mean percentage increase from CORT basal levels we showed superior increase in SOD PNS as compared to WT PNS (WT PNS: 79.36 ± 4.47 % vs. SOD PNS: 91.75 ± 2.03 %; $t(8) = -2.524$; $p = 0.036$; **Fig. 5C**). These data suggest a stronger activation of the HPA axis in SOD PNS mice compared to WT PNS animals.

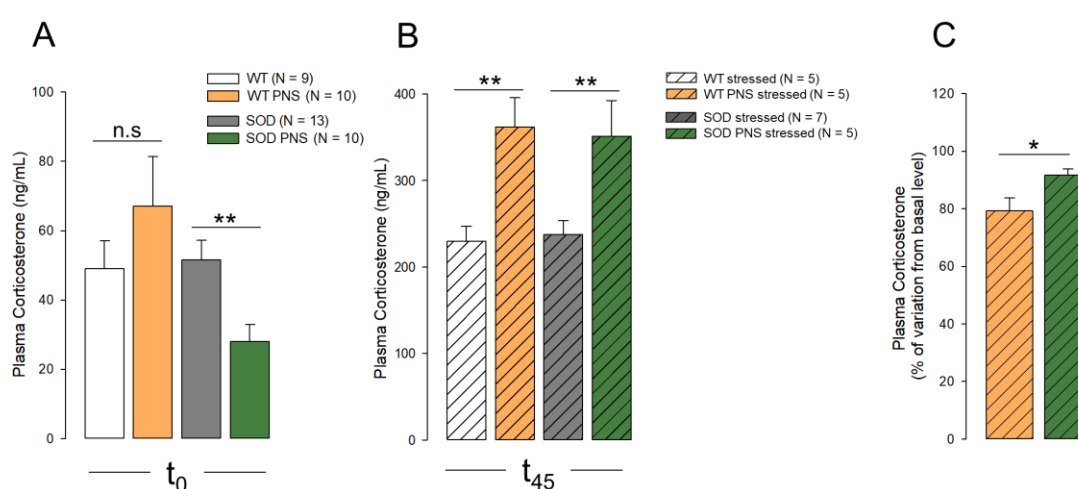


Figure 5. Prenatal stress influence on plasma corticosterone levels in WT and SOD mice. (A) Basal plasma corticosterone (CORT) levels at t_0 . Prenatal stress (PNS) did not significantly influence basal CORT level in WT but decrease it in SOD mice. **(B)** Plasma CORT levels at t_{45} . Both WT and SOD mice subjected to a PNS exhibited higher levels of CORT following an acute stress. **(C)** HPA reactivity between PNS groups. SOD PNS mice presented a higher HPA reactivity than WT PNS animals. Data are expressed as plasma CORT means (ng/mL) or mean HPA reactivity (% of variation from basal level) \pm SEM. *n.s.*, non significant $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$

4- Discussion

Early-life stress exposure can cause profound and permanent changes in brain structure and function in offspring. Reported modifications include delay or failure of progenitor migration in acquiring their appropriate connections (Bock et al., 2015; Hodes and Epperson, 2019), changes in neuroendocrine functions with a dysregulation of hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis (Glover et al., 2010; Jafari et al., 2017), neurogenesis deficiency (Lemaire et al., 2006; Schmitz et al., 2002), long lasting impairment of inhibitory GABA activity and synaptic plasticity in various brain regions (Bock et al., 2015; Glover et al., 2010; Painter et al.,

2012; Zhong et al., 2020) along with alteration in locomotor activity (Nishio et al., 2006). All those studies highlight the role of early life adversity in shaping a disordered brain, suggesting that PNS may have tremendous impact on the M1 and motor-associated pathologies such as ALS.

4.1- Evoked field potentials in M1

Consistent with our previous findings, we recorded reliable evoked responses in M1. A N1 component in the superficial layers, which we previously labelled as glutamatergic excitatory activity from pyramidal cells (PCs), and a N2-P1 complex in the deeper layers, identified as a GABAergic inhibitory activity rising from INs. Both responses appeared to be under inhibitory GABAergic control. Based on their recording localization and pharmacological profiles, it is possible that these components may reflect two M1 closed-loop circuits localized in the upper layers (L2/3) and in the lower layers (L5/6) (see Mazurie et al., *in preparation*).

4.2- Impact of prenatal stress on M1 plasticity

4.2.1- Long-term plasticity

We demonstrated here that WT mice, which underwent a PNS, displayed impaired ability of TBS stimulation to induce LTD in N1 excitatory component. In parallel, they also exhibited a strong LTD of the N2-P1 complex.

As suggested in our previous work, in control WT mice, TBS-induced LTD of excitatory N1 component stemmed from a potentiation of the GABAergic control towards PCs, aiming at preventing overexcitation of the network following stimulation. In addition, the concomitant lack of long-lasting changes in synaptic strength of the inhibitory N2-P1 complex could be due to a GABAergic control also exerted on N2-P1 (Mazurie et al., *in preparation*).

Therefore, the present results suggest that in WT, PNS reduces inhibitory control exerted toward PCs in M1, leading to an increase in its global activity. Consistent with this, in the hippocampus and frontal cortex, PNS has been linked with reduced inhibitory transmission, reflected by decrease in GABA metabolism (Matrisciano et al., 2012, 2013).

These findings mirror our previous reports on the impact of acute stress, which has been showed to alter synaptic plasticity through an increase in GABAergic INs excitability in WT. These neurons were thought to mediate disinhibition process, leading to overinhibition of INs involved in PCs inhibition following stress (Mazurie et al., *in preparation*). The effect of PNS on synaptic strength may probably rely on similar disinhibition mechanism through the increase

of excitability of the same INs. Uchida et al. (2014) reported in mice hippocampus and frontal cortex exposed to PNS, a loss of parvalbumin-positive INs at post-natal day (P60), and Lussier and Stevens, (2016) showed such variation of INs number was age- and structure-dependent. Together, these data suggest that similar INs number variations and/or INs excitability and activity impairment may occur in M1 of adult mice following PNS, leading to abnormal inhibitory transmission and subsequent plasticity changes.

Cortical INs in superficial and deep layers receive excitatory projections from PCs, and in turn shape excitatory activity by targeting PCs' perisomatic and dendritic domains (feedforward and feedback inhibitions, depending on the source of excitation) or receive inhibitory projections other inhibitory INs (disinhibition). Therefore, INs may be involved in different inhibitory circuits (McColgan et al., 2020; Tremblay et al., 2016). This will result in a differential regulation of the input, integration and output of information from PCs. In addition to excitatory synapses on GABAergic INs, inhibitory synapses on excitatory PCs as well as inhibitory synapses on GABAergic inhibitory interneurons can undergo different long term synaptic plasticity (Bannon et al., 2020; Castillo et al., 2011), rising the complexity of data interpretation.

Both inhibitory and excitatory synaptic plasticity can occur simultaneously (Castillo et al., 2011; Froemke, 2015), and same induction protocols have been reported to trigger LTP and LTD at excitatory and inhibitory synapses (Froemke, 2015; Huang et al., 2013; Kerkhofs et al., 2018). Thus, the TBS may trigger both LTP at inhibitory synapses on GABAergic inhibitory interneurons (reflected by the absence of LTD in N1 excitatory component), leading to cortical disinhibition, while eliciting LTD at inhibitory synapses from GABAergic INs onto PCs (reflected by the LTD of N2-P1 inhibitory complex). It is also plausible that projections from PCs onto INs preferentially targeting GABAergic neurons involved in disinhibition, underwent LTP following TBS, participating to the increase in PCs activity in M1.

Finally, we proposed that N1 and N2-P1 may possibly reflect cortical upper and lower loops activity respectively, and are likely to be interconnected (McColgan et al., 2020). Upper layers PCs in M1 notably send strong excitatory inputs onto deeper PCs and INs (Apicella et al., 2012). Due to the increase in excitatory activity in the context of stress following TBS, the upper layers' PCs may promote LTP of connections between GABAergic neurons and INs regulating PCs inhibition (disinhibition process), in the deeper layers of WT animals. Such mechanism may occur either through direct connections between upper PCs onto deeper INs involved in disinhibition, or indirect excitation of these same INs through connections between upper PCs and deeper PCs.

In other structures, such as the hippocampus or at corticostriatal synapses, impaired synaptic plasticity in PNS has been related to deficit in synaptic maturation (Grigoryan and Segal, 2016; Li et al., 2021). The authors reported a failure for a high frequency stimulation to induce LTD, rather, PNS mice displayed sustain LTP. Li et al., (2021) postulated that LTD occurrence in corticostriatal connections is a marker of synaptic maturation. A similar phenomenon may occur within M1, and may explain the behavioural delays in motor maturation reported in rodents following PNS (Patin et al., 2004).

In SOD mice, PNS did not further impact N1 component. However, it suppressed TBS-induced LTD of the N2-P1 complex. This decreased LTD of the inhibitory component suggests that PNS could promote inhibition in M1 of SOD mice. However, the absence of changes in the upper layers may be due to the pre-existing lack of inhibitory transmission in SOD mice, which may be too disturbed in upper layers to initiate depression of N1

Even though ALS disease is considered as an adult-onset pathology, study in our laboratory reported very early inhibitory dysfunction in SOD mice at E17.5 in spinal motor network (Branchereau et al., 2019). Cortical E/I imbalance in ALS is known to occur before symptoms onset (Brunet et al., 2020), but, to our knowledge, was never reported during embryonic development. If the immature cortical circuit also present early inhibitory alterations and neuronal excitability, mirroring spinal network, this early vulnerability may be exacerbated by PNS and account for the difference seen between WT and SOD animals. However, as previously mentioned, PNS can trigger durable changes in various neuronal features, including GABAergic function. Interaction between PNS-induced changes and ALS-dependent alterations throughout aging may occur in SOD mice leading to different outcomes regarding M1 plasticity. It remains to be determined whether the distinct influence of PNS on M1 between WT and SOD is due to an already disturbed immature cortical network following PNS, or to ALS-dependent alterations during aging or combination of both.

4.2.2- Short-term plasticity

All groups exhibited a PPI of N1 and N2-P1 components, regardless of the ISI. We previously mentioned the relevance of PPI in maintaining the M1 E/I balance (Mazurie et al. *in preparation*). Here, PNS did not significantly impact the PPI in both WT and SOD mice, however it tended to decrease short-term inhibition in N1, which is in accordance with the increase excitability observed in the upper layers of both WT and SOD mice which underwent a PNS. Moreover, N2-P1 short-term inhibition presented a trend toward an increase in WT PNS

and a decrease in SOD PNS, which is again in accordance with the differential effect of TBS-induced plasticity in the deeper layers between WT PNS and SOD PNS.

These data suggest that a stress occurring at a late embryonic stage may participate to the E/I imbalance in WT and SOD animals.

4.3- KCC2 and NKCC1 expression in M1 following prenatal stress

Both WT and SOD mice exposed to PNS exhibited in M1, as compare to control, a higher global level of KCC2 and, in a lesser extent, NKCC1.

Two studies have also reported KCC2 and NKCC1 upregulation following early life stress, in the hippocampus of P14 to P40 rats. Using a late-gestation maternal stress protocol, the first study demonstrated an increase of KCC2 expression at P21, but a decrease from P28 to P40 (Veerawatananan et al., 2016). The other study used an early postnatal maternal separation from P2 to P14 and showed increased levels of KCC2 at P40 (Hu et al., 2017). Both studies reported higher levels of KCC1 at P14 only.

In addition to regulating neuronal chloride homeostasis and GABAergic inhibitory efficiency, KCC2 has been shown to be a key regulator of cortical development and spinogenesis (Virtanen et al., 2021). Awad et al., (2018) showed that the KCC2-mediated spinogenesis in cortical organotypic cultures was blocked following increase of Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) levels, a KCC2 expression modulator (Kaila et al., 2014; Rivera et al., 2002). Moreover, PNS-induced reduction of levels of BDNF have been reported in rodent frontal cortex around P60 (Issa et al., 2010; Koo et al., 2003; Luoni et al., 2014). As a whole, these data suggest that PNS may favor KCC2-mediated spinogenesis in mature M1, maybe through BDNF down-regulation.

NKCC1 involvement in GABAergic transmission was mostly depicted in the immature brain (Liu et al., 2020). Stress influence on NKCC1 expression in the hippocampus and hypothalamus of the mature brain was linked with inhibitory deficits, and were associated with KCC2 downregulation (Gao et al., 2017; Tsukahara et al., 2016). However here, NKCC1 upregulation occurred along with KCC2 expression increase, thus it is not clear whether NKCC1 may induce inhibitory function deficiency in M1 of PNS mice, or serve another purpose. Contrarily to KCC2, which is specifically expressed in neurons, NKCC1 is more widely found, especially in glia in the mature brain (Virtanen et al., 2020). Recently, NKCC1 has been showed to be functionally active in adult mouse brain microglia, with a role in regulating inflammatory responses (Tóth et al., 2022). Reports on PNS altering microglia

morphology and activity (Diz-Chaves et al., 2012; Ślusarczyk et al., 2015) suggest that the observed NKCC1 upregulation may be in reaction to PNS-induced inflammatory response (see below).

4.4- Corticosterone levels between control and prenatal stressed mice

Contrarily to what was described in some studies (Luft et al., 2020; Rezaei et al., 2021; Szuran et al., 2000; Weinstock, 2008), WT PNS mice did not express higher basal CORT levels as compared with WT control animals. However, such increase may be protocol and gender dependent, as it is not a systematic finding (S. Chung et al., 2005) and was mostly observed in female rodents (Luft et al., 2020; Szuran et al., 2000; Weinstock, 2008). While basal CORT levels in SOD control was not different from WT control, SOD PNS mice displayed a significantly lower CORT level, suggesting an impairment of the HPA axis activity in these animals in basal condition.

Consistent with reports conducted in rodents (Creutzberg et al., 2021), we observed that PNS mice (SOD and WT) exhibited higher HPA axis reactivity following an acute stress compared to their counterparts. Using same mice ALS model, Fidler et al., (2011) reported aberrant serum corticosterone circadian rhythm in early symptoms onset of ALS, corroborating clinical data (Patacchioli et al., 2003; Spataro et al., 2015). Dysregulation of HPA axis in ALS has been linked with inflammatory processes with high levels of cytokines in both patients (Cereda et al., 2008; Lu et al., 2016; Poloni et al., 2000) and in late presymptomatic SOD1^{G93A} mice (Jeyachandran et al., 2015). Moreover, PNS has been related to cytokines increased levels as well (Enayati et al., 2020; Gur et al., 2017) and a bidirectional regulation exists between the HPA axis activity and the immune system through glucocorticoids and cytokines interactions (Eskandari et al., 2003). Thus, it is possible that HPA axis reactivity to acute stress, under circumstances promoting pro-inflammatory processes, as it should be the case in SOD PNS mice, may induce a runaway reaction of the HPA activity in these animals despite lower basal CORT levels.

5- Conclusion

As a whole, our data show, in mice, that PNS is able to alter the synaptic plasticity in the primary motor cortex during late adulthood. Similar to our previous findings regarding acute stress, PNS increased M1 activity of WT mice, but promoted its reduction in SOD mice. These plasticity changes were associated with chloride co-transporters KCC2 and NKCC1 increases, which could be linked with spinogenesis and inflammatory processes related to PNS. These

synaptic plasticity differences in M1 between WT and SOD mice may lie in the fact that the network is already altered in SOD animals. However, the maintenance of synaptic plasticity differential changes following PNS may, in combination with the already altered neural network in SOD mice, compromise the plastic capacity of the motor system and exacerbate the excitatory/inhibitory imbalance in the motor cortex in the context of ALS, leading to detrimental consequences.

6- References

- Alexander, G. E., DeLong, M. R., & Strick, P. L. (1986). Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annual Review of Neuroscience*, 9, 357-381. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.09.030186.002041>
- Ang, E. S. B. C., Gluncic, V., Duque, A., Schafer, M. E., & Rakic, P. (2006). Prenatal exposure to ultrasound waves impacts neuronal migration in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(34), 12903-12910. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605294103>
- Apicella, A. J., Wickersham, I. R., Seung, H. S., & Shepherd, G. M. G. (2012). Laminarly Orthogonal Excitation of Fast-Spiking and Low-Threshold-Spiking Interneurons in Mouse Motor Cortex. *Journal of Neuroscience*, 32(20), 7021-7033. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0011-12.2012>
- Awad, P. N., Amegandjin, C. A., Szczurkowska, J., Carriço, J. N., Fernandes do Nascimento, A. S., Baho, E., Chattopadhyaya, B., Cancedda, L., Carmant, L., & Di Cristo, G. (2018). KCC2 Regulates Dendritic Spine Formation in a Brain-Region Specific and BDNF Dependent Manner. *Cerebral Cortex*, 28(11), 4049-4062. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhy198>
- Bannon, N. M., Chistiakova, M., & Volgushev, M. (2020). Synaptic Plasticity in Cortical Inhibitory Neurons : What Mechanisms May Help to Balance Synaptic Weight Changes? *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14, 204. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00204>
- Ben-Ari, Y. (2002). Excitatory actions of gaba during development : The nature of the nurture. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(9), 728-739. <https://doi.org/10.1038/nrn920>
- Ben-Ari, Y. (2014). The GABA excitatory/inhibitory developmental sequence : A personal journey. *Neuroscience*, 279, 187-219. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.08.001>
- Bock, J., Wainstock, T., Braun, K., & Segal, M. (2015). Stress In Utero : Prenatal Programming of Brain Plasticity and Cognition. *Biological Psychiatry*, 78(5), 315-326. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.02.036>
- Branchereau, P., Martin, E., Allain, A.-E., Cazenave, W., Supiot, L., Hodeib, F., Laupénie, A., Dalvi, U., Zhu, H., & Cattaert, D. (2019). Relaxation of synaptic inhibitory events as a compensatory mechanism in fetal SOD spinal motor networks. *ELife*, 8, e51402. <https://doi.org/10.7554/eLife.51402>
- Brunet, A., Stuart-Lopez, G., Burg, T., Scekcic-Zahirovic, J., & Rouaux, C. (2020). Cortical Circuit Dysfunction as a Potential Driver of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 363. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00363>
- Castillo, P. E., Chiu, C. Q., & Carroll, R. C. (2011). Long-term plasticity at inhibitory synapses. *Current Opinion in Neurobiology*, 21(2), 328-338. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.01.006>
- Cereda, C., Baiocchi, C., Bongioanni, P., Cova, E., Guareschi, S., Metelli, M. R., Rossi, B., Sbalsi, I., Cuccia, M. C., & Ceroni, M. (2008). TNF and sTNFR1/2 plasma levels in ALS patients. *Journal of Neuroimmunology*, 194(1-2), 123-131. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2007.10.028>
- Chung, S., Son, G. H., Park, S. H., Park, E., Lee, K. H., Geum, D., & Kim, K. (2005). Differential Adaptive Responses to Chronic Stress of Maternally Stressed Male Mice Offspring. *Endocrinology*, 146(7), 3202-3210. <https://doi.org/10.1210/en.2004-1458>
- Chung, S. W., Hill, A. T., Rogasch, N. C., Hoy, K. E., & Fitzgerald, P. B. (2016). Use of theta-burst stimulation in changing excitability of motor cortex : A systematic review and meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 63, 43-64. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.01.008>
- Creutzberg, K. C., Sanson, A., Viola, T. W., Marchisella, F., Begni, V., Grassi-Oliveira, R., & Riva, M. A. (2021). Long-lasting effects of prenatal stress on HPA axis and inflammation : A systematic review and multilevel meta-analysis in rodent studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 127, 270-283. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.04.032>
- Diz-Chaves, Y., Pernía, O., Carrero, P., & Garcia-Segura, L. M. (2012). Prenatal stress causes alterations in the morphology of microglia and the inflammatory response of the hippocampus of adult female mice. *Journal of Neuroinflammation*, 9(1), 580. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-71>

- Donato, F., Rompani, S. B., & Caroni, P. (2013). Parvalbumin-expressing basket-cell network plasticity induced by experience regulates adult learning. *Nature*, *504*(7479), 272-276. <https://doi.org/10.1038/nature12866>
- Dum, R. P., Levinthal, D. J., & Strick, P. L. (2019). The mind–body problem : Circuits that link the cerebral cortex to the adrenal medulla. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *116*(52), 26321-26328. <https://doi.org/10.1073/pnas.1902297116>
- Enayati, M., Mosaferi, B., Homberg, J. R., Diniz, D. M., & Salari, A.-A. (2020). Prenatal maternal stress alters depression-related symptoms in a strain—And sex-dependent manner in rodent offspring. *Life Sciences*, *251*, 117597. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117597>
- Eskandari, F., Webster, J. I., & Sternberg, E. M. (2003). Neural immune pathways and their connection to inflammatory diseases. *Arthritis Research & Therapy*, *5*(6), 251-265. <https://doi.org/10.1186/ar1002>
- Fidler, J. A., Treleaven, C. M., Frakes, A., Tamsett, T. J., McCrate, M., Cheng, S. H., Shihabuddin, L. S., Kaspar, B. K., & Dodge, J. C. (2011). Disease progression in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis : The influence of chronic stress and corticosterone. *The FASEB Journal*, *25*(12), 4369-4377. <https://doi.org/10.1096/fj.11-190819>
- Froemke, R. C. (2015). Plasticity of Cortical Excitatory-Inhibitory Balance. *Annual review of neuroscience*, *38*, 195-219. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071714-034002>
- Fujiki, M., Kawasaki, Y., & Fudaba, H. (2020). Continuous Theta-Burst Stimulation Intensity Dependently Facilitates Motor-Evoked Potentials Following Focal Electrical Stimulation of the Rat Motor Cortex. *Frontiers in Neural Circuits*, *14*, 585624. <https://doi.org/10.3389/fncir.2020.585624>
- Gao, Y., Zhou, J.-J., Zhu, Y., Kosten, T., & Li, D.-P. (2017). Chronic Unpredictable Mild Stress Induces Loss of GABA Inhibition in Corticotrophin-Releasing Hormone-Expressing Neurons through NKCC1 Upregulation. *Neuroendocrinology*, *104*(2), 194-208. <https://doi.org/10.1159/000446114>
- Glover, V., O'Connor, T. G., & O'Donnell, K. (2010). Prenatal stress and the programming of the HPA axis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *35*(1), 17-22. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2009.11.008>
- Grèzes, J., Valabrègue, R., Gholipour, B., & Chevallier, C. (2014). A direct amygdala-motor pathway for emotional displays to influence action : A diffusion tensor imaging study. *Human Brain Mapping*, *35*(12), 5974-5983. <https://doi.org/10.1002/hbm.22598>
- Grigoryan, G., & Segal, M. (2016). Lasting Differential Effects on Plasticity Induced by Prenatal Stress in Dorsal and Ventral Hippocampus. *Neural Plasticity*, *2016*, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2016/2540462>
- Gur, T. L., Shay, L., Palkar, A. V., Fisher, S., Varaljay, V. A., Dowd, S., & Bailey, M. T. (2017). Prenatal stress affects placental cytokines and neurotrophins, commensal microbes, and anxiety-like behavior in adult female offspring. *Brain, Behavior, and Immunity*, *64*, 50-58. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.12.021>
- Gurney, M. E., Pu, H., Chiu, A. Y., Dal Canto, M. C., Polchow, C. Y., Alexander, D. D., Caliendo, J., Hentati, A., Kwon, Y. W., & Deng, H. X. (1994). Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu,Zn superoxide dismutase mutation. *Science (New York, N.Y.)*, *264*(5166), 1772-1775. <https://doi.org/10.1126/science.8209258>
- He, J. L., Fuelscher, I., Coxon, J., Chowdhury, N., Teo, W.-P., Barhoun, P., Enticott, P., & Hyde, C. (2019). Individual differences in intracortical inhibition predict motor-inhibitory performance. *Experimental Brain Research*, *237*(10), 2715-2727. <https://doi.org/10.1007/s00221-019-05622-y>
- Hodes, G. E., & Epperson, C. N. (2019). Sex Differences in Vulnerability and Resilience to Stress Across the Life Span. *Biological Psychiatry*, *86*(6), 421-432. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.04.028>
- Hu, D., Yu, Z.-L., Zhang, Y., Han, Y., Zhang, W., Lu, L., & Shi, J. (2017). Bumetanide treatment during early development rescues maternal separation-induced susceptibility to stress. *Scientific Reports*, *7*(1), 11878. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12183-z>
- Huang, S., Huganir, R. L., & Kirkwood, A. (2013). Adrenergic Gating of Hebbian Spike-Timing-Dependent Plasticity in Cortical Interneurons. *Journal of Neuroscience*, *33*(32), 13171-13178. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5741-12.2013>
- Issa, G., Wilson, C., Terry, A. V., & Pillai, A. (2010). An inverse relationship between cortisol and BDNF levels in schizophrenia : Data from human postmortem and animal studies. *Neurobiology of Disease*, *39*(3), 327-333. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.04.017>
- Jafari, Z., Mehla, J., Kolb, B. E., & Mohajerani, M. H. (2017). Prenatal noise stress impairs HPA axis and cognitive performance in mice. *Scientific Reports*, *7*, 10560. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09799-6>
- Jeyachandran, A., Mertens, B., McKissick, E. A., & Mitchell, C. S. (2015). Type I Vs. Type II Cytokine Levels as a Function of SOD1 G93A Mouse Amyotrophic Lateral Sclerosis Disease Progression. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00462>
- Kaila, K., Price, T. J., Payne, J. A., Puskarjov, M., & Voipio, J. (2014). Cation-chloride cotransporters in neuronal development, plasticity and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, *15*(10), 637-654. <https://doi.org/10.1038/nrn3819>
- Kerkhofs, A., Canas, P. M., Timmerman, A. J., Heistek, T. S., Real, J. I., Xavier, C., Cunha, R. A., Mansvelder, H. D., & Ferreira, S. G. (2018). Adenosine A2A Receptors Control Glutamatergic Synaptic Plasticity in Fast Spiking Interneurons of the Prefrontal Cortex. *Frontiers in Pharmacology*, *9*, 133. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00133>

- Koo, J. W., Park, C. H., Choi, S. H., Kim, N. J., Kim, H.-S., Choe, J. C., & Suh, Y.-H. (2003). Postnatal environment can counteract prenatal effects on cognitive ability, cell proliferation, and synaptic protein expression. *The FASEB Journal*, *17*(11), 1-27. <https://doi.org/10.1096/fj.02-1032fje>
- Lemaire, V., Lamarque, S., Le Moal, M., Piazza, P.-V., & Abrous, D. N. (2006). Postnatal Stimulation of the Pups Counteracts Prenatal Stress-Induced Deficits in Hippocampal Neurogenesis. *Biological Psychiatry*, *59*(9), 786-792. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.11.009>
- Li, Y., Rong, J., Zhong, H., Liang, M., Zhu, C., Chang, F., & Zhou, R. (2021). Prenatal Stress Leads to the Altered Maturation of Corticostriatal Synaptic Plasticity and Related Behavioral Impairments Through Epigenetic Modifications of Dopamine D2 Receptor in Mice. *Molecular Neurobiology*, *58*(1), 317-328. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02127-6>
- Liu, R., Wang, J., Liang, S., Zhang, G., & Yang, X. (2020). Role of NKCC1 and KCC2 in Epilepsy : From Expression to Function. *Frontiers in Neurology*, *10*, 1407. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01407>
- Lu, C.-H., Allen, K., Oei, F., Leoni, E., Kuhle, J., Tree, T., Fratta, P., Sharma, N., Sidle, K., Howard, R., Orrell, R., Fish, M., Greensmith, L., Pearce, N., Gallo, V., & Malaspina, A. (2016). Systemic inflammatory response and neuromuscular involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation*, *3*(4), e244. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000244>
- Luft, C., Levoices, I. P., Costa, M. S., Haute, G. V., Grassi-Oliveira, R., Oliveira, J. R., & Donadio, M. V. F. (2020). Exercise before pregnancy attenuates the effects of prenatal stress in adult mice in a sex-dependent manner. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *80*(2), 86-95. <https://doi.org/10.1002/jdn.10001>
- Luoni, A., Berry, A., Calabrese, F., Capoccia, S., Bellisario, V., Gass, P., Cirulli, F., & Riva, M. A. (2014). Delayed BDNF alterations in the prefrontal cortex of rats exposed to prenatal stress : Preventive effect of lurasidone treatment during adolescence. *European Neuropsychopharmacology*, *24*(6), 986-995. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.12.010>
- Lussier, S. J., & Stevens, H. E. (2016). Delays in GABAergic interneuron development and behavioral inhibition after prenatal stress. *Developmental Neurobiology*, *76*(10), 1078-1091. <https://doi.org/10.1002/dneu.22376>
- Marchisella, F., Creutzberg, K. C., Begni, V., Sanson, A., Wearick-Silva, L. E., Tractenberg, S. G., Orso, R., Kestering-Ferreira, É., Grassi-Oliveira, R., & Riva, M. A. (2021). Exposure to Prenatal Stress Is Associated With an Excitatory/Inhibitory Imbalance in Rat Prefrontal Cortex and Amygdala and an Increased Risk for Emotional Dysregulation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *9*. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcell.2021.653384>
- Matrisciano, F., Tueting, P., Dalal, I., Kadriu, B., Grayson, D. R., Davis, J. M., Nicoletti, F., & Guidotti, A. (2013). Epigenetic modifications of GABAergic interneurons are associated with the schizophrenia-like phenotype induced by prenatal stress in mice. *Neuropharmacology*, *68*, 184-194. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.04.013>
- Matrisciano, F., Tueting, P., Maccari, S., Nicoletti, F., & Guidotti, A. (2012). Pharmacological Activation of Group-II Metabotropic Glutamate Receptors Corrects a Schizophrenia-Like Phenotype Induced by Prenatal Stress in Mice. *Neuropsychopharmacology*, *37*(4), 929-938. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.274>
- McColgan, P., Joubert, J., Tabrizi, S. J., & Rees, G. (2020). The human motor cortex microcircuit : Insights for neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neuroscience*, *21*(8), 401-415. <https://doi.org/10.1038/s41583-020-0315-1>
- Morecraft, R. J., McNeal, D. W., Stilwell-Morecraft, K. S., Gedney, M., Ge, J., Schroeder, C. M., & van Hoesen, G. W. (2007). Amygdala interconnections with the cingulate motor cortex in the rhesus monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, *500*(1), 134-165. <https://doi.org/10.1002/cne.21165>
- Myers, B., McKlveen, J. M., & Herman, J. P. (2014). Glucocorticoid actions on synapses, circuits, and behavior : Implications for the energetics of stress. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *35*(2), 180-196. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2013.12.003>
- Nishio, H., Tokumo, K., & Hirai, T. (2006). Effects of perinatal stress on the anxiety-related behavior of the adolescence mouse. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *24*(4), 263-268. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2006.02.003>
- Painter, R. C., Roseboom, T. J., & de Rooij, S. R. (2012). Long-term Effects of Prenatal Stress and Glucocorticoid Exposure : Long-Term Effects of Stress and Glucocorticoid Treatment. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, *96*(4), 315-324. <https://doi.org/10.1002/bdrc.21021>
- Patacchioli, F. R., Monnazzi, P., Scontrini, A., Tremante, E., Caridi, I., Brunetti, E., Buttarelli, F. R., & Pontieri, F. E. (2003). Adrenal dysregulation in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Endocrinological Investigation*, *26*(12), RC23-RC25. <https://doi.org/10.1007/BF03349149>
- Patin, V., Vincent, A., Lordi, B., & Caston, J. (2004). Does prenatal stress affect the motoric development of rat pups? *Developmental Brain Research*, *149*(2), 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.devbrainres.2003.12.008>
- Poloni, M., Facchetti, D., Mai, R., Micheli, A., Agnoletti, L., Francolini, G., Mora, G., Camana, C., Mazzini, L., & Bachetti, T. (2000). Circulating levels of tumour necrosis factor-alpha and its soluble receptors are increased in the blood of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroscience Letters*, *287*(3), 211-214. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(00\)01177-0](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(00)01177-0)

- Rakic, P. (1988). Specification of cerebral cortical areas. *Science (New York, N.Y.)*, 241(4862), 170-176. <https://doi.org/10.1126/science.3291116>
- Rezaei, Z., Jafari, Z., Afrashteh, N., Torabi, R., Singh, S., Kolb, B. E., Davidsen, J., & Mohajerani, M. H. (2021). Prenatal stress dysregulates resting-state functional connectivity and sensory motifs. *Neurobiology of Stress*, 15, 100345. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100345>
- Rivera, C., Li, H., Thomas-Crusells, J., Lahtinen, H., Viitanen, T., Nanobashvili, A., Kokaia, Z., Airaksinen, M. S., Voipio, J., Kaila, K., & Saarna, M. (2002). BDNF-induced TrkB activation down-regulates the K⁺-Cl⁻ cotransporter KCC2 and impairs neuronal Cl⁻ extrusion. *The Journal of Cell Biology*, 159(5), 747-752. <https://doi.org/10.1083/jcb.200209011>
- Saba, L., Viscomi, M. T., Caioli, S., Pignataro, A., Bisicchia, E., Pieri, M., Molinari, M., Ammassari-Teule, M., & Zona, C. (2016). Altered Functionality, Morphology, and Vesicular Glutamate Transporter Expression of Cortical Motor Neurons from a Presymptomatic Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cerebral Cortex*, 26(4), 1512-1528. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu317>
- Schmitz, C., Rhodes, M. E., Bludau, M., Kaplan, S., Ong, P., Ueffing, I., Vehoff, J., Korr, H., & Frye, C. A. (2002). Depression : Reduced number of granule cells in the hippocampus of female, but not male, rats due to prenatal restraint stress. *Molecular Psychiatry*, 7(7), 810-813. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001118>
- Ślusarczyk, J., Trojan, E., Głombik, K., Budziszewska, B., Kubera, M., Lasoń, W., Popiołek-Barczyk, K., Mika, J., Wędzony, K., & Basta-Kaim, A. (2015). Prenatal stress is a vulnerability factor for altered morphology and biological activity of microglia cells. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00082>
- Spataro, R., Volanti, P., Vitale, F., Meli, F., Colletti, T., Di Natale, A., & La Bella, V. (2015). Plasma cortisol level in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 358(1-2), 282-286. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.09.011>
- Summers, T. R., Matter, J. M., McKay, J. M., Ronan, P. J., Larson, E. T., Renner, K. J., & Summers, C. H. (2003). Rapid glucocorticoid stimulation and GABAergic inhibition of hippocampal serotonergic response : In vivo dialysis in the lizard *anolis carolinensis*. *Hormones and Behavior*, 43(1), 245-253. [https://doi.org/10.1016/S0018-506X\(02\)00014-4](https://doi.org/10.1016/S0018-506X(02)00014-4)
- Szuran, T. F., Pliška, V., Pokorny, J., & Welzl, H. (2000). Prenatal stress in rats : Effects on plasma corticosterone, hippocampal glucocorticoid receptors, and maze performance. *Physiology & Behavior*, 71(3-4), 353-362. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(00\)00351-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(00)00351-6)
- Tóth, K., Lénárt, N., Berki, P., Fekete, R., Szabadits, E., Pósfai, B., Cserép, C., Alatshan, A., Benkő, S., Kiss, D., Hübner, C. A., Gulyás, A., Kaila, K., Környei, Z., & Dénes, Á. (2022). The NKCC1 ion transporter modulates microglial phenotype and inflammatory response to brain injury in a cell-autonomous manner. *PLoS Biology*, 20(1), e3001526. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001526>
- Tremblay, R., Lee, S., & Rudy, B. (2016). GABAergic Interneurons in the Neocortex : From Cellular Properties to Circuits. *Neuron*, 91(2), 260-292. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.033>
- Tsukahara, T., Masuhara, M., Iwai, H., Sonomura, T., & Sato, T. (2016). The effect of repeated stress on KCC2 and NKCC1 immunoreactivity in the hippocampus of female mice. *Data in Brief*, 6, 521-525. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2015.12.041>
- Uchida, T., Furukawa, T., Iwata, S., Yanagawa, Y., & Fukuda, A. (2014). Selective loss of parvalbumin-positive GABAergic interneurons in the cerebral cortex of maternally stressed Gad1-heterozygous mouse offspring. *Translational Psychiatry*, 4(3), e371-e371. <https://doi.org/10.1038/tp.2014.13>
- Veerawatananan, B., Surakul, P., & Chutabhakdikul, N. (2016). Maternal restraint stress delays maturation of cation-chloride cotransporters and GABAA receptor subunits in the hippocampus of rat pups at puberty. *Neurobiology of Stress*, 3, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2015.12.001>
- Virtanen, M. A., Uvarov, P., Hübner, C. A., & Kaila, K. (2020). NKCC1, an Elusive Molecular Target in Brain Development : Making Sense of the Existing Data. *Cells*, 9(12), 2607. <https://doi.org/10.3390/cells9122607>
- Virtanen, M. A., Uvarov, P., Mavrovic, M., Poncer, J. C., & Kaila, K. (2021). The Multifaceted Roles of KCC2 in Cortical Development. *Trends in Neurosciences*, 44(5), 378-392. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2021.01.004>
- Wang, T., Sinha, A. S., Akita, T., Yanagawa, Y., & Fukuda, A. (2018). Alterations of GABAergic Neuron-Associated Extracellular Matrix and Synaptic Responses in Gad1-Heterozygous Mice Subjected to Prenatal Stress. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2018.00284>
- Watanabe, M., & Fukuda, A. (2015). Development and regulation of chloride homeostasis in the central nervous system. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2015.00371>
- Weinstock, M. (2008). The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32(6), 1073-1086. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.03.002>
- Wischniewski, M., & Schutter, D. J. L. G. (2015). Efficacy and Time Course of Theta Burst Stimulation in Healthy Humans. *Brain Stimulation*, 8(4), 685-692. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2015.03.004>
- Wosiski-Kuhn, M., Erion, J. R., Gomez-Sanchez, E. P., Gomez-Sanchez, C. E., & Stranahan, A. M. (2014). Glucocorticoid receptor activation impairs hippocampal plasticity by suppressing BDNF expression in obese mice. *Psychoneuroendocrinology*, 42, 165-177. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.01.020>

- Wu, C.-W., Chiu, W.-T., Hsieh, T.-H., Hsieh, C.-H., & Chen, J.-J. J. (2018). Modulation of motor excitability by cortical optogenetic theta burst stimulation. *PLOS ONE*, *13*(8), e0203333. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203333>
- Zhong, H., Rong, J., Zhu, C., Liang, M., Li, Y., & Zhou, R. (2020). Epigenetic Modifications of GABAergic Interneurons Contribute to Deficits in Adult Hippocampus Neurogenesis and Depression-Like Behavior in Prenatally Stressed Mice. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, *23*(4), 274-285. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyaa020>

Chapitre 3 : Influence du stress sur les apprentissages et la progression de la SLA

1- Présentation

Enfin, ce troisième article s'est appliqué à déterminer si les changements de la plasticité du réseau M1-M1 observés en cas de stress, qu'il soit aigu ou administré très tôt dans la vie, étaient associés à des modifications des apprentissages moteurs, mais également cognitifs. Les données montrant que patients atteints de SLA comme les modèles murins pouvaient présenter au-delà des symptômes moteurs, des déficits cognitifs.

À cette fin, les souris WT et SOD soumises à un stress (aigu à l'âge adulte ou prénatal), ont été testées à l'âge de 10-12 semaines sur leurs performances au cours de tests comportementaux évaluant la coordination motrice ainsi que les mémoires spatiale et indicée, respectivement à l'aide d'un beam test et d'un labyrinthe de Barnes. Une estimation du niveau d'« anxiété » général a été au préalable réalisée chez les souris WT et SOD contrôle, ainsi que chez les souris ayant subi un stress prénatal, et ce en utilisant un labyrinthe en croix surélevé. Dans un deuxième temps, une mesure hebdomadaire de la force musculaire des souris, via un test de grille inversée, ainsi que le taux de survie des animaux SOD au cours du temps a permis d'évaluer l'influence d'un stress sur la progression de la SLA.

Le stress prénatal n'a eu aucun effet sur les niveaux d'anxiété des souris, quel que soit leur génotype. En revanche, les performances dans l'utilisation d'une stratégie de mémoire spatiale, dépendante de l'hippocampe s'en sont trouvées altérées chez les WT comme chez les SOD, de même que les performances motrices. Le stress aigu n'a quant à lui eu aucune incidence sur la coordination motrice des animaux, mais a négativement impacté la mémoire spatiale chez les souris WT et SOD. Enfin, si le stress aigu n'a pas semblé affecter la progression de la SLA, le stress prénatal aurait tendance à en précipiter les symptômes, sans pour autant influencer la survie des animaux.

Ces résultats ont mis en évidence que le stress influençait les performances motrices et cognitives chez les animaux WT et SOD à un stade présymptomatique. Cependant seul le stress prénatal a eu un impact sur la fonction motrice, avec de potentielles conséquences néfastes sur l'évolution de la SLA, ce qui pourrait être en lien avec les modifications de la plasticité observées au cours des études précédentes.

2- Article 3

Stress Impact on Motor and Cognitive Learnings along with ALS Progression in SOD1^{G93A} Mice

Zoé Mazurie, Pascal Branchereau, Jean-Louis Guillou, Nathalie Argenta, Rose-Marie Vouimba

Université de Bordeaux, Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France; CNRS, INCIA, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France

Corresponding author: Zoé Mazurie; Address: INCIA - UMR 5287 - Université de Bordeaux - Zone nord Bat. 2 - 2ème étage - 146, rue Léo Saignat 33076 Bordeaux cedex; E-mail address: zoe.mazurie@gmail.com

Running title: Stress impact on learnings and ALS progression in SOD1^{G93A} mice

Disclosure Statement: All authors have seen and approved the manuscript. The authors report no conflicts of interest. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Author contributions: P.B, J-L.G, R-M.V, N.A and Z.M designed the research; Z.M performed behavioural testing under the guidance of J-L.G; Z.M conducted data analysis and drafted the manuscript; R-M.V and Z.M wrote the article. All authors provided revision of the manuscript.

Abstract

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) leads to the degeneration of both upper (in the motor cortex) and lower (spinal cord and brainstem) motor neurons. The disease is characterized by an early cortical hyperexcitability due to excitatory/inhibitory transmissions imbalance. As an adult-onset condition with a fast evolution leading to death within 3 to 5 years following symptoms onset, ALS may result from the interaction between genetic and environmental factors. Stress could be a main contributing factor, as it has been showed to exacerbate neurodegenerative diseases and to cause excitatory/inhibitory transmission imbalance and aberrant synaptic plasticity in structures involved in emotional processing. We recently showed, using the SOD1^{G93A} (SOD) mouse model of ALS, that both acute and prenatal stress impaired synaptic plasticity in the primary motor cortex (M1) in both WT and SOD mice. As changes in synaptic strength are a key mechanism by which memory are stored in the brain, stress-induced long-term synaptic changes in M1 raise the question of its contribution in motor learnings as well as its impact on the ongoing course of the disease. Our aim was therefore to determine whether the profile of synaptic plasticity we previously observed in the M1 of SOD and WT mice following acute or prenatal stress, was associated with distinct motor and/or non-motor learning performances as well as basal anxiety level. Motor coordination, spatial and cue memory were evaluated using a beam apparatus and a Barnes maze, while anxiety was assessed using an elevated plus maze. We also investigated whether stress may precipitate symptoms evolution and/or survival rate in SOD animals by measuring muscle strength and survival rate through the hanging grid wire test and endpoints criteria assessment, respectively. We showed that SOD animals expressed a higher anxiety level, which was not amplified by PNS. The evaluation of learning abilities showed that all animals favour a spatial strategy over a cue strategy. However, SOD animals displayed deficit in both learning strategies. Stress impaired spatial learning in both WT and SOD and did not lead to a strategy shift, as reported before. Interestingly, acute stress has a stronger impact than PNS on spatial learning but PNS hold a stronger impact on motor performance impairment. Finally, while SOD PNS mice tended to present motor symptoms earlier than SOD non stressed animals, neither acute nor prenatal stress significantly influenced ALS survival in symptomatic SOD mice. Motor impairment in PNS animals may possibly be linked with the PNS-induced plasticity changes we observed in M1 during our previous work.

Keywords: acute stress, amyotrophic lateral sclerosis, behaviour, memory, motor, prenatal stress, sod

1- Introduction

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a debilitating neurodegenerative condition and the most common adult motor neuron disease, with a prevalence of about 2-5 per 100 000 individuals (Chiò et al., 2013). It is characterized by the degeneration of both upper and lower motor neurons, which leads to muscle weakness and eventual paralysis. One of the earliest and symptomatic features of both sporadic and familial forms of ALS is a cortical hyperexcitability, due to excitatory and inhibitory transmissions impairment (Brunet et al., 2020; Gunes et al., 2020a). ALS has an obscure cause and currently there is no effective treatment to halt or reverse the progression of the disease (Abe et al., 2017; Saitoh and Takahashi, 2020). As an adult-onset condition with a fatal issue occurring within 3 to 5 years after symptoms begin, ALS may be resulting from the interaction between genetic susceptibility and environmental exposure. To date, there is no conclusive environmental risk factor clearly identified (Bozzoni, 2016).

However, stress could play an important role in ALS progression, as it has been reported to be a major contributing factor for neurodegeneration in both Parkinson and Alzheimer diseases (Dallé and Mabandla, 2018; Hoeijmakers et al., 2017; Piirainen et al., 2017; Sotiropoulos and Sousa, 2016; van Wamelen et al., 2020). Moreover, whether acute or chronic, stress is known to cause cognitive alterations, through changes in synaptic plasticity and excitability in structures involved in learning and memory (Joëls et al., 2007; McEwen et al., 2016; Pittenger and Duman, 2008). Recently, we have reported in the SOD1^{G93A} mouse model of ALS, that both acute and prenatal stress impaired synaptic plasticity in the primary motor cortex (M1), a central hub of voluntary movements control, motor learning and motor-related decisions (Bhattacharjee et al., 2021; C. Lee et al., 2022; Sanes and Donoghue, 2000). Enduring changes in M1 synaptic strength, such as long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) may underlie, motor learning and memory storage, in addition to sustain functional stability of the network (Donato et al., 2013). Congruent with this, evidences showed that M1 synapses underwent synaptic plasticity following motor learning (Bütefisch et al., 2000; Chen et al., 2015; Costa et al., 2004; Dayan and Cohen, 2011; Karni et al., 1995; Kida et al., 2016; Monfils et al., 2005). Moreover, stress in rodents was associated with a 15 % loss of synaptic contacts, which correlated with motor learning deficits (Gellner et al., 2022). Taken together, these data suggest that stress-induced aberrant synaptic plasticity in ALS may underlie motor learning deficit and influence the ongoing course of the disease.

Beyond motor function, stress could have a broader impact on non-motor learning as well. In fact, ALS is conventionally classified as a pure motor disease, but new imaging and neuropathological data have indicated cognitive abnormalities. About, fifty percent of ALS

patients present non-motor symptoms, including frontal executive skills and memory deficits, which has been linked with hippocampal reduction of grey matter volume (Beeldman et al., 2016; Ringholz et al., 2005; Wheaton et al., 2007). Therefore, non-motor cognitive alterations present along the course of ALS disease may be influenced by stress.

In this study, our aim was to determine whether the differential profile of synaptic plasticity we observed in SOD1^{G93A} (SOD) mouse model of ALS vs. wild type (WT) mice following acute or prenatal stress (Mazurie et al., *in preparation*), was associated with distinct motor and non-motor learning abilities. Additionally, we sought to investigate whether stress may precipitate symptoms evolution and/or mortality rate in SOD animals.

Using a beam apparatus and a Barnes maze, we evaluated motor coordination, as well as spatial and cue learning and memory in WT and SOD adult mice exposed to either a prenatal stress or an acute restraint stress during adulthood. Muscle atrophy and survival rate were also monitored in SOD animals, through the hanging grid wire test and endpoints criteria assessment, respectively.

2- Material and Methods

2.1- Ethical considerations and subjects

All experiments were realized in accordance with the guidelines of ethics committee of the University of Bordeaux and European Committee Council directives of 1st February 2013 (2010/63/EU).

The B6-SJL-TgN (SOD1*G93A)1Gur/J (SOD1^{G93A}) transgenic mouse line, expressing the human G93A Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) mutation (Gly93>Ala substitution, high transgene copy number), was used for all experiments. Mice were obtained from the Jackson Laboratory (<https://www.jax.org/strain/002726>), and the maintenance of heterozygous B6SJLTgN(SOD1-G93A)/1Gur/J lineage (named SOD in the present study) was performed by crossing heterozygous transgene-positive male mice with B6SJL F1 hybrid females (Janvier labs, Le Genest-Saint-Isle, France).

Pregnant mice were housed alone before delivery and male descendance was housed in groups of five in large Plexiglas cages with access to food and water *ad libitum* under a standard 12h light/dark schedule. Male animals only underwent experiments during the light phase of the cycle at approximatively 10 to 12 weeks of age (which corresponds to a late presymptomatic stage in SOD mice, see Gurney et al., 1994). During late-stage disease, access to food and water

were facilitated. Euthanasia was realized when disease endpoint was met (functional paralysis of two limbs).

Animals were first separated in four groups, with two groups which were subjected to a prenatal stress (PNS: WT PNS and SOD PNS) and two control groups (WT and SOD). PNS was induced by exposing pregnant mice to a repeated restrain stress from embryonic (E) day 16 to E18. Animal were further subdivided into two subgroups which underwent or not an additional acute stress before procedures, leading to six final experimental groups (WT, WT stressed, WT PNS, SOD, SOD stressed and SOD PNS).

2.2- Stress protocol

Prenatal stress (PNS) was induced as described before (Mazurie et al., *in preparation*) by individually placing pregnant mice in a transparent tube with ventilation holes (internal diameter 33 mm; length 105 mm) for 45 min once a day, during the last three days of gestation (E16 to E18). Male descendance constituted the PNS groups, and control groups originated from pregnant mice which were left undisturbed in their home cages. Among these control groups, some mice underwent an additional acute restraint stress after reaching adulthood, around 10 weeks of age. The procedure was the same as described above (tube: internal diameter 28 mm; length 105 mm) and last 45 min right before experiments.

2.3- Behavioural procedures

Adult male mice (~P70) were tested in consecutive behavioural paradigms in a fixed order to evaluate basal anxiety level, spatial memory and motor coordination within one week, before a weekly assessment of body weight, muscular strength and survival rate. The same animals underwent all successive tests, in the order seen in **Fig. 1**.

2.3.1- Elevated Plus Maze

Because psychological stress impact is closely related to anxiety traits and anxiety state (de Kort et al., 2021), we evaluated basal anxiety-like behaviour in SOD and WT non-stressed and PNS animals using an Elevated Plus Maze (EPM) apparatus. The device was made of grey polyvinylcarbonate and was composed of four arms surrounding a 7 cm square central platform placed 60 cm above the ground. Each arm was 30 cm long and 7 cm wide, with two opposite arms bordered by 24 cm-high sidewalls with an opening at the top (closed arms). The two opposite remaining arms were exposed to a ~ 45-50 lux light intensity (open arms). Each animal was placed in the central platform in a cylinder (diameter 7 cm; high 17 cm) during 30 s before

starting the test. After cylinder removal, the mouse was allowed to freely explore the whole maze during 8 min. The apparatus was cleaned between each animal with a 5% alcohol solution. The number of entries in each arm, times in open and closed arms and latencies to come in were measured. An entry was counted when the mouse entered an arm with all four feet. Mice which fell down were excluded from analyses.

2.3.2- Barnes test

Animals underwent a dual solution task in a Barnes maze. The task can be solved by using either a hippocampus-dependent spatial mapping or a dorsal striatum-dependent single cue association, two learning processes which are sensitive and insensitive to stress respectively (Martel et al., 2007; Schwabe et al., 2007).

The Barnes maze was constituted of a grey circular platform (diameter 110 cm), placed 80 cm above the floor, with a total of 20 holes (diameter 5 cm) positioned circularly alongside the maze edge. The platform was surrounded by several visual cues on the walls that were left in the same position during the whole experiment. The platform was lighted with bright light (250 lux) and exposed to a gentle wind provided by a fan in order to motivate the animals to escape. Each mouse was placed in the center of the maze in the same cylinder as described above for 30 s before starting sessions. After cylinder removal, mice were free to explore the maze, which was cleaned between each animal. Trials were recorded using a video camera positioned above the maze and analyzed with a video tracking software (Videotrack, Champagne au mont d'or, France).

The experiment comprises three phases, spanning over two days. During the *first day*, mice underwent a habituation session during which they freely explore the platform during 90 s in order to become familiar with this novel environment. During this session, a cue was positioned on the apparatus behind one of the holes (see **Fig. 1**).

The acquisition phase began immediately after the habituation. One of the hole gave access to a shelter (dark box, 18x10x10cm, with fresh litter on its floor) which was hidden below the maze. The cue was moved behind the same hole (see **Fig. 1**). Animals performed 6 trials with a 180 s time limit to enter the shelter. The inter-trials interval corresponds to the time needed to clean the apparatus (5 % alcohol solution). If the mouse reached the shelter, it was left inside during 30 seconds before being removed from it. If the animal failed to escape within the allocated time, it was gently guided toward it by hand. Mice which constituted the stressed groups were subjected to a 45 min acute restraint stress, as described above, right before the acquisition. Escape latency was measured for each trial.

The retrieval was assessed the *next day* during the probe session. The procedure was the same as described in the habituation phase. The escaped box was removed (place hole) with the cue positioned behind the opposite hole (cue hole) and mice explored freely the maze during 90 s (see **Fig. 1**). Latency to reach holes, number of entries in holes areas and amount of time passed in it were quantified. Preference towards the place hole is indicative of a hippocampus-mediated spatial memory strategy, whereas preference towards the cue hole is reflective of a striatum-mediated cue memory strategy (Schwabe and Wolf, 2013).

2.3.3- Beam Walking Test

The Beam walking test was intended to assess fine motor coordination and balance. The goal was for the mouse to stay upright and walk across an elevated narrow beam to a safe platform. We used a modified beam walking test paradigm, based on protocol of Prévôt et al. (2017).

The apparatus was constituted of a 1-meter-long beam positioned 80 cm above the floor linking a start platform (3 x 4 cm) to a dark compartment. At the beginning of trials, each mouse was placed on the start platform, which was exposed to a bright light (300 lux) to motivate the animal to cross the beam and reach the dark compartment. In case of fall, the floor was covered with foam to prevent mice from getting injured. Once the mouse had reached the compartment, it was left inside during 20 seconds before being removed from it. The protocol was constituted of two phases, spread over two successive days.

During the *first day*, the mice were trained to cross three different beams with a gradual difficulty depending on their shape and thickness: a first 10 mm square beam was followed by a 15 mm round beam and a final 8 mm square beam (see **Fig. 1**). Mice performed 3 trials per beam and had a time limit of 2 minutes to cross the beam. The time to cross the beam was then quantified as a variable reflecting mice performance. Trials during which animals fell down or did not cross the beam were removed from analyses.

On *day two*, animals were tested again on the same beams they crossed during the training phase, before experiencing a final new 10 mm round beam. Mice composing the stressed groups were subjected to a 45 min acute restraint stress, as described above, right before the testing (see **Fig. 1**). Animals realized 2 trials per beam and time to cross the beam is presented as mean of the two successive trials for each beam. As for the training phase, trials during which animals fell down were removed from analyses

2.3.4- Hanging-wire grid test

Neuromuscular strength was assessed by means of the hanging-wire test. Mice were tested weekly from 10 weeks of age until two legs paralysis leading to euthanasia. Each animal was individually placed onto a 43 cm-long square wire grid (12 mm squares) which was gently turned upside down and maintained 60 cm above a housing cage filled with foam to avoid injuries. The wire grid was surrounded by borders (4 cm) to prevent the mice from going back up. The latency to fall from the grid was measured for each trial with a time limit of 60 seconds per session, and the higher latency among the three trials was used for subsequent analyses.

2.3.5- Weight and survival rate

As for muscular strength, body weight measurements were assessed weekly from post-natal week 10 until the sacrifice of the animals, which occurred when disease endpoint was met (functional paralysis of posterior limbs). The last day of survival corresponded to the day when euthanasia was realized.

2.4- Statistical Analysis

IBM SPSS Statistics software for Windows, v. 20 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA) was used to perform statistical analyses. Normality of the data was assessed with a Shapiro Wilk normality test, and *P*-values less than 0.05 were considered statistically significant. Independent continuous variables and paired variables were compared using non-parametric Mann-Whitney and Wilcoxon tests, respectively. Mice survival comparisons were performed using the Kaplan-Meier method (log-rank test). If not said otherwise, variables are expressed as mean \pm SEM. Repeated measures ANOVA (Greenhouse-Geisser correction) was performed for group comparisons of repeated variables. Significant between groups effect led to simple main effects analyses. Two-tailed Spearman's rank correlation was used for comparisons correlation analyses of quantitative variables.

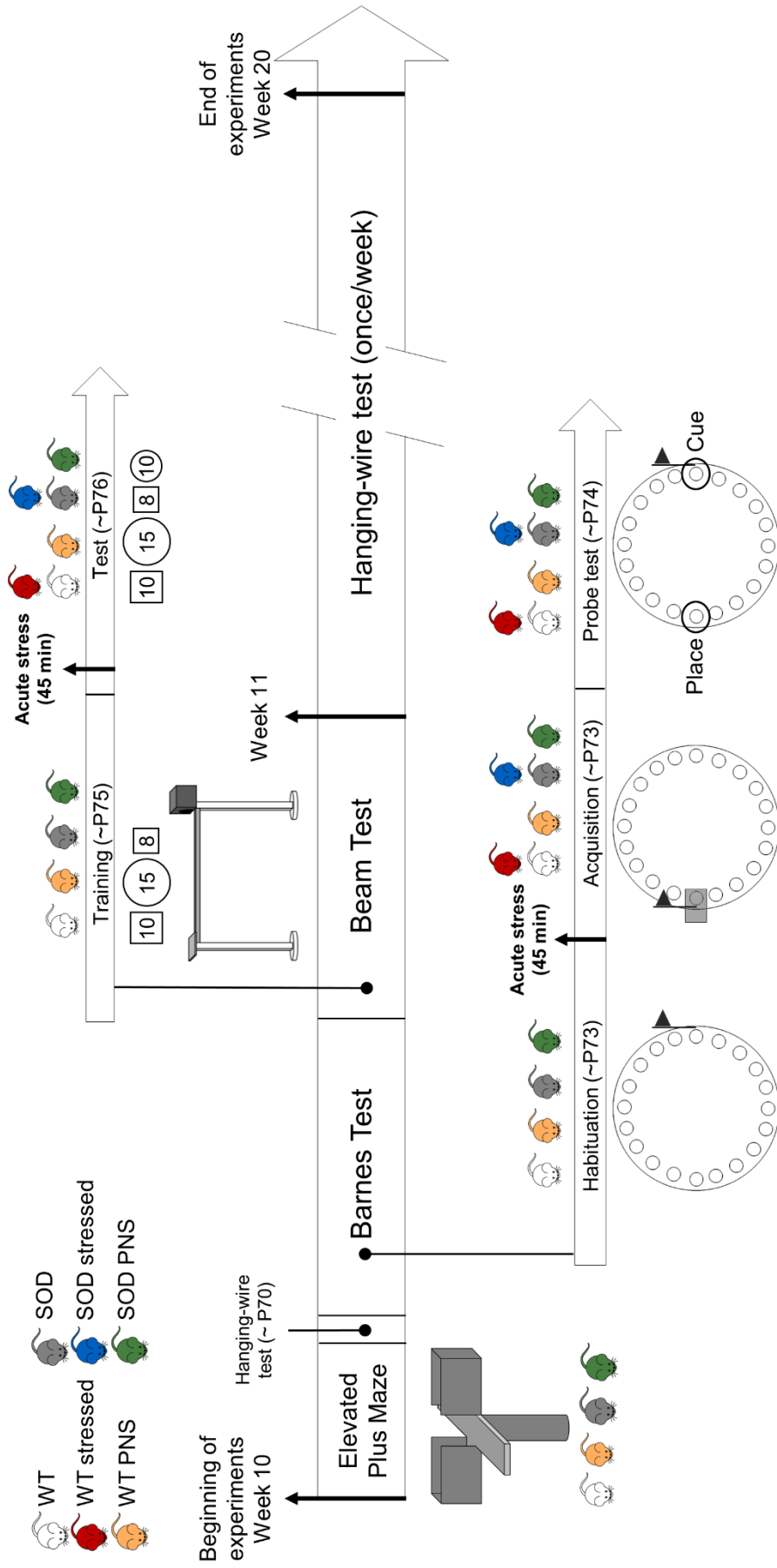


Figure 1. Workflow diagram of behavioural protocols. Experiments started at the beginning of post-natal week 10 and end at week 20 or when disease endpoint was met. Mice first underwent anxiety-like behaviour assessment using an EPM apparatus (one 8 min-duration trial). Learning and memory was then assessed with a Barnes maze over two days. The first day corresponded to a habituation phase (one 90 s-duration trial) with a cue positioned behind one hole. It was immediately followed by an acquisition phase (6 trials, 180 s each), before which some of the animals were subjected to a 45 min acute restraint stress. During this phase an escape box (the shelter) was connected to one hole with the cue placed behind it. The probe test occurred the next day (one 90 s-duration trial), the escape box was removed (place hole) and the cue was positioned behind the opposite hole (cue hole). Motor coordination was then assessed through the Beam test during two days. Mice were trained to cross different beams in shape and thickness (illustrated here by the squares and rounds with numbers) with increasing difficulty during the first day (3 trials/beam, 120 s each). They were tested the next day on the same beams plus a new one at the end (2 trials/beam, 120 s each). The same mice that were stressed during the Barnes test underwent a second acute restraint stress just before the test. Muscular strength was tested every week using a hanging wire grid test (3 trials of 60 s).

3- Results

3.1- Anxiety-like behaviour assessment

We used an EPM apparatus in order to evaluate basal anxiety level before assessing cognitive and motor abilities. Globally, all SOD mice spent less time in open arms as compared with WT mice, suggesting a higher anxiety-like behaviour in these animals (WT: 30.46 ± 1.76 % v.s. SOD: 23.45 ± 2.19 %, $U = 12.0$, $z = -2.25$, $p = 0.025$, see **Fig. 2**). PNS did not increase anxiety level since both WT and SOD mice displayed similar percentages of time passed in open arms than their respective counterparts (WT PNS: 26.99 ± 2.58 %, $U = 55.0$, $z = -0.50$, $p = 0.643$ and SOD PNS: 23.12 ± 2.19 %, $U = 90.5$, $z = -0.02$, $p = 0.981$, see **Fig. 2**). Finally, WT and SOD mice from the future acute stressed groups were not different from the control mice either ($p > 0.05$ in both cases, see **Fig. 2**).

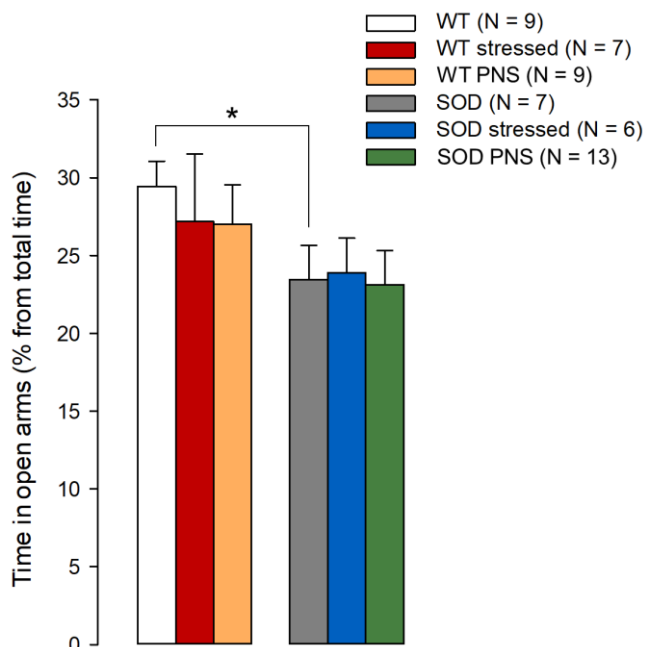


Figure 2. Anxiety-like behavior assessment in SOD and WT animals. SOD animals spent less time in open arms than WT mice suggesting a higher anxiety-like behaviour. PNS did not influence time passed in open arms in both WT and SOD animals. Mice belonging to the future acute stressed groups (WT in red and SOD in blue) were not different from control animals either. Data are shown as mean \pm SEM. * $p < 0.05$.

3.2- Learning and Memory assessment

Before the acquisition phase, SOD and WT animal were subdivided in 2 subgroups: 8 out of 18 WT and 6 out of 14 SOD mice underwent a 45 min acute restraint stress. During the acquisition phase, the escape latency decreased over the 6 trials for all groups ($p < 0.05$ in each case), suggesting that all mice learned to escape to the shelter (see **Fig. 3**). PNS animals escape latencies during the first trial did not differ from non PNS mice (WT: 90.40 ± 21.34 s vs. WT PNS: 76.11 ± 16.53 s; $p = 0.809$ and SOD: 95.57 ± 25.28 s vs. SOD PNS: 85.28 ± 14.94 s; $p = 0.868$) (see **Fig. 3**). On the other hand, both WT and SOD mice subjected to an acute stress tended to show lower escape latencies during the first trial, although non statistically significant

(WT stressed: 42.65 ± 12.81 s; $p = 0.274$ and SOD stressed: 42.08 ± 12.70 s; $p = 0.142$) (see **Fig. 3**). This could be explained by the hyperactivity observed in acute stressed animal during trials, they moved faster but covered the same distance to reach the hole. Similar distances were indeed recorded between control and stressed animal regardless of genotype ($p > 0.05$ in both cases).

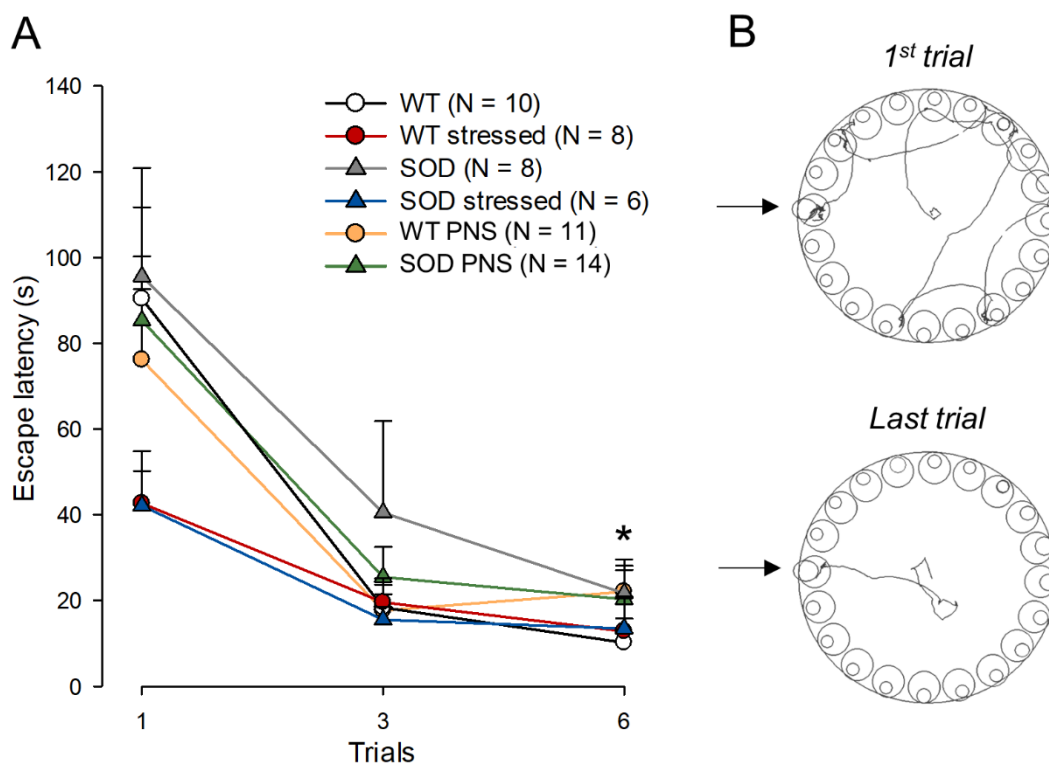


Figure 3. Acquisition phase during the Barnes test. (A) First, third and last trials escape latencies among groups. The escape latency decreased along trials for all groups, thus the escape box location was learned during acquisition. PNS had no effect on escape latency. Both WT and SOD stressed animals exhibit a non-significant decrease of escape latency. **(B)** Representative example of a WT mouse path from the first trial (up) vs the last trial (below). Arrow shows the escape box location. *Data are shown as mean \pm SEM. * $p < 0.05$ comparing trial 1 vs trial 6 (significant within each group).*

During the probe test, two strategies were evaluated: the used of either of a spatial or a cue strategy. The analysis of time spent in the area around the target holes showed that WT mice spent more time around the “place hole” compared to the “cue hole”, revealing a preferred spatial memory strategy to retrieve the shelter (Place: 37.82 ± 5.10 % vs. Cue: 8.75 ± 2.49 %; $p = 0.005$, see **Fig. 4**). SOD mice also exhibit a preference for spatial solution (Place: 23.46 ± 3.50 % vs. Cue: 8.69 ± 2.84 %; $p = 0.028$), however they spend significantly less time around the place hole than WT mice ($U = 15.0$, $z = -2.45$, $p = 0.013$), suggesting an impairment of spatial memory (**Fig. 4**).

PNS altered spatial memory in WT mice and seems to favour cue strategy. No significant difference was found regarding the spent time around place and cue holes (Place: 29.52 ± 5.59 % vs. Cue: 15.49 ± 5.03 %; $p = 0.248$). SOD PNS mice presented a similar profile than the SOD animals, with a slightly higher time spent in the place hole area (Place: 23.94 ± 3.51 % vs. Cue: 13.81 ± 3.97 %; $p = 0.041$) (Fig. 4).

Finally, acute stress also impaired retrieval in both WT and SOD mice. Despite stressed WT still favoured the spatial memory strategy over the cue strategy (Place: 16.77 ± 4.0 % vs. Cue: 3.63 ± 1.34 %; $p = 0.028$), they spent less time around the place hole than non stressed WT animals ($U = 13.0$, $z = -2.39$, $p = 0.016$). Moreover, SOD stressed mice spent the same amount of time around both place and cue holes (Place: 15.75 ± 5.54 % vs. Cue: 15.08 ± 3.13 %; $p = 0.893$) (Fig. 4).

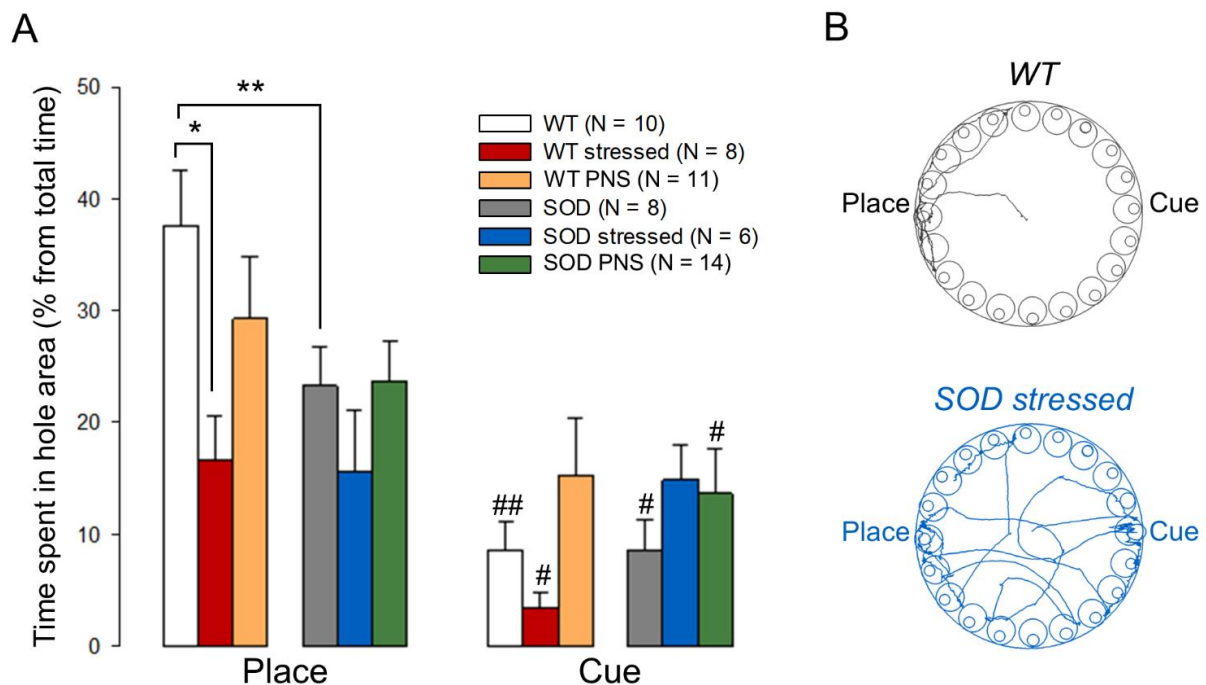


Figure 4. Stress influence on spatial learning during the Barnes probe test. (A) Total time spent around place hole and cue hole. WT mice spent more time around the place hole compared to the cue hole revealing a spatial learning. SOD mice exhibited the same behaviour but spent less time in place hole area compared to WT. PNS impaired spatial learning in WT but not in SOD mice. Acute stress altered spatial learning in WT mice which spent less time around place hole, and in SOD mice which did not express spatial strategy. **(B)** Representative example path of a mouse exhibiting a spatial strategy (WT mouse, black) and of an animal which did not express any preference between place and cue holes (SOD stressed mouse, blue). Data are shown as mean \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ comparing place vs cue within groups.

3.3- Motor coordination evaluation

Mice learned to cross the beams and improved their performance over the 3 trials during training. Result showed in all groups a decreasing in the time to cross the 10 mm square beam, from the first to the third trial session ($p < 0.05$ in all cases) and as a whole, rapidly adapt to 15 mm round beam.

However, despite WT and SOD animals presented a similar training evolution, SOD mice took slightly longer times to cross the 8 mm square beam (significant for the second trial: WT: 4.73 ± 0.36 s vs. SOD: 6.75 ± 0.88 s; $U = 84.5$, $z = -2.015$, $p = 0.043$). see **Fig. 5**. As difficulties increase, PNS animals keep higher latencies to cross the beams with significance differences on second and third trials for the 15 mm round beam as compared to their non-stressed counterparts (2nd trial, WT: 3.50 ± 0.18 s vs. WT PNS: 5.44 ± 0.85 , $U = 36.5$, $z = -2.93$, $p = 0.002$ and SOD: 3.98 ± 0.30 s vs. SOD PNS: 5.41 ± 0.78 , $U = 50.0$, $z = -1.99$, $p = 0.048$; 3rd trial, WT: 3.52 ± 0.24 s vs. WT PNS: 7.14 ± 1.07 , $U = 38.0$, $z = -2.86$, $p = 0.003$ and SOD: 3.61 ± 0.26 s vs. SOD PNS: 6.99 ± 1.47 s, $U = 56.5$, $z = -2.12$, $p = 0.033$, see **Fig. 5**).

During the retention test phase, there was no difference between WT and SOD groups regarding the time to cross the beams, regardless of its shape or diameter (Mann Whitney, $p > 0.05$ in each case, **Fig. 6**).

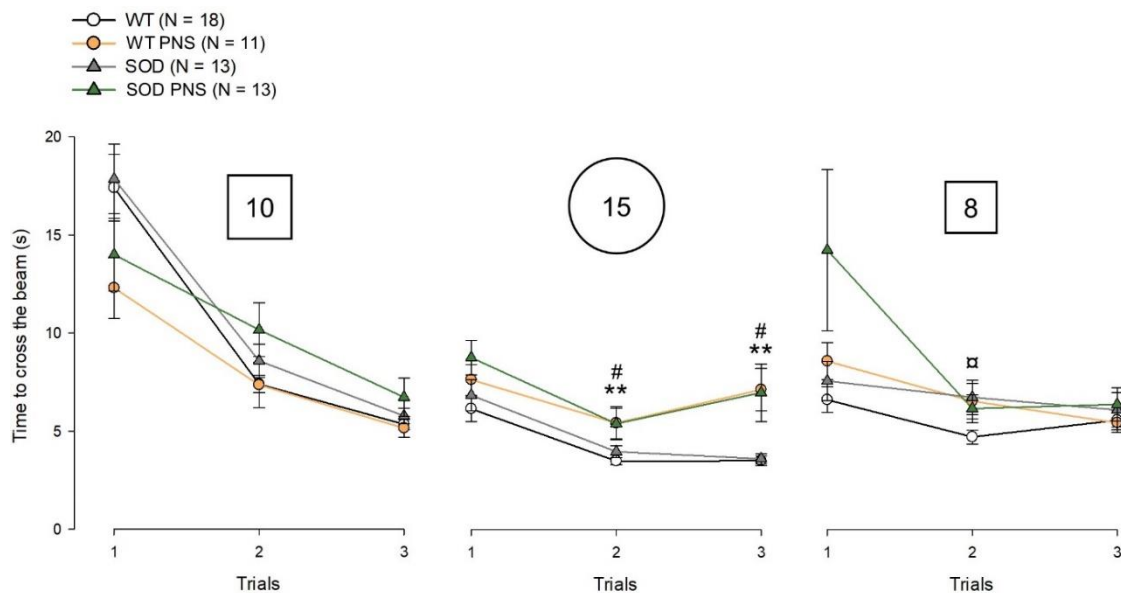


Figure 5. Training phase of the beam test. All mice improved their performance over trials. Both WT PNS and SOD animals exhibited higher times to cross the 15 mm round beam during the second and last trials. Squares and rounds associated with numbers above each graph represent the shape and thickness of the corresponding beam. Data are shown as mean \pm SEM. ** $p < 0.01$ comparing WT vs WT PNS and # $p < 0.05$ comparing SOD vs SOD PNS. α $p < 0.05$ comparing WT vs SOD.

In contrast, WT PNS animals exhibit lower performance with higher mean times to cross the beam than their WT counterparts, which was significant for the 8 mm square beam (WT: 4.27 ± 0.45 s vs WT PNS: 6.29 ± 0.68 ; $U = 23.5$, $z = -2.22$, $p = 0.024$). SOD PNS mice also displayed higher times to cross all beams, however it did not reach significant level ($p > 0.05$ for all beams, see **Fig. 6**).

Finally, acute stress given before the retention had no significant effect on performance accuracy in WT nor in SOD animals, regardless of the beam characteristics ($p > 0.05$ in all cases, see **Fig. 6**).

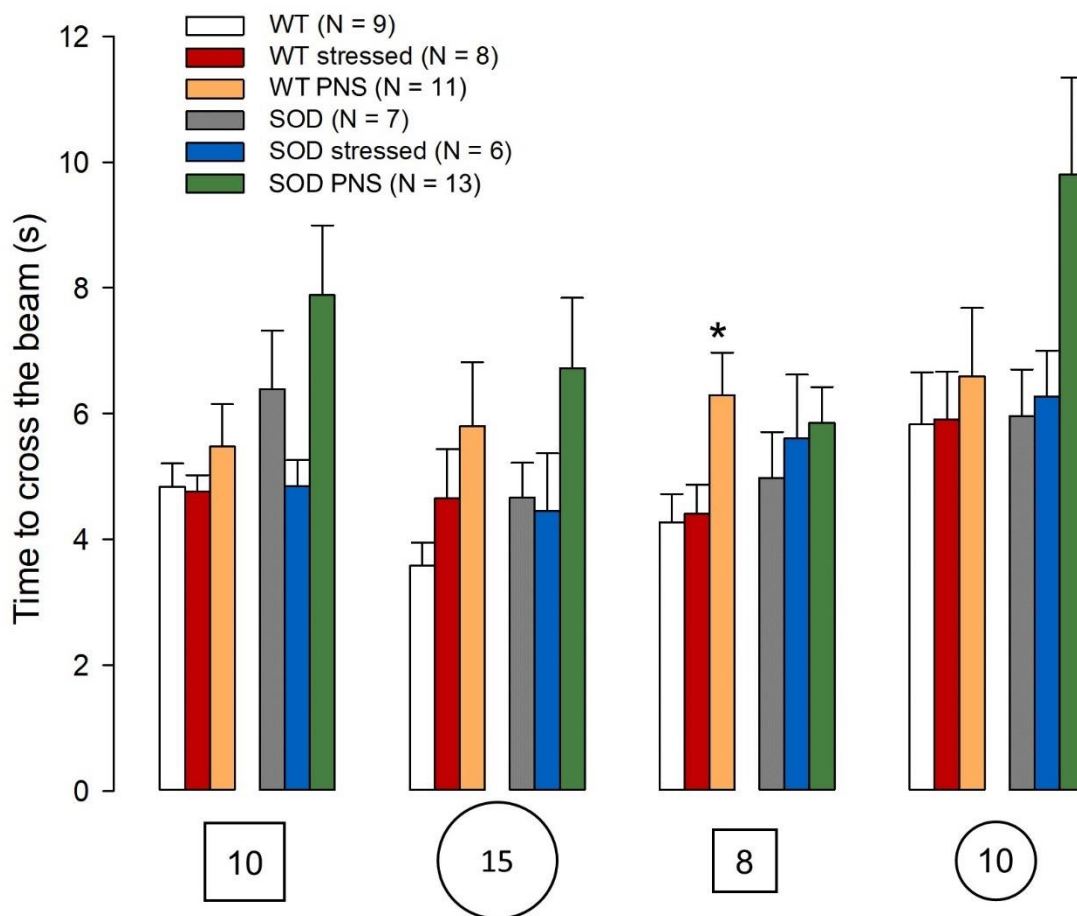


Figure 6. Test phase of the beam test. No difference was observed between WT and SOD animals regarding their motor performance. WT PNS animals expressed higher times to cross the beam compared to WT (significant for the 8 mm square one). Despite a tendency for SOD PNS animals to exhibit higher times to cross the beam compared to SOD mice, it was not significant. Acute stress did not influence motor performance regardless of the beam in WT and SOD mice. *Squares and rounds associated with numbers below each grouped bars represent the shape and thickness of the corresponding beam. Data are shown as mean \pm SEM. * $p < 0.05$ comparing WT vs WT PNS.*

Finally, a correlative study was conducted in all mice, in order to determine whether anxiety-like behaviour impacted motor and/or cognitive performances. This analysis showed that anxiety-like levels were not correlated with crossing time during the beam test ($p > 0.05$ for each beam and trial), neither with the time spent in areas around the “place” or “cue” holes in the Barnes maze ($p > 0.05$ in both cases).

3.4- Amyotrophic Lateral Sclerosis evolution

3.4.1- Muscular strength

All WT groups (non stressed, WT stressed and WT PNS) exhibited the exact same performance, thus they were pooled together for subsequent analyses. The decline in muscular strength began at week 13 (P94), with a mean motor symptoms onset of 104.3 ± 2.8 days in SOD animals, which lead to a significant decrease in maximum time latency to fall from the grid compared to WT performance (week 16: $p < 0.001$; week 17: $p < 0.001$, see **Fig. 7**). However, while SOD stressed animals were significantly less performant than WT from week 16 (week 16: $p = 0.018$; week 17: $p < 0.001$, see **Fig. 7**), SOD PNS were significantly weaker a week sooner (week 15: $p = 0.003$; week 16: $p = 0.001$; week 17: $p < 0.001$, see **Fig. 7**). However, all SOD groups exhibited a similar motor symptoms evolution despite a tendency to present higher motor impairments in PNS animals ($p > 0.05$ regarding all time points, see **Fig. 7**).

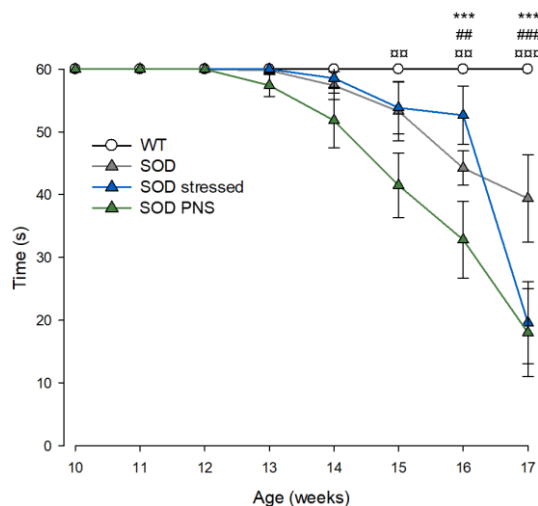


Figure 7. Hanging-wire grid test in SOD and WT animals. Motor symptoms onset was observed at week 13 in SOD mice. Acute stress had no impact on SOD motor performance. While SOD PNS tended to present lower latencies to fall from the grid, it was no significant. However, SOD PNS animals reached a significant lower performance sooner at week 15 compared to SOD non-stressed animals. All WT were pooled together. *** $p < 0.001$ comparing WT vs SOD; ## $p < 0.05$, ### $p < 0.001$ comparing WT vs SOD stressed; ** $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ comparing WT vs SOD PNS.

3.4.2- Body weight and survival

Kaplan-Meier survival comparisons did not reveal any difference between SOD animals and SOD PNS mice regarding their mean life span, neither between SOD and SOD stressed

animals (SOD: 130.2 ± 4.3 days v.s. SOD stressed: 130.4 ± 3.5 days and v.s. SOD PNS: 129.5 ± 2.6 days; $p > 0.05$ in both cases) (**Fig. 8A**).

All WT animals increased their weight as function of time ($F_{[1,78,26.74]} = 17.13$, $p < 0.001$), with no impact of acute stress nor PNS ($p > 0.05$ in both cases). SOD animals reached their maximum weight around week 13 before starting to lose weight concomitantly with symptoms onset, compared to WT animals ($F_{[1,44]} = 19.18$, $p < 0.001$). As for WT mice, no incidence of acute stress nor PNS was noted ($p > 0.05$ in both cases) (**Fig. 8B**).

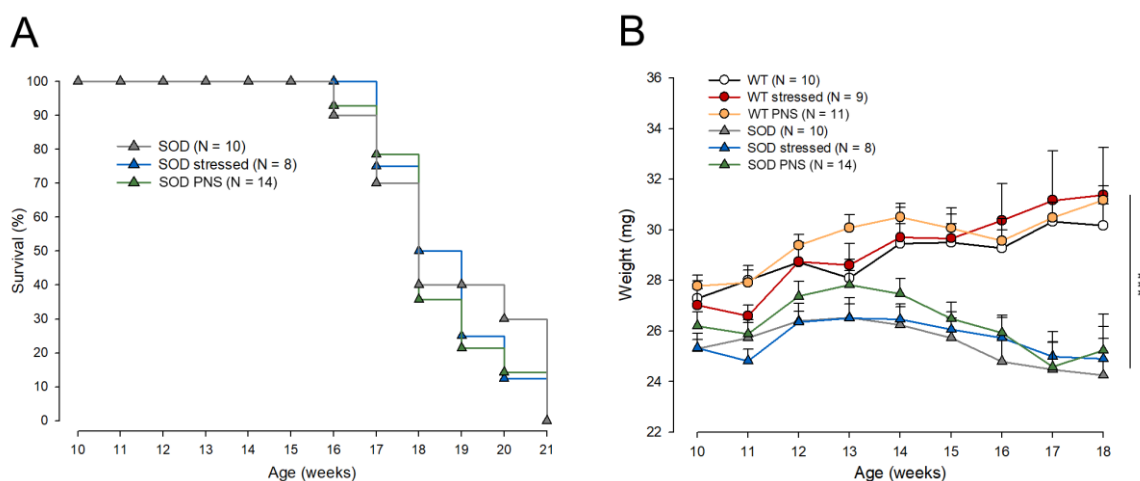


Figure 8. Survival rates and body weight measurements over time. (A) Survival percentages comparisons between SOD, SOD stressed and SOD PNS animals. No difference was found among the three groups regarding their lifespan. **(B)** Weight evolution of WT and SOD mice. WT mice gain weight over time while SOD animals began to lose weight around 13 week of age. Neither acute stress nor PNS induced significant changes in both WT and SOD mice. *Data are shown as mean \pm SEM. *** $p < 0.001$ comparing WT groups vs SOD groups.*

Globally, presymptomatic SOD mice exhibited non-motor impairments such as higher anxiety-like behaviour compared to WT mice, along with spatial memory deficit evaluated by the Barnes test. They did not express motor performance alteration during the beam test, despite a slight slower learning on the most difficult beam. PNS did not influence basal anxiety level in both WT and SOD animals. However, WT PNS animals showed spatial memory alteration along with motor performance impairment. SOD PNS mice express a profile similar to the SOD non stressed animals regarding spatial learning, but exhibited motor learning deficits. Acute restraint stress impaired spatial learning in both WT and SOD mice, but had no impact on motor performance. Finally, while SOD PNS mice tended to present motor symptoms earlier than SOD non stressed animals, neither acute nor prenatal stress significantly influenced ALS survival in symptomatic SOD mice.

4- Discussion

The aim of this study was to supplement our previous findings, by determining whether stress-induced aberrant plasticity in the M1 of SOD^{G93A} mice model of ALS was associated with distinct behavioural consequences. To this end, we evaluated the impact of both prenatal and acute stress on motor and cognitive functions of adult mice, along with their influence on ALS disease progression in the SOD mice.

4.1- Anxiety-like behaviour

To ensure that performances in the different tasks were not related to anxiety level, we measure anxiety state in an elevated plus maze. We showed that presymptomatic SOD mice exhibited a higher anxiety-like behaviour than WT mice, which is in accordance with previous investigations conducted in this ALS model (Kreilaus et al., 2020; Quarta et al., 2015). In addition, PNS did not further increase anxiety-like behaviour in either WT or SOD animals.

Studies have shown that GABAergic alterations in the limbic system are associated with anxiety disorders (Babaev et al., 2018; Kalueff and Nutt, 2007). Along with that, similar GABAergic dysfunction in the motor network was reported in presymptomatic SOD mice (Gunes et al., 2020a). It is therefore not excluded that this early GABAergic dysfunction may underly higher anxiety level in SOD animals.

The fact that PNS did not alter anxiety-like behaviour in both WT and SOD animals was reported elsewhere, however it is not a pervasive finding. Data from literature in mice on this topic are inconsistent, showing increase (Akatsu et al., 2015; Y.-A. Lee et al., 2016; Miyagawa et al., 2011) or no effect (Miyagawa et al., 2011; Nishio et al., 2006; Pallarés et al., 2007) in anxiety-like behaviour following PNS. In these studies, different protocols varying by their intensity, duration and timing were used and may account for the discrepancies.

4.2- cognitive learning

4.2.1- Differences between WT and SOD mice

In the Barnes test, all WT and SOD groups learned to find the escape box, suggesting no deficit in acquisition of the task. In acute stress animal, we even recorded a decrease in escape latency. This was not associated with better learning strategy, or a reduction in distance covered to reach the hold, but was rather explained by the hyperactivity observed in these mice during trials, regardless of genotype.

During the retrieval phase, animals may find the escape hole using either a spatial or a cue strategy. This test has been proposed to reveal deficits in hippocampal and striatal function. In fact, there is a cooperative but somehow negative functional relationship between hippocampal and striatal memory systems. Mishkin and Petri (1984) suggested that the striatum mediates a “less cognitive and less flexible” form of memory termed “cue learning” (Mishkin et al., 1984; Packard and Knowlton, 2002; White, 1997), while the hippocampus will mediate a “cognitive flexible memory” evaluate in mice with a spatial learning strategy. The cooperation of this two systems implies that during learning mice may reach their goal by referring to a cue while forming a spatial map of the environment (Lee et al., 2008; Poldrack and Packard, 2003). During retention test, mice are able to solve the task using either memory system, and deficit will be detected when the test situation includes competing responses (McDonald and White, 1994; Packard and Wingard, 2004).

Here, WT animals chose a spatial learning strategy over a cue strategy in order to retrieve the escape box. This implies a dominant involvement of the hippocampal function during learning and retrieval. SOD however (all groups combine) spent less time searching around the “place hole”, suggesting hippocampal-dependent memory impairment. Actually, SOD seems to present striatal-dependent memory alterations as well, since there is little use of cue strategy.

In presymptomatic SOD mice, spatial memory deficits have been found in a similar task involving a Barnes maze (Quarta et al., 2015) as well as in a Y-maze paradigm (Kreilaus et al., 2020). Such deficits are thought to be linked to interneurons loss and synaptic dysfunction in the hippocampus (Quarta et al., 2015; Rei et al., 2020). Half of ALS patients present behavioural and/or cognitive impairment (Ringholz et al., 2005; Wheaton et al., 2007), and around 15 % reach the criteria of an additional diagnosis of frontotemporal dementia (FTD) (Robberecht and Philips, 2013). Both conditions are thought to be two opposite ends of a common disorder spectrum, and cognitive deterioration in the context of ALS is not surprising as both diseases share common genetic mutations, such as *C9orf72* repeat expansion or *TBKI*, *VCP* and *TARDBP* gene mutations, and/or similar pathological molecular processes, such as protein aggregation (Nguyen et al., 2018; Strong et al., 2017; Verma, 2014).

4.2.2- Stress influence on cognitive functions

All PNS groups displayed altered spatial memory, while not always consistent (Akatsu et al., 2015), it remains a common finding in mice (Benoit et al., 2015; Ishiwata et al., 2005; Y.-A. Lee et al., 2016; Son, 2006). Spatial cognitive deficits after PNS also rely on

dysfunctional hippocampal circuits and often correlates with a decrease in spine density (Ishiwata et al., 2005) and impaired LTP and LTD (Son, 2006). Since SOD animals already present heavy hippocampus dysfunction and subsequent strong memory alteration, it may be difficult to observe additional stress-induced deficits in these animals, which could explain the lack of significant PNS influence on spatial memory here.

In addition, and in accordance with previous studies (Czakoff et al., 2010), we also found an impact of acute stress on spatial learning in WT and SOD animals. However, in paradigms where both spatial and cued memories can be recruited, acute stress has been shown to promote a shift from hippocampal memory toward striatal memory (Goldfarb and Phelps, 2017). Indeed, stressful events are potent modulators of striatum–hippocampus interactions. They challenge the use of cognitive/spatial forms of learning and favour instead habit/cue learning (Schwabe et al., 2007). In our study, acute stress did not promote that shift, but seems to impact both spatial and cue strategies, especially in SOD mice. This may be due to our stress protocol which could have been too strong to allow us to witness such memory shift. Moreover, ALS patients and SOD mice present striatal function deficits, which could also explain the absence of memory shift in these animals (Bede et al., 2013; Fogarty et al., 2017; Rossi et al., 2010; Wakabayashi et al., 2001).

It is important to note that deficits in spatial and cue memory performances were not the result of high anxiety, activity, or motor disabilities in SOD. Thus, impairments reflect true alterations in spatial and cue navigation.

4.3- Motor assessment

4.3.1- Differences between WT and SOD mice

Presymptomatic SOD animals displayed a similar learning profile than WT during the beam training, except for the most challenging beam, where they spent slightly more time to cross the beam (significant for the 2nd trial only). One possibility is that WT accommodated faster than SOD mice on the most challenging beam, reflected by the decrease in time to cross this beam between the first and second trials, which is stronger in WT than in SOD mice. They however presented similar motor performance than WT mice during the beam test. As previously reported, changes in plasticity within M1 are involved in motor-related learnings (Bütefisch et al., 2000; Chen et al., 2015; Costa et al., 2004; Dayan and Cohen, 2011; Karni et al., 1995; Monfils et al., 2005), and are dependent on the efficacy of inhibitory transmission (Bütefisch et al., 2000; Chen et al., 2015).

SOD mice are known to present early cortical inhibition deficits (Brunet et al., 2020) and we previously showed that the M1 network of presymptomatic SOD animals (~P70) was more excitable as compared to WT mice (Mazurie et al. *in preparation*). At presymptomatic stage, increase excitability in M1 may be one of the compensatory mechanisms occurring along the course of the disease to ensure correct global motor functions, and meet the task demand during motor learning. However, such compensatory mechanisms may show less efficacy in tasks requiring more fine motor control, which could explain the slight slower learning process observed in SOD mice regarding the most challenging beam.

Moreover, since SOD mice exhibited higher anxiety-like behaviour than WT mice, a parameter which is closely linked to balance control (Balaban and Thayer, 2001; Lepicard et al., 2000, 2003), it cannot be ruled out that it may spearhead the observed higher latencies to cross the most challenging beam during training. However, the correlative study conducted in all mice showed that higher anxiety-like levels were not correlated with longer crossing time, suggesting it may not influence the motor performance in this particular task.

4.3.2- Stress influence on motor coordination

Studies who evaluate the impact of stress often reported impaired motor learning in Rodents following PNS. Patin et al. (2004) observed that PNS delayed motor development in rat pups, which, according to these authors, may result from maturation alteration of neuronal structures involved in motor functions. Interestingly the delay in motor development was more severe following a repeated PNS over several gestation days compared to a single time PNS, highlighting the probable influence of PNS protocol parameters on its outcomes. Moreover, Canu et al. (2007) demonstrated that PNS potentiated the impairment of motor adaptation in adult rats exposed to simulated microgravity. In accordance with these studies, we showed here that WT PNS and SOD PNS animals displayed lower performance during motor coordination assessment. However, motor deficits following PNS were more pronounced during the training phase than during the actual test, especially in SOD mice. Analogous to our results, Jafari et al. (2017) showed on a similar beam walking test task, increases of the time needed to cross the beam in 2 months old mice subjected to a PNS, although non-significant.

Together, these data suggest that here, PNS may have a greater influence on motor function during motor learning processes, defined as the acquisition of a motor skill, rather than pure motor execution as the realization of a movement, and/or recall of a motor memory. This may be due to the prominent role of M1 in motor-related learnings, especially in the retention of a new motor memory along with subsequent involvement in early stages of consolidation

process (Bhattacharjee et al., 2021). This hypothesis is in line with our previous results showing impaired long- and short-term plasticity in PNS, as well as opposite plasticity profile along the dorsoventral axis of M1 (superficial vs. deeper layer) (Mazurie et al., *in preparation*). These changes may be a plausible mechanism behind such motor impairment during motor learning.

One study conducted in mice showed on the contrary improvement of motor coordination following late pregnancy maternal stress (Pallarés et al., 2007), highlighting that PNS does not inevitably lead to detrimental consequences. Such improvement, was observed in male animals at 1 month of age but not 2 months, which suggests an age-dependant effect of PNS on motor function. Interestingly, Lussier and Stevens (2016) showed age-dependent variations in the ratios of INs population within the hippocampus and frontal cortex of mice after PNS induction. Similar age-dependant variations may occur within M1 with subsequent changes in inhibitory tone and susceptibility to PNS.

Another possible mechanism on how stress could influence motor performance is through the action of glucocorticoid hormones. In the brain, glucocorticoid hormones bind to mineralocorticoid receptor (MR) and glucocorticoid receptor (GR), triggering a variety of cellular, molecular, and functional actions (de Kloet, 2022). Glucocorticoids are potent modulators of cognitive processes, such as learning, memory, and retrieval (Jadavji et al., 2011). MRs are high-affinity receptors expressed mainly in limbic areas while the low-affinity GRs are ubiquitously expressed throughout the brain (Reul et al., 1987). MRs has been proposed to exert tonic actions while GRs will be activated mainly after stress and may contribute to negative feedback on enhanced HPA axis activity and in stress-related adaptation and memory formation (Reul et al., 1987).

The fact that both MRs and GRs has been reported in M1 suggests that glucocorticoids could directly affect motor control and learning. Interestingly, corticosterone treatment of infant mice was shown to affect several motor structures including the cerebellum (Howard, 1968) and to reduce the ability in these mice to remain on a rotating bar as adults (Howard and Granoff, 1968). Our previous work showing an increase reactivity of the HPA axis in PNS mice confirming an impact of glucocorticoids on this learning task (Mazurie et al., *in preparation*).

Acute stress however seems to challenge differently the motor system. No impact of acute restraint stress was observed on motor performance of both WT and SOD animals during the beam test. Contrasting results were reported by Prévôt et al. (2017) who showed that mice which underwent an acute stress 15 min before retention testing presented significantly higher times to cross the most challenging beams. However, while the latter study induced stress via a mild unescapable foot-shocks, we used a strong 45-minute restraint protocol, which could explain the discrepancy between the two results. As reported with steroid hormones (Andersen

et al., 2004), different stress modalities may result in distinct level of stress hormone glucocorticoid, with distinct consequences on performances. This is reminiscent of the inverted-U shape relationship between corticosterone and learning proposed by Yerkes and Dodson (1908), and widely accepted today (Mateo, 2008).

The absence of acute stress influence could be in line with the hypothesis that stress-induced synaptic plasticity changes may have greater influence on motor learning processes, since acute stress was induced the next day following the training phase and thus after the M1-dependant retention step of motor learning. Additional experiments delivering stress before training are however needed in order to confirm this hypothesis. Another eventuality regarding this lack of behavioural difference may lie on the considerable capability of motor circuits in mice to compensate (Blizzard et al., 2011; Méndez and Bacci, 2011). Moreover, connectivity between cortex and spinal cord in mice does not occur through direct monosynaptic connections as it is the case in humans (Lemon, 2008) and study conducted in mice lacking corticospinal projections showed that mice motor network are highly plastic (Han et al., 2015). Together, these data lead to the hypothesis that motor pathways' ability to compensate in mice may also explain the absence of stress-related motor impairment. Introducing further task difficulties may likely help highlight deficits.

Our previous studies highlighted different plasticity changes in M1, following the stimulation of the contralateral M1, between WT stressed and SOD stressed animals and between WT PNS and SOD PNS mice. In WT, stress (acute or prenatal) tends to increase the M1 excitability and activity, while it tends to promote M1 inhibition in SOD animals. These differences between stressed animals (acute or prenatal) were more prominent in the deeper cortical layers (Mazurie et al., *in preparation*), where are located the motor neurons which contribute to the corticospinal pathway and movement execution. Thus, plasticity changes in these layers may trigger distinct behavioural consequences. Yet here, no motor behavioural difference was observed between WT stressed and SOD stressed animals or between WT PNS and SOD PNS. One possibility is that stress-induced plasticity changes in M1 do not influence motor-related behaviours. However, increase in M1 excitability has been related to motor-related learnings (Coxon et al., 2014; Kolasinski et al., 2019; Maruyama et al., 2021). Thus, in WT, stress may facilitate motor learnings in order to quickly ensure correct behavioural strategy establishment during a situation perceived as threatening. Yet, SOD animals expressed a decrease in M1 excitability following stress. These animals are characterized by inhibitory and excitatory transmissions deficiency, leading to cortical hyperexcitability (Brunet et al., 2020; Gunes et al., 2020b). It is possible that appropriate behavioural motor strategies establishment

following stress lies on a specific excitability state of M1. This would explain the decrease in its excitability regarding SOD stressed animals, whose cortex is already hyperexcitable. As an adaptive process, stress may trigger excitability-dependant homeostatic plasticity changes in M1, in order to reach the ideal excitability state to ensure correct behavioural response, which may explain the lack of behavioural differences between stressed animals.

Finally, despite this hypothesis that stress may promote adapted behavioural responses to threats, PNS was related to detrimental outcomes regarding motor performance. It may be explained by the fact that while acute stress is transient by definition and induces physiological responses, it may not be the case for PNS. Long-lasting excitability and plasticity changes in M1 following PNS may be deleterious for cortical neurons. Moreover, despite similar plasticity changes following acute or prenatal stress, underlying cellular and molecular mechanisms may be distinct.

4.4- Amyotrophic Lateral Sclerosis progression

SOD mice exhibited an average lifespan of 130.2 ± 4.3 days. The onset of weight loss was observed parallel to the onset of motor symptoms assessed by the hanging wire grid test was observed at 104.3 ± 2.8 days. These disease features are in accordance with previous studies among SOD1^{G93A} mice, with however variations that could be explained by endpoints criteria and measurements differences (Golini et al., 2019; Solomon et al., 2011; Tungtur et al., 2021).

Acute stress did not impact either survival or motor function. PNS on the contrary, although not significant, seem to accelerate motor decline, as seen in the slight worsening of motor symptoms evolution. As previously discussed, PNS paradigm features may be an important factor on long-lasting effects. Early life stage is a pivotal period of developmental cortical plasticity, thus characteristics of the early life stress and its occurrence may dictate its long term consequence on survival and motor function. Also, it is not excluded that an additional stress in adulthood may have exacerbated the impact of previous life experience.

As for motor function, it is also possible that the hanging wire grid test used in this study may not be sharp enough to detect PNS or acute stress-induced significant motor impairments. Moreover, the stress paradigm we used might have been too weak to trigger long-lasting changes and/or its potential long-lasting effects could not be seen on muscular strength as we measured it. In accordance with this hypothesis, Miyagawa et al (2011), witnessed changes in anxiety-like traits and serotonergic neurons expression in the dorsal raphe nuclei of mice,

depending on how they induced PNS. They used two different PNS protocols, a “weak” one (1 h restraint, once a day from E5.5 to E17.5), and a “strong” one (6 h restraint, once a day from E5.5 to E17.5). Only the “strong PNS” appeared to trigger apparent long-lasting changes, such as an increase in anxiety-like behaviour and in serotonergic cells expression.

Finally, it has to be noted that SOD1^{G93A} with a high transgene copy number exhibit a strong ALS phenotype with a quick disease evolution that may not be suitable to witness stress influence on motor symptoms course. SOD1^{G93A} model with low transgene copy number present a slower disease progression (Molnar-Kasza et al., 2021) and may provide a better model for studying stress impact on ALS early stages and development.

We did not address the influence of stress on motor function in female mice. The well-known relationship between the HPA axis and gonadal hormones (Heck and Handa, 2019), supposes a differential impact of stress in female compared to male. Moreover, female mice exhibit slower ALS disease progression, suggesting a role of sex-hormone in ALS ongoing course, thus placing female as an interesting model for studying stress-related effects on motor function in SOD models (Kreilaus et al., 2020; Molnar-Kasza et al., 2021).

5- Conclusion

As a whole, our data showed that presymptomatic SOD mice without motor deficits exhibited non-motor learning impairments compared to WT animals. The effect of stress differed between acute and prenatal protocols: PNS did not influence basal anxiety regardless of the genotype, it impaired spatial memory in WT but had no additional effect in SOD mice. Moreover, PNS altered motor performance in both WT and SOD mice. An acute restraint stress on the contrary induced only cognitive deficits in both WT and SOD mice, without impacting motor function. Together with our previous finding showing differential impact of acute vs. PNS on M1 synaptic plasticity, we suggest that changes in synaptic strength may be a relevant mechanism for learning rather than retention or movement execution per se. Finally, only PNS tended to precipitate motor symptoms onset in SOD animals, with however no strong incidence on survival in symptomatic SOD mice.

Finally, based on our observations, we must also point out that the impact of stress on survival and motor symptoms may also depend on animal housing condition. For group housing we have used littermates that have been kept together since weaning. They were then separated according to stressed condition and regardless of their genotype. However, as SOD weaken due

to decrease in their weight and muscle strength, they became easy target of WT attacks. Further study should not rule out this impact and try to reduce aggressiveness, which can also contribute to hasten mortality, by co-housing mice with similar stress condition and genotype.

6- References

- Abe, K., Aoki, M., Tsuji, S., Itoyama, Y., Sobue, G., Togo, M., Hamada, C., Tanaka, M., Akimoto, M., Nakamura, K., Takahashi, F., Kondo, K., Yoshino, H., Abe, K., Aoki, M., Tsuji, S., Itoyama, Y., Sobue, G., Togo, M., ... Yoshino, H. (2017). Safety and efficacy of edaravone in well defined patients with amyotrophic lateral sclerosis : A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet Neurology*, *16*(7), 505-512. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30115-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30115-1)
- Akatsu, S., Ishikawa, C., Takemura, K., Ohtani, A., & Shiga, T. (2015). Effects of prenatal stress and neonatal handling on anxiety, spatial learning and serotonergic system of male offspring mice. *Neuroscience Research*, *101*, 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2015.07.002>
- Andersen, M. L., Bignotto, M., Machado, R. B., & Tufik, S. (2004). Different stress modalities result in distinct steroid hormone responses by male rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *37*(6), 791-797. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2004000600003>
- Babaev, O., Piletti Chatain, C., & Krueger-Burg, D. (2018). Inhibition in the amygdala anxiety circuitry. *Experimental & Molecular Medicine*, *50*(4), 1-16. <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0063-8>
- Balaban, C. D., & Thayer, J. F. (2001). Neurological bases for balance–anxiety links. *Journal of Anxiety Disorders*, *15*(1-2), 53-79. [https://doi.org/10.1016/S0887-6185\(00\)00042-6](https://doi.org/10.1016/S0887-6185(00)00042-6)
- Bede, P., Elamin, M., Byrne, S., McLaughlin, R. L., Kenna, K., Vajda, A., Pender, N., Bradley, D. G., & Hardiman, O. (2013). Basal ganglia involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*, *81*(24), 2107-2115. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000437313.80913.2c>
- Beeldman, E., Raaphorst, J., Klein Twennaar, M., de Visser, M., Schmand, B. A., & de Haan, R. J. (2016). The cognitive profile of ALS : A systematic review and meta-analysis update. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *87*(6), 611-619. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2015-310734>
- Benoit, J. D., Rakic, P., & Frick, K. M. (2015). Prenatal stress induces spatial memory deficits and epigenetic changes in the hippocampus indicative of heterochromatin formation and reduced gene expression. *Behavioural Brain Research*, *281*, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.12.001>
- Bhattacharjee, S., Kashyap, R., Abualait, T., Annabel Chen, S.-H., Yoo, W.-K., & Bashir, S. (2021). The Role of Primary Motor Cortex : More Than Movement Execution. *Journal of Motor Behavior*, *53*(2), 258-274. <https://doi.org/10.1080/00222895.2020.1738992>
- Blizzard, C. A., Chuckowree, J. A., King, A. E., Hosie, K. A., McCormack, G. H., Chapman, J. A., Vickers, J. C., & Dickson, T. C. (2011). Focal Damage to the Adult Rat Neocortex Induces Wound Healing Accompanied by Axonal Sprouting and Dendritic Structural Plasticity. *Cerebral Cortex*, *21*(2), 281-291. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhq091>
- Bozzoni, V. (2016). Amyotrophic lateral sclerosis and environmental factors. *Functional Neurology*. <https://doi.org/10.11138/FNeur/2016.31.1.007>
- Brunet, A., Stuart-Lopez, G., Burg, T., Scekcic-Zahirovic, J., & Rouaux, C. (2020). Cortical Circuit Dysfunction as a Potential Driver of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in Neuroscience*, *14*, 363. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00363>
- Bütefisch, C. M., Davis, B. C., Wise, S. P., Sawaki, L., Kopylev, L., Classen, J., & Cohen, L. G. (2000). Mechanisms of use-dependent plasticity in the human motor cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *97*(7), 3661-3665. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.7.3661>
- Canu, M. H., Darnaudéry, M., Falempin, M., Maccari, S., & Viltart, O. (2007). Effect of hindlimb unloading on motor activity in adult rats: Impact of prenatal stress. *Behavioral Neuroscience*, *121*(1), 177-185. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.121.1.177>
- Czakoff, B. N., Johnson, K. J., & Howland, J. G. (2010). Converging effects of acute stress on spatial and recognition memory in rodents : A review of recent behavioural and pharmacological findings. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *34*(5), 733-741. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.04.002>
- Chen, S. X., Kim, A. N., Peters, A. J., & Komiyama, T. (2015). Subtype-specific plasticity of inhibitory circuits in motor cortex during motor learning. *Nature Neuroscience*, *18*(8), 1109-1115. <https://doi.org/10.1038/nn.4049>
- Chiò, A., Logroscino, G., Traynor, B. J., Collins, J., Simeone, J. C., Goldstein, L. A., & White, L. A. (2013). Global Epidemiology of Amyotrophic Lateral Sclerosis : A Systematic Review of the Published Literature. *Neuroepidemiology*, *41*(2), 118-130. <https://doi.org/10.1159/000351153>

- Costa, R. M., Cohen, D., & Nicoletis, M. A. L. (2004). Differential Corticostriatal Plasticity during Fast and Slow Motor Skill Learning in Mice. *Current Biology*, *14*(13), 1124-1134. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.06.053>
- Coxon, J. P., Peat, N. M., & Byblow, W. D. (2014). Primary motor cortex disinhibition during motor skill learning. *Journal of Neurophysiology*, *112*(1), 156-164. <https://doi.org/10.1152/jn.00893.2013>
- Dallé, E., & Mabandla, M. V. (2018). Early Life Stress, Depression And Parkinson's Disease : A New Approach. *Molecular Brain*, *11*(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s13041-018-0356-9>
- Dayan, E., & Cohen, L. G. (2011). Neuroplasticity Subservicing Motor Skill Learning. *Neuron*, *72*(3), 443-454. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.10.008>
- de Kloet, E. R. (2022). Brain mineralocorticoid and glucocorticoid receptor balance in neuroendocrine regulation and stress-related psychiatric etiopathologies. *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research*, *24*, 100352. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2022.100352>
- de Kort, A. R., Joosten, E. A., Patijn, J., Tibboel, D., & van den Hoogen, N. J. (2021). Neonatal procedural pain affects state, but not trait anxiety behavior in adult rats. *Developmental Psychobiology*, *63*(8). <https://doi.org/10.1002/dev.22210>
- Donato, F., Rompani, S. B., & Caroni, P. (2013). Parvalbumin-expressing basket-cell network plasticity induced by experience regulates adult learning. *Nature*, *504*(7479), 272-276. <https://doi.org/10.1038/nature12866>
- Fogarty, M. J., Mu, E. W. H., Lavidis, N. A., Noakes, P. G., & Bellingham, M. C. (2017). Motor Areas Show Altered Dendritic Structure in an Amyotrophic Lateral Sclerosis Mouse Model. *Frontiers in Neuroscience*, *11*, 609. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00609>
- Gellner, A.-K., Sitter, A., Rackiewicz, M., Sylvester, M., Philipsen, A., Zimmer, A., & Stein, V. (2022). Stress vulnerability shapes disruption of motor cortical neuroplasticity. *Translational Psychiatry*, *12*(1), 91. <https://doi.org/10.1038/s41398-022-01855-8>
- Goldfarb, E. V., & Phelps, E. A. (2017). Stress and the trade-off between hippocampal and striatal memory. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, *14*, 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2016.11.017>
- Golini, E., Rigamonti, M., Iannello, F., De Rosa, C., Scavizzi, F., Raspa, M., & Mandillo, S. (2019). A non-invasive digital biomarker for the detection of rest disturbances in the SOD1G93A mouse model of ALS [Preprint]. *Neuroscience*. <https://doi.org/10.1101/2019.12.27.889246>
- Gunes, Z. I., Kan, V. W. Y., Ye, X., & Liebscher, S. (2020a). Exciting Complexity : The Role of Motor Circuit Elements in ALS Pathophysiology. *Frontiers in Neuroscience*, *14*, 573. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00573>
- Gunes, Z. I., Kan, V. W. Y., Ye, X., & Liebscher, S. (2020b). Exciting Complexity : The Role of Motor Circuit Elements in ALS Pathophysiology. *Frontiers in Neuroscience*, *14*, 573. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00573>
- Gurney, M. E., Pu, H., Chiu, A. Y., Dal Canto, M. C., Polchow, C. Y., Alexander, D. D., Caliendo, J., Hentati, A., Kwon, Y. W., & Deng, H. X. (1994). Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu,Zn superoxide dismutase mutation. *Science (New York, N.Y.)*, *264*(5166), 1772-1775. <https://doi.org/10.1126/science.8209258>
- Han, Q., Cao, C., Ding, Y., So, K.-F., Wu, W., Qu, Y., & Zhou, L. (2015). Plasticity of motor network and function in the absence of corticospinal projection. *Experimental Neurology*, *267*, 194-208. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.03.008>
- Heck, A. L., & Handa, R. J. (2019). Sex differences in the hypothalamic–pituitary–adrenal axis' response to stress : An important role for gonadal hormones. *Neuropsychopharmacology*, *44*(1), 45-58. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0167-9>
- Hoeijmakers, L., Ruigrok, S. R., Amelanchik, A., Ivan, D., van Dam, A.-M., Lucassen, P. J., & Korosi, A. (2017). Early-life stress lastingly alters the neuroinflammatory response to amyloid pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Brain, Behavior, and Immunity*, *63*, 160-175. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.12.023>
- Howard, E. (1968). Reductions in size and total DNA of cerebrum and cerebellum in adult mice after corticosterone treatment in infancy. *Experimental Neurology*, *22*(2), 191-208. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(68\)90051-4](https://doi.org/10.1016/0014-4886(68)90051-4)
- Howard, E., & Granoff, D. M. (1968). Increased voluntary running and decreased motor coordination in mice after neonatal corticosterone implantation. *Experimental Neurology*, *22*(4), 661-673. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(68\)90155-6](https://doi.org/10.1016/0014-4886(68)90155-6)
- Ishiwata, H., Shiga, T., & Okado, N. (2005). Selective serotonin reuptake inhibitor treatment of early postnatal mice reverses their prenatal stress-induced brain dysfunction. *Neuroscience*, *133*(4), 893-901. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.03.048>
- Jadavji, N. M., Supina, R. D., & Metz, G. A. (2011). Blockade of Mineralocorticoid and Glucocorticoid Receptors Reverses Stress-Induced Motor Impairments. *Neuroendocrinology*, *94*(4), 278-290. <https://doi.org/10.1159/000329988>
- Jafari, Z., Mehla, J., Kolb, B. E., & Mohajerani, M. H. (2017). Prenatal noise stress impairs HPA axis and cognitive performance in mice. *Scientific Reports*, *7*, 10560. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09799-6>

- Joëls, M., Karst, H., Krugers, H. J., & Lucassen, P. J. (2007). Chronic stress: Implications for neuronal morphology, function and neurogenesis. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 28(2-3), 72-96. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2007.04.001>
- Kalueff, A. V., & Nutt, D. J. (2007). Role of GABA in anxiety and depression. *Depression and Anxiety*, 24(7), 495-517. <https://doi.org/10.1002/da.20262>
- Karni, A., Meyer, G., Jezard, P., Adams, M. M., Turner, R., & Ungerleider, L. G. (1995). Functional MRI evidence for adult motor cortex plasticity during motor skill learning. *Nature*, 377(6545), 155-158. <https://doi.org/10.1038/377155a0>
- Kida, H., Tsuda, Y., Ito, N., Yamamoto, Y., Owada, Y., Kamiya, Y., & Mitsushima, D. (2016). Motor Training Promotes Both Synaptic and Intrinsic Plasticity of Layer II/III Pyramidal Neurons in the Primary Motor Cortex. *Cerebral Cortex*, 26(8), 3494-3507. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhw134>
- Kolasinski, J., Hinson, E. L., Divanbeighi Zand, A. P., Rizov, A., Emir, U. E., & Stagg, C. J. (2019). The dynamics of cortical GABA in human motor learning. *The Journal of Physiology*, 597(1), 271-282. <https://doi.org/10.1113/JP276626>
- Kreilau, F., Guerra, S., Masanetz, R., Menne, V., Yerbury, J., & Karl, T. (2020). Novel behavioural characteristics of the *superoxide dismutase 1 G93A* (*SOD1^{G93A}*) mouse model of amyotrophic lateral sclerosis include sex-dependent phenotypes. *Genes, Brain and Behavior*, 19(2). <https://doi.org/10.1111/gbb.12604>
- Lee, A. S., Duman, R. S., & Pittenger, C. (2008). A double dissociation revealing bidirectional competition between striatum and hippocampus during learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(44), 17163-17168. <https://doi.org/10.1073/pnas.0807749105>
- Lee, C., Kim, Y., & Kaang, B.-K. (2022). The Primary Motor Cortex: The Hub of Motor Learning in Rodents. *Neuroscience*, 485, 163-170. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2022.01.009>
- Lee, Y.-A., Kim, Y.-J., & Goto, Y. (2016). Cognitive and affective alterations by prenatal and postnatal stress interaction. *Physiology & Behavior*, 165, 146-153. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.07.014>
- Lemon, R. N. (2008). Descending Pathways in Motor Control. *Annual Review of Neuroscience*, 31(1), 195-218. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.31.060407.125547>
- Lepicard, E. M., Venault, P., Negroni, J., Perez-Diaz, F., Joubert, C., Nosten-Bertrand, M., Berthoz, A., & Chapouthier, G. (2003). Posture and balance responses to a sensory challenge are related to anxiety in mice. *Psychiatry Research*, 118(3), 273-284. [https://doi.org/10.1016/S0165-1781\(03\)00069-6](https://doi.org/10.1016/S0165-1781(03)00069-6)
- Lepicard, E. M., Venault, P., Perez-Diaz, F., Joubert, C., Berthoz, A., & Chapouthier, G. (2000). Balance control and posture differences in the anxious BALB/cByJ mice compared to the non anxious C57BL/6J mice. *Behavioural Brain Research*, 117(1-2), 185-195. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(00\)00304-1](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(00)00304-1)
- Lussier, S. J., & Stevens, H. E. (2016). Delays in GABAergic interneuron development and behavioral inhibition after prenatal stress. *Developmental Neurobiology*, 76(10), 1078-1091. <https://doi.org/10.1002/dneu.22376>
- Martel, G., Blanchard, J., Mons, N., Gastambide, F., Micheau, J., & Guillou, J.-L. (2007). Dynamic interplays between memory systems depend on practice: The hippocampus is not always the first to provide solution. *Neuroscience*, 150(4), 743-753. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.10.004>
- Maruyama, S., Fukunaga, M., Sugawara, S. K., Hamano, Y. H., Yamamoto, T., & Sadato, N. (2021). Cognitive control affects motor learning through local variations in GABA within the primary motor cortex. *Scientific Reports*, 11(1), 18566. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97974-1>
- Mateo, J. M. (2008). Inverted-U shape relationship between cortisol and learning in ground squirrels. *Neurobiology of Learning and Memory*, 89(4), 582-590. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2007.11.002>
- Mazurie, Z., Branchereau, P., Cattaert, D., Henkous, N., Savona-Baron, C., Vouimba, R.-M. (2022). Acute Stress Differently Modulates GABAergic Interneurons Excitability and Synaptic Plasticity in the Primary Motor Cortex of WT and SOD1G93A mouse model of ALS. In preparation.
- Mazurie, Z., Branchereau, P., Henkous, N., Nathalie Argenta, N., Vouimba, R.-M. (2022). Long-Term Influence of Prenatal Stress on Primary Motor Cortex Plasticity in adult WT and SOD1G93A mice. In preparation.
- McDonald, R. J., & White, N. M. (1994). Parallel information processing in the water maze: Evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behavioral and Neural Biology*, 61(3), 260-270. [https://doi.org/10.1016/S0163-1047\(05\)80009-3](https://doi.org/10.1016/S0163-1047(05)80009-3)
- McEwen, B. S., Nasca, C., & Gray, J. D. (2016). Stress Effects on Neuronal Structure: Hippocampus, Amygdala, and Prefrontal Cortex. *Neuropsychopharmacology*, 41(1), 3-23. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.171>
- Memories and habits: Some implications for the analysis of learning and retention.* | *BibSonomy*. (s. d.). Consulté 6 juin 2022, à l'adresse <https://www.bibsonomy.org/publication/e312dd70d55997fb16f6538de20357d6>
- Méndez, P., & Bacci, A. (2011). Assortment of GABAergic Plasticity in the Cortical Interneuron Melting Pot. *Neural Plasticity*, 2011, e976856. <https://doi.org/10.1155/2011/976856>
- Miyagawa, K., Tsuji, M., Fujimori, K., Saito, Y., & Takeda, H. (2011). Prenatal stress induces anxiety-like behavior together with the disruption of central serotonin neurons in mice. *Neuroscience Research*, 70(1), 111-117. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2011.02.002>
- Molnar-Kasza, A., Hinteregger, B., Neddens, J., Rabl, R., Flunkert, S., & Hutter-Paier, B. (2021). Evaluation of Neuropathological Features in the SOD1-G93A Low Copy Number Transgenic Mouse Model of Amyotrophic

- Lateral Sclerosis. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 14, 681868. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.681868>
- Monfils, M.-H., Plautz, E. J., & Kleim, J. A. (2005). In Search of the Motor Engram : Motor Map Plasticity as a Mechanism for Encoding Motor Experience. *The Neuroscientist*, 11(5), 471-483. <https://doi.org/10.1177/1073858405278015>
- Nguyen, H. P., Van Broeckhoven, C., & van der Zee, J. (2018). ALS Genes in the Genomic Era and their Implications for FTD. *Trends in Genetics*, 34(6), 404-423. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2018.03.001>
- Nishio, H., Tokumo, K., & Hirai, T. (2006). Effects of perinatal stress on the anxiety-related behavior of the adolescence mouse. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 24(4), 263-268. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2006.02.003>
- Packard, M. G., & Knowlton, B. J. (2002). Learning and memory functions of the Basal Ganglia. *Annual Review of Neuroscience*, 25, 563-593. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.25.112701.142937>
- Packard, M. G., & Wingard, J. C. (2004). Amygdala and “emotional” modulation of the relative use of multiple memory systems. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(3), 243-252. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.06.008>
- Pallarés, M. E., Scacchi Bernasconi, P. A., Feleder, C., & Cutrera, R. A. (2007). Effects of prenatal stress on motor performance and anxiety behavior in Swiss mice. *Physiology & Behavior*, 92(5), 951-956. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.06.021>
- Patin, V., Vincent, A., Lordi, B., & Caston, J. (2004). Does prenatal stress affect the motoric development of rat pups? *Developmental Brain Research*, 149(2), 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.devbrainres.2003.12.008>
- Piirainen, S., Youssef, A., Song, C., Kalueff, A. V., Landreth, G. E., Malm, T., & Tian, L. (2017). Psychosocial stress on neuroinflammation and cognitive dysfunctions in Alzheimer’s disease : The emerging role for microglia? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 77, 148-164. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.01.046>
- Pittenger, C., & Duman, R. S. (2008). Stress, Depression, and Neuroplasticity : A Convergence of Mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 88-109. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301574>
- Poldrack, R. A., & Packard, M. G. (2003). Competition among multiple memory systems : Converging evidence from animal and human brain studies. *Neuropsychologia*, 41(3), 245-251. [https://doi.org/10.1016/S0028-3932\(02\)00157-4](https://doi.org/10.1016/S0028-3932(02)00157-4)
- Prévôt, T. D., Gastambide, F., Viollet, C., Henkous, N., Martel, G., Epelbaum, J., Béracochéa, D., & Guillou, J.-L. (2017). Roles of Hippocampal Somatostatin Receptor Subtypes in Stress Response and Emotionality. *Neuropsychopharmacology*, 42(8), 1647-1656. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.281>
- Quarta, E., Bravi, R., Scambi, I., Mariotti, R., & Minciacchi, D. (2015). Increased anxiety-like behavior and selective learning impairments are concomitant to loss of hippocampal interneurons in the presymptomatic SOD1(G93A) ALS mouse model : Hippocampal changes in SOD1(G93A) mice. *Journal of Comparative Neurology*, 523(11), 1622-1638. <https://doi.org/10.1002/cne.23759>
- Rei, N., Rombo, D. M., Ferreira, M. F., Baqi, Y., Müller, C. E., Ribeiro, J. A., Sebastião, A. M., & Vaz, S. H. (2020). Hippocampal synaptic dysfunction in the SOD1G93A mouse model of Amyotrophic Lateral Sclerosis : Reversal by adenosine A2AR blockade. *Neuropharmacology*, 171, 108106. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108106>
- Reul, J. M., van den Bosch, F. R., & de Kloet, E. R. (1987). Relative occupation of type-I and type-II corticosteroid receptors in rat brain following stress and dexamethasone treatment : Functional implications. *The Journal of Endocrinology*, 115(3), 459-467. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1150459>
- Ringholz, G. M., Appel, S. H., Bradshaw, M., Cooke, N. A., Mosnik, D. M., & Schulz, P. E. (2005). Prevalence and patterns of cognitive impairment in sporadic ALS. *Neurology*, 65(4), 586-590. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000172911.39167.b6>
- Robberecht, W., & Philips, T. (2013). The changing scene of amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(4), 248-264. <https://doi.org/10.1038/nrn3430>
- Rossi, S., De Chiara, V., Musella, A., Cozzolino, M., Bernardi, G., Maccarrone, M., Mercuri, N. B., Carri, M. T., & Centonze, D. (2010). Abnormal sensitivity of cannabinoid CB1 receptors in the striatum of mice with experimental amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, 11(1-2), 83-90. <https://doi.org/10.3109/17482960902977954>
- Saitoh, Y., & Takahashi, Y. (2020). Riluzole for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurodegenerative Disease Management*, 10(6), 343-355. <https://doi.org/10.2217/nmt-2020-0033>
- Sanes, J. N., & Donoghue, J. P. (2000). Plasticity and Primary Motor Cortex. *Annual Review of Neuroscience*, 23(1), 393-415. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.23.1.393>
- Schwabe, L., Oitzl, M. S., Philippson, C., Richter, S., Bohringer, A., Wippich, W., & Schachinger, H. (2007). Stress modulates the use of spatial versus stimulus-response learning strategies in humans. *Learning & Memory*, 14(1-2), 109-116. <https://doi.org/10.1101/lm.435807>
- Schwabe, L., & Wolf, O. T. (2013). Stress and multiple memory systems : From « thinking » to « doing ». *Trends in Cognitive Sciences*, 17(2), 60-68. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2012.12.001>

- Solomon, J. A., Tarnopolsky, M. A., & Hamadeh, M. J. (2011). One Universal Common Endpoint in Mouse Models of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *PLoS ONE*, 6(6), e20582. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020582>
- Son, G. H. (2006). Maternal Stress Produces Learning Deficits Associated with Impairment of NMDA Receptor-Mediated Synaptic Plasticity. *Journal of Neuroscience*, 26(12), 3309-3318. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3850-05.2006>
- Sotiropoulos, I., & Sousa, N. (2016). Tau as the Converging Protein between Chronic Stress and Alzheimer's Disease Synaptic Pathology. *Neurodegenerative Diseases*, 16(1-2), 22-25. <https://doi.org/10.1159/000440844>
- Strong, M. J., Abrahams, S., Goldstein, L. H., Woolley, S., McLaughlin, P., Snowden, J., Mioshi, E., Roberts-South, A., Benatar, M., HortobáGyi, T., Rosenfeld, J., Silani, V., Ince, P. G., & Turner, M. R. (2017). Amyotrophic lateral sclerosis - frontotemporal spectrum disorder (ALS-FTSD): Revised diagnostic criteria. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*, 18(3-4), 153-174. <https://doi.org/10.1080/21678421.2016.1267768>
- Tungtur, S. K., Wilkins, H. M., Rogers, R. S., Badawi, Y., Sage, J. M., Agbas, A., Jawdat, O., Barohn, R. J., Swerdlow, R. H., & Nishimune, H. (2021). Oxaloacetate treatment preserves motor function in SOD1G93A mice and normalizes select neuroinflammation-related parameters in the spinal cord. *Scientific Reports*, 11(1), 11051. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90438-6>
- van Wamelen, D. J., Wan, Y.-M., Ray Chaudhuri, K., & Jenner, P. (2020). Stress and cortisol in Parkinson's disease. In *International Review of Neurobiology* (Vol. 152, p. 131-156). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2020.01.005>
- Verma, A. (2014). Tale of two diseases: Amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *Neurology India*, 62(4), 347. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.141174>
- Wakabayashi, K., Piao, Y. S., Hayashi, S., Kakita, A., Yamada, M., & Takahashi, H. (2001). Ubiquitinated neuronal inclusions in the neostriatum in patients with amyotrophic lateral sclerosis with and without dementia—A study of 60 patients 31 to 87 years of age. *Clinical Neuropathology*, 20(2), 47-52.
- Wheaton, M. W., Salamone, A. R., Mosnik, D. M., McDonald, R. O., Appel, S. H., Schmolck, H. I., Ringholz, G. M., & Schulz, P. E. (2007). Cognitive impairment in familial ALS. *Neurology*, 69(14), 1411-1417. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000277422.11236.2c>
- White, N. M. (1997). Mnemonic functions of the basal ganglia. *Current Opinion in Neurobiology*, 7(2), 164-169. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(97\)80004-9](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(97)80004-9)
- Yerkes, R. M., & Dodson, J. D. (1908). The relation of strength of stimulus to rapidity of habit-formation. *Journal of Comparative Neurology and Psychology*. <https://doi.org/10.1002/cne.920180503>

Discussion Générale

Résumé des travaux expérimentaux

Ce travail de recherche portait sur l'influence du stress sur le fonctionnement du cortex moteur primaire (M1), ainsi que ses conséquences dans le cadre de la pathologie la plus commune du neurone moteur, la sclérose latérale amyotrophique (SLA).

Via l'utilisation d'une lignée murine transgénique SOD1^{G93A}, l'investigation s'est centrée sur deux types de stress, aigu à l'âge adulte et prénatal. Dans un premier temps, l'effet du stress aigu sur l'excitabilité des interneurons (INs) du M1, ainsi que sur la plasticité du réseau formé par les M1 des deux hémisphères (M1-M1), a été évalué à l'aide de techniques d'électrophysiologie chez les souris adultes WT et SOD1^{G93A} (SOD). L'expression globale au sein du M1 de deux cotransporteurs au chlorure, KCC2 et NKCC1, a également été quantifiée via une approche immunohistochimique. Dans une seconde partie, l'influence du stress prénatal chez les animaux WT et SOD adultes, sur la plasticité du réseau M1-M1, ainsi que sur l'expression globale de KCC2 et NKCC1 a été déterminée via les mêmes techniques d'électrophysiologie et d'immunohistochimie. Enfin, l'utilisation d'une batterie de tests comportementaux au cours de la troisième étude, visait à explorer l'impact du stress, aigu comme prénatal, sur les performances motrices et cognitives des souris WT et SOD adultes, tout en estimant l'incidence du stress sur la progression de la SLA chez les souris SOD.

Des différences entre les souris WT et SOD ont été relevées au cours de ces travaux. Les souris SOD présentent en effet une augmentation de l'excitabilité de certains INs corticaux, associée à une plasticité spécifique, qui semblent entraîner une augmentation de l'activité neuronale du M1. Ces animaux présentent également, à un stade présymptomatique, des troubles non-moteurs. Concernant les effets du stress, ce dernier, qu'il soit aigu comme prénatal, tend à promouvoir une augmentation de l'activité globale du M1 chez les WT, et au contraire chez les SOD, à favoriser sa diminution, en particulier dans les couches inférieures du M1. Ces altérations de l'activité du M1 ont été reliées en cas de stress aigu comme prénatal, à des variations de l'expression des cotransporteurs au chlorure KCC2 et NKCC1 au sein du M1, chez les WT comme chez les SOD. Enfin, les souris stressées, quel que soit le stress ou le génotype, présentent des déficits cognitifs. En revanche seuls les animaux ayant été soumis à un stress prénatal, et non à un stress aigu, démontrent une diminution des performances motrices, peut-être en lien avec les modifications de la plasticité du M1 observées. Bien que le stress prénatal tende à légèrement précipiter le début des symptômes de la SLA, il n'impacte pas la survie des animaux SOD (**Tableau 1**).

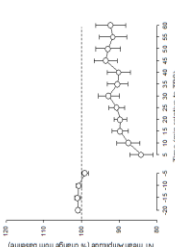
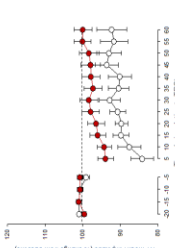
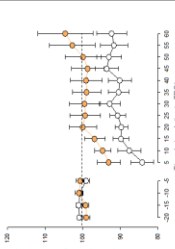
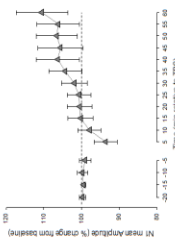
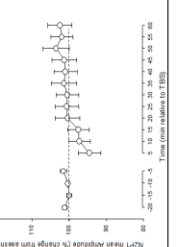
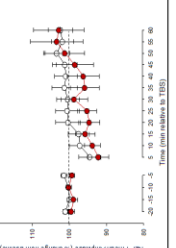
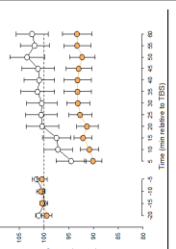
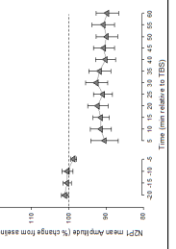
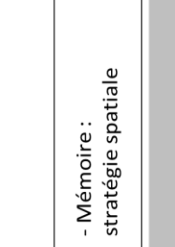

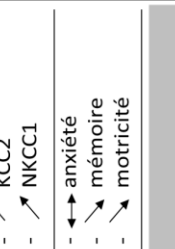
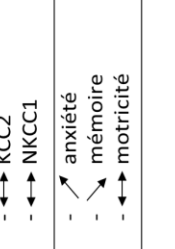
	WT		SOD	
	Contrôles	Stress aigu	Contrôles	Stress aigu
Corticostérone plasmatique		- ↔ CORT basal - ↗ CORT après stress aigu	- ↔ CORT basal - ↗ CORT après stress aigu	- ↘ CORT basal - ↗ CORT après stress aigu
Interneurones du M1		- ↗ excitabilité cluster 1 - ↔ excitabilité autres clusters	- ↘ excitabilité cluster 1 - ↗ excitabilité cluster 4	
Plasticité du réseau M1-M1	- PCT : PPI N1 et N2-P1 - PLT : LTD de N1; pas de changement N2-P1	- PCT : PPI N1 ↔ PPI N2-P1 - PLT : LTD de N1 ↔ N2-P1	- PCT : PPI N1 ↔ PPI N2-P1 - PLT : pas de changement N1 (petite ↗); LTD de N2-P1	- PCT : PPI N1 (ns) ↔ PPI N2-P1 (ns) - PLT : ↔ N1 ↗ LTD N2-P1
Couches supérieures :				
Composante excitatrice N1				
Couches inférieures :				
Cotransporteurs au chlorure	- ↔ KCC2 - ↔ NKCC1	- ↗ KCC2 - ↔ NKCC1	- ↔ KCC2 - ↔ NKCC1	- ↗ KCC2 - ↗ NKCC1
Comportements	- Mémoire : stratégie spatiale	- ↔ anxiété - ↘ mémoire - ↔ motricité	- ↔ anxiété - ↘ mémoire - ↔ motricité	- ↔ anxiété - ↔ mémoire - ↔ motricité
Progression de la SLA				- Tendence à déclencher les symptômes plus tôt - Pas influence survie

Tableau 1. Résumé des travaux expérimentaux. Les données sont comparées par rapport aux contrôles : les WT non stressés pour les SOD non stressés et les animaux non stressés pour les souris stressées (aigu ou prénatal, en accord avec le génotype). CORT, corticostérone; IN, interneurone; KCC2, potassium chloride cotransporter 2; LTD, dépression à long terme; M1, cortex moteur primaire; NKCC1, sodium-potassium chloride cotransporter 1; PCT, plasticité à court terme; PLT, plasticité à long terme; PPI, paired-pulse inhibition; ns, non significatif. Les flèches indiquent le sens de variation des données par rapport aux contrôles de chaque groupe.

I- L'influence du stress sur le M1

1- Le réseau neuronal au sein du M1

La combinaison des études électrophysiologiques *in vitro* et *in vivo* a permis de mieux apprécier le fonctionnement du réseau cortical au sein du M1.

1.1- Description des éléments du réseau

1.1.1- Les interneurones GABAergiques

D'abord, l'analyse des INs enregistrés *in vitro* a révélé la présence de quatre clusters cellulaires, retrouvés au sein de toutes les couches corticales, se distinguant selon leurs caractéristiques électrophysiologiques. D'après les données issues de la littérature, et en reprenant la classification générale proposée dans le néocortex dont il a été question au cours de l'introduction (PV, SST et 5HT3aR), ces 4 clusters pourraient correspondre à différents types d'INs (Rudy et al., 2011; Tremblay et al., 2016). Aussi, les neurones présents dans les clusters 1 et 2 possédant un type de décharge similaire aux cellules FS, il est envisageable qu'ils appartiennent aux familles des INs PV et SST, s'agissant des catégories où cette caractéristique est la plus représentée (Tremblay et al., 2016). Il est cependant difficile de déterminer quel cluster serait précisément composé de PV ou de SST, étant donné la superposition de certaines caractéristiques électrophysiologiques entre ces deux types cellulaires (Tremblay et al., 2016). Il est également possible que ces deux groupes soient composés des deux types de neurones. Les INs du cluster 3 pourraient quant à eux représenter un sous-type de neurones SST, de par leurs spécificités électrophysiologiques, notamment leur type de décharge LTS (Ma, 2006; Naka et al., 2019). Enfin, bien que les neurones issus du 4^{ème} cluster ressemblent dans leurs propriétés aux neurones du cluster 1, leur type de décharge irrégulière serait plus représentative d'INs 5HT3aR, plus précisément des VIP (Tremblay et al., 2016). Si cette classification n'est que spéculative du fait du manque d'études morphologique et moléculaire complémentaires pour caractériser ces neurones, elle permet tout de même une première vision du réseau cortical d'INs au sein du M1.

1.1.2- Les réponses neuronales N1 et N2-P1

La stimulation électrique du M1 *in vivo* a permis d'enregistrer dans le M1 controlatéral deux réponses neuronales qui, d'après les études pharmacologiques menées, constituent une composante excitatrice « N1 » au sein des couches supérieures, ainsi qu'un complexe inhibiteur « N2-P1 » au niveau des couches inférieures. Toujours d'après l'approche pharmacologique, ces deux réponses neuronales subissent un contrôle inhibiteur, lequel proviendrait des INs locaux qui, dans le cortex moteur, font des connexions intralaminaires plutôt qu'interlaminaires (Kätzel et al., 2011). Ces INs pourraient correspondre, au niveau des couches supérieures, à des PV et/ou SST, qui sont connus pour former de fortes connexions avec les CPs (Tremblay et al., 2016), donc éventuellement des INs issus des clusters 1, 2 ou 3. Dans les couches inférieures, ce contrôle inhibiteur relèverait du processus de désinhibition, et selon les données établies au sein d'autres structures corticales, pourrait être médié par des VIP, ou encore des SST (Tremblay et al., 2016). Potentiellement cela pourrait correspondre aux INs provenant de tous les clusters enregistrés.

N1 serait représentative de l'activité glutamatergique émanant des CPs au sein de la boucle supérieure du M1 (couches 2/3), et N2-P1 serait plutôt le résultat de l'activité GABAergique issue des INs de la boucle inférieure du M1 (couches 5/6). Ainsi, N1 aurait un rôle dans l'intégration du signal, et N2-P1 serait impliqué dans la sortie du signal, et dans l'exécution des commandes motrices (McColgan et al., 2020). La régulation de ces réponses neuronales au sein des boucles proviendrait d'au moins 4 types d'INs, d'après les données *in vitro*. Ces deux boucles sont interconnectées, majoritairement via les connexions interlaminaires entre les CPs des différentes couches du M1, principalement de la part des neurones excitateurs des couches supérieures sur ceux des couches inférieures, mais la réciproque existe également. Enfin les CPs des couches supérieures projettent également sur les INs des couches plus profondes (Aroniadou et Keller, 1993; McColgan et al., 2020). Les données préliminaires menées sur ces réponses N1 et N2-P1 ont effectivement mis en évidence la participation des couches supérieures à la formation de N2-P1, et inversement l'implication de l'activité des couches inférieures à la constitution de N1 (**Fig. 19**).

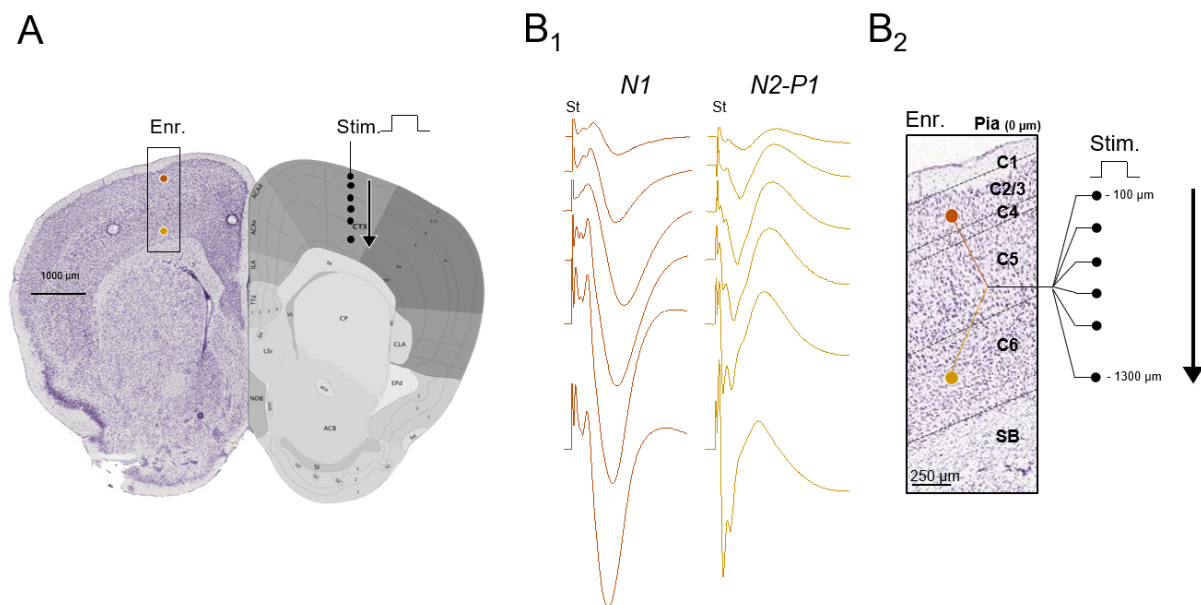


Figure 19. Profil d'évolution des réponses neuronales N1 et N2-P1 selon la profondeur de l'électrode de stimulation au sein du M1. (A) Représentation sur une coupe coronale (1,6 mm antérieurement au bregma) de la position de l'électrode de stimulation (hémisphère droit) et d'enregistrement (hémisphère gauche) au sein du M1. L'encadré correspond à la zone agrandie en B2. **(B1)** Profil d'évolution des réponses neuronales N1 (en orange) et N2-P1 (en jaune) au sein du M1 pour une électrode d'enregistrement fixe, et une électrode de stimulation mobile le long de l'axe dorso-ventral du M1 controlatéral (selon le sens de la flèche, de la surface vers la substance blanche). **(B2)** Représentation des couches corticales du M1 ainsi que de la localisation des électrodes. Les points colorés représentent la position de l'électrode d'enregistrement dans le M1 pour obtenir N1 (point orange) et N2-P1 (point jaune). Les points noirs représentent les différentes positions de l'électrode de stimulation dans le M1 controlatéral. C, couche; SB, substance blanche; St, artéfact de stimulation; N1, composante excitatrice des couches supérieures; N2-P1 complexe inhibiteur des couches inférieures; enr., enregistrement; stim., stimulation. Le schéma en coupe coronale, ainsi que les vues en coloration de Nissl, sont adaptés de l'atlas de référence Allen (atlas.brain-map.org).

1.2- Le M1 entre les souris WT et SOD

1.2.1- Les interneurones GABAergiques

La SLA est caractérisée par des troubles de l'excitabilité neuronale, et en particulier par une hyperexcitabilité qui, au sein du cortex moteur, serait déterminante dans l'évolution de la pathologie (Brunet et al., 2020; Gunes et al., 2020). Cette hyperexcitabilité résulterait d'altérations des transmissions glutamatergiques comme GABAergiques, lesquelles sont respectivement augmentée et diminuée (Cengiz et Kuruoğlu, 2020; Chung et al., 2005; Foerster et al., 2013; Fogarty et al., 2015; Khademullah et al., 2020; J. Kim et al., 2017; Menon et al., 2015; Minciacchi et al., 2009; Van den Bos et al., 2018; Vucic et al., 2009; W. Zhang et al.,

2016). Aussi, l'augmentation de l'excitabilité des INs du cluster 1 observée chez les SOD par rapport aux WT irait de prime abord à l'encontre du postulat de la perte de l'inhibition dépendante du GABA chez les SOD. Cependant, différents travaux ont mis en évidence une hyper ou une hypoexcitabilité des INs, selon leur type ou le stade de la pathologie (Khademullah et al., 2020; Kim et al., 2017; Zhang et al., 2016). Ces variations de l'activité inhibitrice des neurones GABAergiques seraient dépendants du rôle des INs dans les circuits inhibiteurs et pourraient faire partie de mécanismes de compensation mis en place au cours de la maladie. Zhang et ses collaborateurs (2016) en particulier, ont supposé que l'hyperexcitabilité des CPs de la couche 5 du cortex moteur, chez des souris TDP-43, était due à un mécanisme de désinhibition renforcé, suite à l'hyperexcitabilité de certains INs, les SST, impliqués dans ce type d'inhibition. Un phénomène similaire pourrait être en cause ici, les INs du cluster 1 induisant une forte inhibition des neurones issus des autres clusters mis en jeu dans l'inhibition des CPs, probablement les 2 et 3. En effet, les INs du groupe 4 étant peut-être des VIP, ils ne seraient pas engagés dans l'inhibition des CPs (Tremblay et al., 2016).

1.2.2- La plasticité du réseau

En conditions physiologiques

Le protocole de paired-pulse a induit des phénomènes d'inhibition (paired pulse inhibition, PPI) sur la composante N1 et le complexe N2-P1. Selon la description initiale des mécanismes impliqués dans ce type de plasticité à court terme, cela pourrait signifier que ces synapses ont une probabilité initiale de libération de vésicules contenant des neurotransmetteurs élevée (Citri et Malenka, 2008). Cependant, les intervalles de temps utilisés entre les deux stimulations (50, 150 et 250 ms) sont en général déclencheurs de phénomènes de facilitation à court terme (Citri Malenka, 2008). Il est donc probable que plutôt que de strictement refléter une probabilité de libération de vésicules dans la fente synaptique, ces phénomènes de PPI puissent incarner une diminution et/ou une augmentation de la libération de neurotransmetteurs respectivement excitateurs et inhibiteurs (Ramoia et Sur, 1996; Szabo et al., 2000; Tuff et al., 1983). Au sein du M1, ce processus de PPI pourrait jouer un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie corticale et dans l'initiation de l'inhibition.

Chez les WT, l'administration d'une TBS dans le M1 a entraîné une LTD de la composante N1 en controlatéral, donc une diminution de l'activité excitatrice glutamatergique au sein des couches supérieures du M1. Cette réponse à la TBS n'était pas attendue, ce type de stimulation à haute fréquence induisant en général des phénomènes de LTP au sein d'autres

structures, telle que l'hippocampe (Larson et Munkácsy, 2015; Yaniv et al., 2003) et l'observation d'une LTD étant quant à elle plutôt dépendante de l'induction d'une stimulation à basse fréquence, de l'ordre de 1 à 5 Hz (Bliss et Cooke, 2011; Malenka et Bear, 2004; Vouimba et al., 2000). Lors de nos tests préliminaires, aucun des protocoles classiques de stimulation (à basse et haute fréquence, respectivement à 1 Hz et 100 Hz) ne nous a permis de mettre en évidence de changement significatif de la plasticité synaptique au sein du M1. Hess et Donoghue (1996) sont toutefois parvenus à induire une LTD des connexions horizontales localisées dans les couches supérieures du cortex moteur, en utilisant une stimulation à basse fréquence (2 Hz). Ils ont de plus pu observer une LTP de ces mêmes connexions, déprimées suite à cette stimulation à 2 Hz, en administrant une TBS associée à l'application d'un antagoniste des récepteurs GABA_A. Cette dernière donnée confirme bien la présence d'une activité inhibitrice tonique exercée sur les CPs des couches supérieures, visant à éviter la saturation du réseau. Il est possible que la TBS induise plutôt une LTP au niveau des synapses inhibitrices formées sur les CPs par les INs locaux. La stimulation activant les CPs comme les INs, le renforcement de ces connexions inhibitrices pourrait être en partie dû au recrutement des INs eux-mêmes (inhibition feedforward, IFF) associé à l'augmentation des efférences excitatrices des CPs sur les INs locaux (inhibition feedback, IFB) (Tremblay et al., 2016). Dans l'ensemble, l'activité inhibitrice s'en trouverait renforcée, notamment donc les IFF et IFB, respectivement en charge de réguler l'intégration et la sortie du signal.

La TBS n'a pas induit de modification à long terme de la plasticité en ce qui concerne le complexe inhibiteur N2-P1, ce qui serait en contradiction avec la proposition ci-dessus postulant que cette stimulation induirait plutôt une LTP des synapses inhibitrices. Cela pourrait s'expliquer par le fait que le complexe N2-P1 est également sous un contrôle inhibiteur, lequel régulerait N2-P1 suite à la TBS. La courte dépression observée juste après la stimulation pourrait refléter cette inhibition de N2-P1 par d'autres INs. En cas de LTP de toutes les synapses inhibitrices, les activités des INs s'équilibreraient, entre ceux médiant l'inhibition des CPs et ceux impliqués dans l'inhibition des autres INs, maintenant un niveau basal d'activité de N2-P1. Une autre explication serait que le signal étant intégré au niveau des couches supérieures, la régulation immédiate de l'activité des CPs empêche ces dernières de trop stimuler les CPs et INs des couches inférieures, limitant l'effet de la TBS au niveau de N2-P1.

En conditions pathologiques

Les phénomènes de PPI de N1 et N2-P1 ne sont pas modifiés chez les animaux SOD. En conséquence, il est possible que les altérations de l'intégrité corticale de ces animaux

reposent sur d'autres mécanismes et/ou qu'il existe des phénomènes de compensation visant à préserver cette inhibition à court terme.

Chez les souris SOD, la TBS ne déclenche pas de LTD de N1, et aurait même plutôt tendance à augmenter cette réponse neuronale. Ces données démontrent une altération de la fonction GABAergique tonique exercée en conditions physiologiques sur les CPs, et est en accord avec les déficits de la transmission neuronale qui ont été reportés chez les patients atteints de la maladie, comme chez les modèles murins (Cengiz et Kuruoğlu, 2020; Chung et al., 2005; Foerster et al., 2013; Fogarty et al., 2015; Khademullah et al., 2020; J. Kim et al., 2017; Menon et al., 2015; Minciacchi et al., 2009; Van den Bos et al., 2018; Vucic et al., 2009; W. Zhang et al., 2016).

Au niveau des couches inférieures, toujours en opposition avec ce qui est observé chez les WT, on remarque la mise en place d'une LTD de N2-P1 suite à la TBS. Cette diminution de l'activité inhibitrice au sein du M1 reste en accord avec les données mentionnées plus haut, mettant en évidence un déficit de la transmission GABAergique au sein du M1 dans le cadre de la SLA. De plus, en adéquation avec les données obtenues *in vitro*, et comme postulé par Zhang et ses collaborateurs (2016) au cours de leurs travaux, il pourrait s'agir d'une augmentation anormale de l'inhibition exercée sur les INs régulant l'activité des CPs de la couche 5, suite à l'hyperexcitabilité des neurones GABAergiques impliqués dans le processus de désinhibition, ici les INs du cluster 1.

1.3- L'effet du stress

1.3.1- En conditions physiologiques

Sur les interneurones GABAergiques

Chez les WT, le stress aigu tend à augmenter l'excitabilité des INs du 1^{er} cluster. Les études ayant évalué l'influence du stress sur les INs se sont majoritairement concentrées sur les structures limbiques, motivées par le lien existant entre l'apparition de troubles de l'humeur ou encore anxieux, et les altérations du fonctionnement des INs au sein de ces structures (Fee et al., 2017; Fogaça et Duman, 2019; Perlman et al., 2021). Ces travaux concernent en grande partie les INs PV et SST, en adéquation avec l'appartenance supposée des INs du cluster 1 à ces deux types de neurones. Si les données relatives aux PV sont très hétérogènes, elles suggèrent tout de même que ces neurones sont sensibles au stress (Perlman et al., 2021). La littérature ayant trait aux SST est en revanche plus uniforme, démontrant que le stress tend à

augmenter leur activité et révélant l'implication de ces INs dans la régulation de la réponse au stress (Arancibia et al., 2001; Jefferson et al., 2020; Joffe et al., 2022; Stengel et Taché, 2017). Il est donc possible que les INs du cluster 1 soient impliqués dans la réponse de stress en régulant l'activité du M1.

Sur la plasticité au sein du M1 en cas de stress aigu

Comme développé au cours de l'introduction, le stress est connu pour agir sur la plasticité de la transmission synaptique au sein des structures limbiques (amygdale, hippocampe et cortex préfrontal). Son influence dépend cependant de l'aire cérébrale concernée ainsi que du type et de la chronicité du stress (Cullinan et Wolfe, 2000; de Groote et Linthorst, 2007; Ghosal et al., 2017; Hu et al., 2010; Inoue et Bains, 2014; Kuzmiski et al., 2010; Liu et al., 2020; McKlveen et al., 2016; Verkuyl et al., 2004; Wei et al., 2018).

Ici, chez les WT, la plasticité à court terme n'a pas été impactée par le stress aigu, ce qui suggère que ce dernier n'a sans doute pas d'influence sur l'initiation de l'inhibition. En revanche, le stress aigu diminue la LTD de la composante excitatrice N1, sans induire de changements au niveau de N2-P1. Il lèverait donc l'inhibition exercée sur les CPs des couches superficielles et à augmenterait le niveau d'activité du M1. Selon l'implication probable des INs du premier cluster dans la désinhibition, on peut supposer que l'augmentation de l'activité des CPs, suivant la TBS, est en partie due à l'augmentation de l'excitabilité de ces INs en cas de stress aigu, selon un processus similaire à ce qui est observé chez les SOD, du moins dans les couches supérieures.

Sur la plasticité au sein du M1 en cas de stress prénatal

Bien que le stress prénatal n'influence pas significativement les PPI des réponses neuronales N1 et N2-P1 chez les souris WT, il a tendance à diminuer cette inhibition à court terme dans les couches supérieures, tout en l'augmentant dans les couches inférieures. Le stress prénatal aurait la même propension du stress aigu à favoriser une augmentation de l'activité du M1, en diminuant la dépression de la composante N1, tout en induisant une LTD au niveau de N2-P1. Ces phénomènes de plasticité pourraient également reposer sur des modifications de l'excitabilité des INs, impliquant, de la même façon que pour le stress aigu, la potentialisation des phénomènes de désinhibition au sein des couches supérieures comme inférieures. Cependant, des similitudes dans la finalité d'un processus ne signifient pas que les mécanismes sous-jacents soient identiques, aussi ces phénomènes plastiques suite au stress prénatal pourraient être liés à d'autres événements biologiques. Il est intéressant de signaler que cette

diminution du contrôle GABAergique exercé sur N1 est en adéquation avec la tendance à la baisse de la PPI de cette même composante. En parallèle, la légère augmentation de la PPI de N2-P1 pourraient refléter le renforcement de la désinhibition au niveau des couches inférieures. Ces changements à court terme, bien que mineurs, pourraient promouvoir l'altération de la plasticité à long terme, et favoriser un déséquilibre entre excitations et inhibitions au sein du M1 suite à un stress prénatal.

Cet effet à long terme du stress prénatal sur le fonctionnement de la transmission inhibitrice mature pourrait être dû à la perturbation de l'activité GABAergique au cours du développement embryonnaire, via une perturbation de la migration des INs, ou de l'expression de gènes spécifiques au sein de cellules GABAergiques (Matrisciano et al., 2013; Stevens et al., 2013). De telles altérations conduiraient à une immaturité des synapses inhibitrices au sein du M1. Li et ses collaborateurs (2021) ont mis en évidence un tel décalage dans la maturation des synapses corticostriatales suite à un stress prénatal, reflété par l'incapacité de ces synapses à exprimer une LTD caractéristique des connexions matures. Cette immaturité de la transmission inhibitrice au sein du système moteur pourrait induire un retard développemental des structures impliquées dans la motricité, et être en cause dans les délais observés de la maturation motrice suite à un stress prénatal, chez les rongeurs comme chez les primates humains et non humains (DiPietro et al., 2006; Grace et al., 2016; Huizink et al., 2003; Patin et al., 2004; Schneider et Coe, 1993).

1.3.2- En conditions pathologiques

Sur les interneurones GABAergiques

L'effet du stress aigu sur les INs localisés dans le M1 des animaux SOD tend, de façon inattendue, à diminuer l'excitabilité des INs du cluster 1, tout en augmentant celle des neurones provenant du cluster 4. Cet effet spécifique du stress entre les souris WT et SOD pourrait provenir du fait que l'excitabilité basale des neurones du cluster 1 diffère entre ces animaux. Ces INs étant possiblement impliqués dans la régulation de la réponse au stress, il est envisageable qu'une diminution de leur excitabilité soit nécessaire au processus adaptatif faisant suite au stress. L'augmentation concomitante de l'excitabilité des cellules du cluster 4 pourrait également faire partie de cette adaptation. Une première explication serait que l'activité des INs du cluster 1 est insuffisante, le réseau étant altéré et nécessitant la mise en place d'autres mécanismes compensatoires suite au stress. Une autre possibilité serait que l'augmentation de l'excitabilité des INs du cluster 1 est due en réalité à une incapacité de ces neurones à

correctement réguler la réponse au stress, nécessitant alors le concours d'autres INs, en l'occurrence issus du cluster 4. Enfin il est également envisageable que l'augmentation de l'excitabilité des INs 4 suite au stress relève d'un processus anormal pathologique.

Sur la plasticité au sein du M1 en cas de stress aigu

Contrairement aux WT, l'induction d'un stress aigu conduit à une diminution de la PPI de N1 et de N2-P1 chez les animaux SOD. Malgré la diminution de l'excitabilité des INs du cluster 1 suggérant la levée de la désinhibition, aucun effet significatif de la TBS n'a été observé en cas de stress au niveau des couches supérieures du M1. Il est possible que la fonction GABAergique de ces souris soit trop altérée pour pouvoir efficacement réguler l'activité des CPs. L'augmentation de l'excitabilité des INs du cluster 4, observée uniquement chez les SOD, pourrait être en cause ici. Déterminer avec précision dans quelle mesure le stress influence l'activité des INs en lien avec la plasticité demeure complexe, le réseau étant déjà altéré au niveau basal. De façon surprenante, le stress tend à promouvoir l'inhibition du M1 dans les couches inférieures en bloquant la LTD du complexe inhibiteur N2-P1, phénomène sans doute relié à la diminution de l'excitabilité des INs du premier cluster. La réduction de la PPI de N1 et N2-P1 pourrait participer à ce défaut d'inhibition des CPs au sein des couches supérieures ainsi qu'à la diminution de la désinhibition des couches inférieures suite au stress.

Sur la plasticité au sein du M1 en cas de stress prénatal

Les effets du stress prénatal sur la plasticité du M1 des souris SOD sont très similaires à ceux du stress aigu. Bien qu'il n'induisse pas de modification significative de la plasticité à court terme, on observe une légère diminution de la PPI de N1 et de N2-P1. De plus, le stress prénatal ne modifie pas la plasticité de N1 suite à la TBS, mais diminue la LTD de N2-P1, favorisant l'inhibition des couches inférieures. À nouveau, l'absence de changements au niveau des couches supérieures pourrait être due à la fonction GABAergique altérée des animaux SOD, alors que la diminution de l'excitabilité des INs du cluster 1 pourrait être mise en jeu dans la suppression de la désinhibition des couches inférieures. Les modifications de la plasticité synaptique à court terme sont une nouvelle fois en adéquation avec les changements de la plasticité à long terme.

Bien que la SLA soit considérée comme étant une pathologie de l'adulte, une étude menée au laboratoire a mis en évidence la présence d'un déficit de la fonction inhibitrice au niveau de la moelle épinière chez des souris SOD à un stade embryonnaire (Branchereau et al., 2019). Une altération du réseau cortical à un stade aussi précoce n'a, jusqu'à présent et dans la mesure de

nos connaissances, pas été reportée dans le cas de la SLA. Il est cependant possible qu'elle existe, et constitue un terrain vulnérable lors de l'induction du stress prénatal, pouvant amplifier ses effets. Le stress prénatal pourrait alors potentiellement aggraver la progression de la maladie.

1.4- En résumé

La combinaison des données issues des études électrophysiologiques *in vitro* et *in vivo*, avec les informations provenant de la littérature, permet d'un peu mieux percevoir le fonctionnement du réseau neuronal au sein du M1, dans le contexte de l'induction d'une TBS (**Fig. 20**).

1.4.1- L'agencement du réseau...

Chez les souris SOD, dans les couches inférieures du M1, la LTD de la réponse neuronale inhibitrice N2-P1, associée à l'hyperexcitabilité des INs du cluster 1 suggère la mise en jeu d'un processus de désinhibition problématique au sein de ces couches. Les travaux de Zhang et ses collaborateurs (2016) démontrent l'existence d'un tel réseau au sein de la couche 5 du M1 de souris TDP-43. Dans le cas présent, les neurones inhibés seraient donc impliqués dans l'inhibition des CPs, potentiellement issus des clusters 2 et/ou 3. Comme déjà évoqué, les cellules provenant du cluster 4 étant potentiellement des VIP, ils ne seraient pas mis en jeu dans l'inhibition des CPs, mais plutôt dans celle d'autres INs (Tremblay et al., 2016).

Au sein des couches supérieures, il existe un fort contrôle inhibiteur des CPs, lequel est altéré chez les SOD, comme le souligne l'absence de LTD de la composante excitatrice N1. Les INs enregistrés étant présents dans les couches superficielles comme profondes, il est possible qu'un réseau similaire à celui des couches inférieures intervienne au niveau des couches supérieures.

Enfin, les deux boucles neuronales au sein du M1, et donc les réponses N1 et N2-P1, sont interconnectées, les projections interlaminaires étant probablement dues en majorité aux CPs (Kätzel et al., 2011; McColgan et al., 2020). Les neurones pyramidaux localisés au sein des couches 2/3 projettent à la fois sur les CPs et les INs des couches inférieures. Plus précisément, les INs des couches profondes recevant ces efférences seraient préférentiellement des neurones LTS, donc ici les INs du cluster 3, les cellules de type FS (clusters 1 et 2) recevant des projections excitatrices préférentiellement de la part des CPs locales (Apicella et al., 2012). Le rôle des INs du cluster 4 demeure quant à lui indéterminé, ces neurones peuvent cependant potentiellement inhiber les neurones GABAergiques des autres clusters (**Fig. 20**).

1.4.2- ... et son fonctionnement potentiel suite à la TBS

Chez les WT, suite à la TBS, les synapses inhibitrices réalisées par les INs 2 et/ou 3 sur les CPs de la boucle supérieure seraient potentialisées. Cette augmentation de l'efficacité de la transmission GABAergique, et sans doute des inhibitions IFF et IFB, conduit à une LTD de la transmission excitatrice (représentée par N1), diminuant l'excitabilité du M1 au niveau des couches superficielles. Au sein de la boucle inférieure, il est possible que certains INs, peut-être ceux du cluster 1, étant donné leur rôle supposé dans la désinhibition, régulent l'activité globale inhibitrice (correspondant à N2-P1).

Chez les SOD, les INs du 1^{er} cluster sont hyperexcitables. Ainsi, suite à la TBS, ils présenteraient une activité augmentée, conduisant à une plus forte inhibition exercée sur les INs des clusters 2 et/ou 3 et à une désinhibition anormale des CPs des couches superficielles. Cela aurait pour conséquence d'augmenter l'excitabilité de la boucle supérieure du M1. Un phénomène similaire se produirait au niveau de la boucle inférieure, ce qui expliquerait la dépression de N2-P1, et participerait à l'augmentation générale du niveau d'excitabilité du M1. Enfin, l'augmentation de l'activité glutamatergique au sein des couches superficielles pourrait renforcer les projections excitatrices des CPs qui y sont localisées sur les neurones pyramidaux et INs inférieurs. Cela aurait pour conséquence d'augmenter l'activité excitatrice des CPs des couches inférieures, qui pourraient plus fortement activer les INs du cluster 1. Ces derniers étant hyperexcitables, cela renforcerait leur action de désinhibition. Concernant les INs du cluster 3, dont l'activité serait également potentialisée par les CPs des couches supérieures, il est difficile de déterminer si malgré cette excitation, l'action des neurones du cluster 1 prédomine sur leur activité, et/ou si leur nombre est insuffisant pour exercer une inhibition efficace des CPs des couches inférieures. En effet, au cours des expériences *in vitro*, peu d'INs du cluster 3 ont été enregistrés chez les animaux SOD. Bien que des variations du nombre d'INs chez les SOD existent (Chung et al., 2005; Minciacchi et al., 2009), cela pourrait également être dû au hasard (**Fig. 20**).

Suite à la TBS, le stress a pour effet de faciliter la désinhibition du M1 chez les WT, mais de promouvoir son inhibition chez les SOD.

En cas de stress aigu chez les WT, l'augmentation de l'excitabilité des INs du cluster 1 pourrait conduire, suite à la stimulation, à une accentuation de la désinhibition des CPs des couches superficielles, et donc à une augmentation de l'activité de la boucle supérieure du M1. L'absence apparente d'effets à long terme au niveau du complexe N2-P1 pourrait être due au caractère par définition transitoire du stress aigu. En effet, la légère tendance à la diminution, suite à la TBS, de l'amplitude de N2-P1 pourrait être liée à l'influence excitatrice des couches

supérieures sur les CPs et les INs du cluster 1 localisés dans couches inférieures. Cependant, la régulation rapide de la réponse de stress empêcherait l'installation de changements durables au niveau des couches profondes. L'observation du maintien d'une LTD du complexe N2-P1 suite au stress prénatal pourrait soutenir cette idée, ce type de stress pouvant induire des changements durables sur le long, voire le très long terme.

Suite à un stress aigu chez les SOD, l'activité de la boucle superficielle reste inchangée après la TBS, malgré la diminution de l'excitabilité des INs du cluster 1, peut-être à cause d'une transmission GABAergique défaillante à ce niveau. Cette même réduction de l'excitabilité des INs du premier cluster pourrait cependant induire une levée de la désinhibition au niveau des couches profondes, et favoriser l'inhibition au niveau de la boucle inférieure. Le réseau des animaux SOD étant altéré, et mettant de fait en jeu d'autres processus comme en témoigne l'augmentation de l'excitabilité des neurones du cluster 4, il est délicat de se prononcer sur son fonctionnement exact en cas de stress.

1.4.3- Quelles conséquences sur les neurones pyramidaux ?

Au cours des différents chapitres de la thèse, la question de l'influence du stress sur les neurones pyramidaux eux-mêmes n'a été que peu abordée. Il est en effet difficile de déterminer avec ces données seules si l'augmentation de l'activité excitatrice du M1 suivant un stress chez les WT est uniquement due à la diminution de l'activité inhibitrice, ou si l'activité des CPs est également directement augmentée de façon indépendante. Le fait que la réponse excitatrice N1 ne soit pas potentialisée au cours du stress suppose que l'accroissement de l'activité des CPs pourrait être majoritairement dû à la levée de l'inhibition exercée sur elle. Il est cependant également possible qu'un faible contrôle inhibiteur perdure, empêchant cette potentialisation. Des études ont démontré que le stress chronique pouvait moduler l'arborisation dendritique des cellules glutamatergiques des structures limbiques (Bennur et al., 2007; Cook et Wellman, 2004; Eiland et al., 2012; Gilabert-Juan et al., 2011; Radley et al., 2006; Roozendaal et al., 2009; Sousa et al., 2000; Vyas et al., 2002), ce qui pourrait avoir des répercussions sur leur activité. Mais de la même façon, cela pourrait être une conséquence des modifications de la transmission GABAergique des neurones entourant ces neurones excitateurs. Lin et Sibille (2015) ont démontré dans le cortex cingulaire de souris, que le stress chronique impactait sélectivement les INs SST par rapport aux cellules pyramidales, en termes de régulation transcriptionnelle. Le stress pourrait ainsi spécifiquement impacter les INs par rapport aux CPs sur d'autres aspects physiologiques au sein du M1, notamment concernant la transmission neuronale.

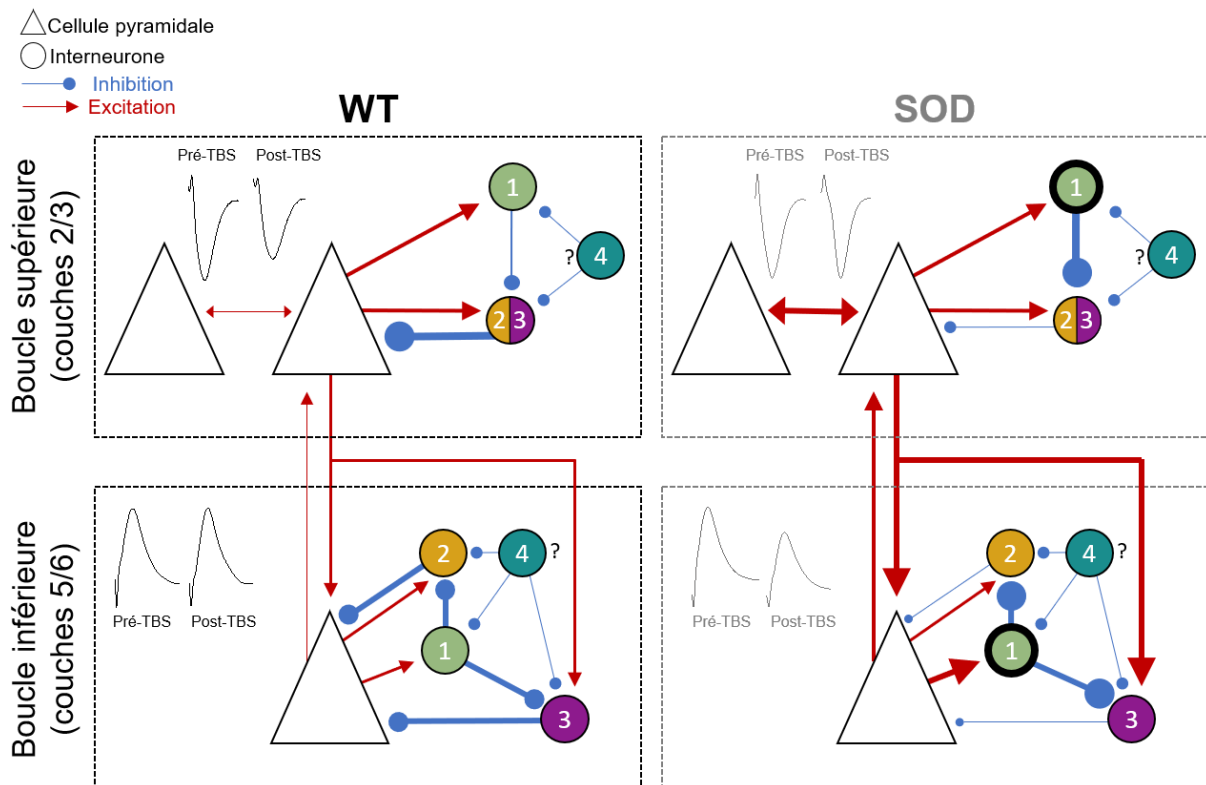


Figure 20. Schéma simplifié du fonctionnement potentiel du réseau neuronal au sein du M1 chez les animaux WT et SOD, suite à la TBS. La composante N1 serait représentative de l'activité glutamatergique émanant des CPs au sein de la boucle supérieure du M1 (couches 2/3), et N2-P1 serait le reflet de l'activité GABAergique issue des INs et de la boucle inférieure du M1 (couches 5/6). **Chez les WT** (à gauche), suite à la TBS, les synapses inhibitrices réalisées par les INs 2 et/ou 3 sur les CPs de la boucle supérieure seraient potentialisées. Cela conduirait à une LTD de la transmission excitatrice (représentée par N1), diminuant l'excitabilité du M1 au niveau des couches superficielles. Au sein de la boucle inférieure, les INs du cluster 1 pourraient réguler l'activité globale inhibitrice (correspondant à N2-P1). **Chez les SOD** (à droite), les INs du 1er cluster sont hyperexcitables et auraient une activité augmentée suite à la TBS, conduisant à une désinhibition anormale des CPs des couches superficielles. Cela augmenterait l'excitabilité de la boucle supérieure du M1. Un phénomène similaire se produirait au niveau de la boucle inférieure. L'augmentation de l'activité glutamatergique au sein des couches superficielles pourrait renforcer les projections excitatrices des CPs qui y sont localisées sur les neurones pyramidaux et INs inférieurs, potentialisant la désinhibition des couches inférieures. Les INs du cluster 3 pourraient voir leur activité augmentée également mais il est difficile de déterminer si les INs du cluster 1 prédominent sur leur activité, et/ou si leur nombre est insuffisant pour exercer une inhibition efficace des CPs des couches inférieures. En cas de **stress aigu chez les WT**, l'augmentation de l'excitabilité des INs du cluster 1 pourrait conduire à une situation similaire aux animaux SOD dans les couches supérieures suite à la TBS. L'absence apparente d'effets à long terme au niveau du complexe N2-P1 pourrait être due au caractère transitoire du stress aigu. Suite à **un stress aigu chez les SOD**, l'activité de la boucle superficielle reste inchangée après la TBS, malgré la diminution de l'excitabilité des INs du cluster 1, peut-être à cause d'une transmission GABAergique défailante à ce niveau. Cette même réduction de l'excitabilité des INs du premier cluster pourrait lever la désinhibition au niveau des couches profondes, et favoriser l'inhibition au niveau de la boucle inférieure. *L'épaisseur des flèches (excitations et inhibitions) représente la force de la connexion, l'épaisseur du contour des INs du cluster 1 représente leur excitabilité. Plus ces traits sont épais plus ces paramètres sont élevés.*

2- L'influence du stress sur les co-transporteurs au chlorure KCC2 et NKCC1 au sein du M1

Au cours de l'introduction a été décrit le rôle majeur des cotransporteurs au chlorure KCC2 et NKCC1, faisant respectivement sortir et entrer des cellules les ions Cl⁻, dans le maintien de l'efficacité inhibitrice de la transmission GABAergique (Ben-Ari et al., 2012). Ces derniers sont également impliqués dans la régulation de l'axe corticotrope suite à leur modulation par le stress et auraient une influence sur la plasticité des synapses GABAergiques (Hewitt et al., 2009; Inoue et Bains, 2014; Sarkar et al., 2011). De plus, l'altération de la transmission inhibitrice du réseau neuronal spinal des souris SOD à un stade embryonnaire mentionnée plus haut, est liée à une réduction de l'efficacité de KCC2 (Branchereau et al., 2019). Dans l'ensemble, ces données laissent supposer que les modifications de la plasticité synaptique induites par le stress seraient liées à des variations de l'expression de ces cotransporteurs au sein du M1. De plus, la probable dérégulation de leur expression au sein du M1 des souris SOD, pourrait entraîner des changements de plasticité spécifiques suite au stress, et un déséquilibre des transmissions excitatrices et inhibitrices, potentiellement préjudiciable à la SLA.

2.1- Expression de KCC2 et NKCC1 entre les souris WT et SOD

Contrairement aux résultats attendus, l'expression globale de KCC2 ainsi que de NKCC1 au sein du M1 se sont révélées semblables entre les animaux WT et SOD. Les études explorant la question de l'influence de l'activité de ces cotransporteurs au chlorure dans le cadre de la SLA se sont focalisées sur la moelle épinière. Parmi les travaux réalisés au sein de cette dernière structure chez la souris SOD1^{G93A} à un stade présymptomatique tardif, comme c'est le cas ici, on reporte de façon similaire une absence de changement (Mòdol et al., 2014) comme une diminution de l'expression de KCC2, sans modification de l'activité de NKCC1 (Fuchs et al., 2010). Une conclusion possible serait que l'expression de ces deux cotransporteurs n'a pas d'influence sur l'état d'excitabilité du M1 de souris adultes et/ou que les potentielles variations ne seraient visibles qu'à des stades plus précoces, ou plus avancés de la maladie.

2.2- L'effet du stress

Les travaux évaluant l'impact du stress sur l'expression de KCC2 et NKCC1 dans le cerveau mature ont été pour la plupart réalisés au sein de structures impliquées dans la régulation de l'axe corticotrope, en particulier l'hypothalamus et l'hippocampe (Gao et al.,

2017; Hewitt et al., 2009; S. Miller et Maguire, 2014; Sarkar et al., 2011; Tsukahara et al., 2016). Globalement, ces études ont mis en évidence une diminution de l'expression de KCC2 suite au stress, parfois accompagnée de l'augmentation concomitante de l'expression de NKCC1 (Gao et al., 2017; Tsukahara et al., 2016). Cette réduction du ratio KCC2/NKCC1 entraîne une diminution de l'efficacité de la transmission GABAergique au niveau de ces structures suite à un stress, ayant pour conséquence une augmentation de l'activité globale du réseau.

2.2.1- En cas de stress aigu

L'augmentation de l'activité du M1 suite au stress aigu chez les WT amenait donc à supposer qu'elle serait accompagnée d'une diminution du ratio KCC2/NKCC1. Or, le stress aigu a plutôt entraîné une augmentation de l'expression globale de KCC2 dans le M1, et ce sans changement de NKCC1. De même concernant les souris SOD, l'accroissement de l'activité inhibitrice des couches inférieures aurait pu être accompagné d'une augmentation de ce même ratio KCC2/NKCC1. Aucune modification de l'expression globale KCC2 n'a été observée suite à l'induction du stress aigu, lequel a plutôt favorisé une augmentation de l'expression de NKCC1.

KCC2 possède un rôle dans la formation de nouvelles épines dendritiques, fonction indépendante de sa capacité à réguler l'homéostasie des ions chlorures (Fiumelli et al., 2013; Llano et al., 2015). Les phénomènes de plasticité synaptique à long terme, de même que le stress, influençant également la morphologie dendritique (Bennur et al., 2007; Citri et Malenka, 2008; Cook et Wellman, 2004; Eiland et al., 2012; Gilabert-Juan et al., 2011; Musazzi et al., 2015; Radley et al., 2006; Roozendaal et al., 2009; Sousa et al., 2000; Vyas et al., 2002), il est possible que cette augmentation de KCC2 vise à favoriser les processus de plasticité synaptique à long terme du M1 suite au stress chez les animaux WT.

Si l'augmentation de l'expression de NKCC1 dans le cerveau adulte est classiquement reliée à des troubles de l'inhibition (Gao et al., 2017; Tsukahara et al., 2016), ou à des processus inflammatoires (Tóth et al., 2022), il est difficile de déterminer ici quel est son rôle exact chez les souris SOD. N'étant cependant pas présente en conditions basales, chez les WT, on peut tout de même supposer que cette variation de l'expression de NKCC1 relève d'un processus potentiellement pathologique.

2.2.2- En cas de stress prénatal

À nouveau, les variations dans l'expression des cotransporteurs au chlorure ne semblent pas en adéquation avec les changements de plasticité synaptique induits par le stress. En effet, le stress prénatal a conduit à une augmentation de l'expression de KCC2, et de NKCC1 dans une moindre mesure, chez les WT comme chez les SOD.

Les changements de l'expression de ces transporteurs allant dans le même sens quel que soit le génotype, il est possible que leur rôle en cas de stress prénatal réside préférentiellement dans leurs fonctions respectives dans la formation *de novo* d'épines dendritiques et dans la régulation de l'inflammation. En accord avec cette supposition, il a été démontré que le stress prénatal pouvait induire une atrophie de la morphologie dendritique au sein de l'hippocampe de rats (Jia et al., 2010). Si un phénomène similaire survenait au niveau du M1, l'augmentation de KCC2 pourrait agir en tant que phénomène compensatoire. L'autre possibilité étant que, dans le M1 spécifiquement, le stress prénatal induit plutôt une hypertrophie dendritique des CPs, favorisé par l'action de KCC2. Un processus potentiel par lequel le stress entrainerait cette augmentation de l'activité de KCC2 serait indirectement, via la réduction de l'expression de BDNF, lequel régule négativement l'expression de KCC2 (Issa et al., 2010; Kaila et al., 2014; Koo et al., 2003; Luoni et al., 2014; Rivera et al., 2002). Enfin, le stress prénatal est en général associé à des processus inflammatoires (Diz-Chaves et al., 2012; Ślusarczyk et al., 2015), qui pourraient être sous tendus par une augmentation de NKCC1.

Ces effets du stress, aigu comme prénatal, en apparence contradictoires, pourraient confirmer que KCC2 comme NKCC1 ne sont que peu impliqués dans la régulation de l'excitabilité et/ou de la plasticité du M1, du moins dans le cadre précis de cette étude.

2.3- Les limites de l'étude de l'expression globale de KCC2 et NKCC1

Dans le cadre de ce travail de thèse, l'expression des cotransporteurs au chlorure a été quantifiée en immunohistochimie de manière globale. Cette limite technique n'a pas permis d'aborder leur localisation cellulaire, laquelle peut dépendre du type de cellule. Dans le cerveau mature, alors que KCC2 est spécifiquement exprimé au niveau de la majorité des neurones, NKCC1 est préférentiellement localisé dans les cellules microgliales (Gulácsi et al., 2003; Virtanen et al., 2020). Il est possible que les CPs et les INs soient différenciellement enrichis en KCC2, et/ou réexpriment NKCC1 dans des conditions favorisant les processus inflammatoires, dans le cadre de la SLA ou en cas de stress par exemple. De telles spécificités d'expression

selon le type cellulaire pourraient être impliquées dans les variations d'excitabilité des INs observées suite à l'induction d'un stress. Au sein du néocortex, cela aurait son importance concernant les INs PV chandeliers en particulier, qui ciblent le segment axonal des CPs. Ce dernier possède effectivement des synapses GABAergiques plus dépolarisées, dû à l'activité prononcée de NKCC1 et à l'augmentation subséquente de $[Cl^-]_i$ à ce niveau (Khirug et al., 2008; Tremblay et al., 2016). Aussi, l'effet de l'activité de ces INs PV chandeliers serait impacté par un changement de l'expression de KCC2 et/ou NKCC1 spécifiquement au niveau du soma des CPs.

Enfin, KCC2 et NKCC1 existent sous deux formes, active et inactive. Le passage d'une forme à l'autre est dépendant de mécanismes de phosphorylation et/ou de déphosphorylation de différents résidus par des kinases et phosphatases (Fukuda, 2020; H. H. C. Lee et al., 2007; Rinehart et al., 2009). Les anticorps anti-KCC2 et anti-NKCC1 utilisés au cours de ces travaux reconnaissant les formes active comme inactive de ces protéines sans distinction, les variations de leur expression observées suite aux différents stress ne reflètent pas nécessairement des changements dans leur activité.

II- L'influence du stress sur les apprentissages et la progression de la SLA

1- Anxiété et performances cognitives

1.1- Entre les souris WT et SOD

En accord avec le fait que près de la moitié des patients atteints de SLA présente des troubles comportementaux et cognitifs (Ringholz et al., 2005; Wheaton et al., 2007), les animaux SOD à un stade présymptomatique ont démontré un comportement de type anxieux plus élevé que les animaux WT, associé à des déficits de la mémoire spatiale. Ce type de déficit non moteur a été décrit précédemment chez ce même modèle de souris (Kreilaus et al., 2020; Quarta et al., 2015) et a été mis en relation avec des altérations de la transmission inhibitrice au sein de l'hippocampe (Quarta et al., 2015; Rei et al., 2020). L'apparition de troubles anxieux serait liée à des déficits de la transmission inhibitrice au sein des structures limbiques (Babaev et al., 2018; Kalueff et Nutt, 2007; Wierońska et al., 2011). Il est donc probable que l'altération précoce de la fonction GABAergique des animaux SOD participe à ce niveau d'« anxiété » plus élevé.

1.2- L'effet du stress

Le stress prénatal n'a pas induit de modification du niveau d'anxiété des animaux. Les données issues de la littérature à ce sujet sont hétérogènes, il semblerait que la variation du niveau d'« anxiété » en cas de stress prénatal soit très dépendante du protocole utilisé pour l'induire (Akatsu et al., 2015; Baek et al., 2016; Miyagawa et al., 2011; Nishio et al., 2006; Pallarés et al., 2007).

Pour ce qui est de la mémoire spatiale, l'influence délétère du stress a souvent été décrite, aussi bien pour un stress aigu que pour un stress prénatal (Benoit et al., 2015; Cazakoff et al., 2010; Ishiwata et al., 2005; Y.-A. Lee et al., 2016; Son, 2006). Dans le cadre de cette thèse, les animaux WT et SOD présentaient des troubles de la mémoire spatiale suite à ces deux types de stress. Le test de mémoire utilisé dans cette étude permettait également d'évaluer la présence ou non de déficits de la mémoire indicée, laquelle est sous-tendue par le striatum. Dans ce type de test, une coopération des systèmes de mémoire hippocampique et striatale permet à l'animal de se repérer en se référant à un élément saillant de l'environnement dans

lequel il se trouve, un indice, tout en formant une carte spatiale de ce même environnement (A. S. Lee et al., 2008; Poldrack et Packard, 2003). Il a été montré que cette interaction coopérative serait défaillante en cas de stress, favorisant un système de mémoire striatale peu flexible au détriment d'un système hippocampique plus flexible (Schwabe et al., 2007). Ici, le stress n'a pas favorisé cette transition, mais a semblé avoir un impact à la fois sur les stratégies spatiale et indicée, en particulier chez les souris SOD. Une explication pourrait résider dans le protocole de stress utilisé, qui serait trop fort pour observer une telle transition.

Les déficits non moteurs observés chez les animaux SOD à un stade présymptomatique, ne sont pas amplifiés par le stress prénatal. Ces souris présentant déjà des altérations structurelles conséquentes dans l'hippocampe et le striatum (Fogarty et al., 2017; Quarta et al., 2015; Rei et al., 2020; Rossi et al., 2010), il est possible qu'on ne puisse pas déclencher et/ou observer des déficits mnésiques supplémentaires suite à un stress.

2- Performances motrices

La plasticité synaptique joue un rôle majeur dans les processus adaptatifs. Les distinctions dans l'expression de la plasticité au sein du M1 chez les souris WT et SOD pouvaient laisser supposer un lien entre plasticité synaptique et comportements moteurs.

2.1- Entre les souris WT et SOD

Les souris SOD à un stade présymptomatique ne présentaient pas de déficits moteurs par rapport aux souris WT. Au cours de la phase d'acquisition de la tâche lors du test moteur, ces souris ont cependant présenté une légère difficulté à s'adapter à la condition la plus exigeante.

Il est possible que cela ait un lien avec les différences d'excitabilité et/ou de plasticité corticale entre les WT et les SOD. Le M1 est en effet impliqué dans les apprentissages moteurs (Bhattacharjee et al., 2021; Sanes et Donoghue, 2000), et présente des modifications de sa plasticité synaptique au cours de l'acquisition d'une tâche motrice (Bütefisch et al., 2000; Chen et al., 2015; Costa et al., 2004; Dayan et Cohen, 2011; Karni et al., 1995; Monfils et al., 2005). Le M1 étant plus excitable chez les SOD, les phénomènes plastiques liés à ces apprentissages moteurs pourraient différer par rapport aux WT, de la même façon que ce qui a été observé suite à la TBS. Relevant d'un processus d'adaptation mis en place du fait des altérations des transmissions excitatrices et inhibitrices, cette plasticité spécifique du M1 des SOD leur permettrait de réaliser la tâche motrice. Le réseau cortical n'en reste pas moins altéré et pourrait

être moins efficace dans la réalisation de mouvements plus complexes et/ou demandant une adaptation fine. Le fait que les souris SOD ne se démarquent pas des WT au cours du rappel de la tâche motrice, le lendemain, suggère une influence plus importante des modifications de la plasticité du M1 lors de la phase d'apprentissage.

2.2- L'effet du stress

Alors que les performances motrices des souris WT et SOD n'ont pas été impactées suite à l'induction d'un stress aigu, le stress prénatal a quant à lui perturbé la fonction motrice des animaux, quel que soit le génotype.

À nouveau, des changements spécifiques de la plasticité synaptique pourraient être en cause chez les animaux ayant subi un stress prénatal. De plus, l'altération des performances motrices étant plus prononcée lors de la phase d'acquisition de la tâche, on peut supposer que le stress aurait une influence plus marquée sur l'apprentissage moteur plutôt que sur l'exécution du mouvement en elle-même. Cela serait concordant avec l'implication majeure du M1 dans les apprentissages moteurs, en particulier la rétention d'une nouvelle tâche motrice et les phases les plus précoces de la consolidation (Bhattacharjee et al., 2021). L'absence d'effet du stress aigu pourrait soutenir cette hypothèse, ce dernier ayant été induit le lendemain de la phase d'acquisition de la tâche et donc après les premières étapes de l'apprentissage moteur.

Chez les WT, le stress (aigu ou prénatal) augmente l'activité globale du M1, alors qu'il tend à la diminuer chez les SOD. Malgré cette différence au niveau des phénomènes plastiques lorsque l'on compare les animaux WT et SOD stressés entre eux, aucune différence comportementale n'a été relevée entre ces mêmes souris. Bien sûr, l'une des possibilités serait que ces changements au sein du M1 n'aient pas d'influence sur les comportements moteurs. Cependant, en conditions physiologiques, l'augmentation de l'excitabilité du M1 a été reliée aux apprentissages moteurs (Coxon et al., s. d.; Kolasinski et al., 2019; Maruyama et al., 2021). Dans ce cas, l'augmentation de l'activité globale du M1 suite au stress chez les WT permettrait de favoriser l'acquisition d'aptitudes motrices, et ce afin d'assurer une adaptation comportementale optimale. Pourtant, chez les SOD, le stress tend, au contraire, à diminuer l'activité globale du M1, ce qui irait à l'encontre de cette idée. Il est cependant à garder en mémoire que le réseau cortical des animaux SOD est hyperexcitable (Brunet et al., 2020). Il est possible que cette réduction d'activité du M1 constitue la réponse adaptative au stress, mise en place par les SOD, pour diminuer l'excitabilité globale du cortex, phénomène indispensable à l'instauration de stratégies motrices appropriées chez ces souris. En d'autres termes, pour

adapter les comportements à une situation, le stress engagerait des modifications de l'activité neuronale visant à promouvoir son fonctionnement optimal dans le cadre de ladite situation. Toutefois, une modification initiale du réseau, tel que c'est le cas pour les souris SOD, pourraient s'opposer à cette adaptation et induire des changements spécifiques de l'activité neuronale. Il a en effet été montré que les conséquences d'une stimulation à haute fréquence, sur la plasticité synaptique, dépendent de l'état initial d'excitabilité du réseau de la structure concernée (Barnes et al., 1994; Nguyen-Vu et al., 2017). De plus, les performances dans un apprentissage varient en fonction de l'historique d'activité des synapses des structures engagées dans la réalisation de la tâche (Barnes et al., 1994; Nguyen-Vu et al., 2017). Le stress, en tant que réponse adaptative, induirait donc des changements homéostatiques de la plasticité synaptique, dont l'impact varierait en fonction de l'état initial d'excitabilité du M1.

Les effets délétères du stress prénatal sur la fonction motrice pourraient cependant aller à l'encontre de cette hypothèse. Or, contrairement au stress aigu qui est transitoire par définition, et qui déclenche des réponses physiologiques, ce n'est pas le cas du stress prénatal. Ce dernier induit un grand nombre de modifications pouvant perdurer ou avoir des conséquences sur le long terme. Parmi elles, le maintien d'un état d'excitabilité et/ou de modifications de la plasticité synaptique durables qui pourrait avoir des conséquences néfastes sur les neurones corticaux.

3- L'influence du stress sur l'évolution de la SLA

Bien que le stress prénatal n'ait pas influencé la survie des animaux SOD, ces souris ont eu tendance à présenter des symptômes moteurs de la SLA plus précocement, suggérant un potentiel effet délétère du stress dans l'évolution de la SLA.

Les effets relativement légers ici du stress prénatal pourraient être dus au protocole de stress utilisé. En effet, selon les études et la méthode employée pour induire un stress prénatal, ce dernier ne conduit pas aux mêmes conséquences, voire n'a pas d'effet (Miyagawa et al., 2011). Il est également possible que le test utilisé pour évaluer l'évolution des symptômes ne soit pas assez fin, associé à la progression extrêmement rapide de la pathologie chez le modèle SOD1^{G93A}, qui pourrait masquer d'éventuels effets du stress.

Sur le plan anatomique, l'absence de connexions monosynaptiques entre les neurones moteurs supérieurs et inférieurs d'une part, et les capacités de compensation du système moteur murin d'autre part, font que les capacités motrices des souris ne reposent pas sur la voie corticospinale

comme les primates humains (Lemon, 2008). Aussi, si selon le modèle corticofuge de la SLA, la dégénérescence des neurones moteurs supérieurs participe grandement à celle des neurones moteurs inférieurs (Brunet et al., 2020; Gunes et al., 2020), il se pourrait que cette influence soit moindre chez les souris, pouvant également expliquer cette absence d'effet majeur du stress.

Au-delà du cortex l'effet du stress pourrait résider dans la présence, au niveau de la moelle épinière, de récepteurs aux GCs (Marlier et al., 1995). A ce sujet, des lésions de la moelle épinière ont été associées à l'apparition de troubles anxieux et/ou de troubles de l'humeur chez l'Homme (Pollock et al., 2017; Post et van Leeuwen, 2012). Bouchard et Hook (2014) ont postulé que le stress constituerait un facteur modulateur de la rémission suivant une lésion de la moelle épinière, possiblement en impactant les processus inflammatoires. Il serait intéressant de déterminer dans quelle mesure un stress psychogénique, comme celui utilisé au cours de cette étude, pourrait influencer le réseau spinal des souris et quelles en seraient les conséquences sur la progression de la SLA.

Perspectives

Afin d'approfondir la caractérisation de l'influence du stress sur le M1, une première étape serait de précisément identifier la nature des INs du réseau en associant à l'étude électrophysiologique des propriétés des neurones GABAergiques des analyses complémentaires moléculaire et morphologique. Il serait alors possible dans un second temps de cibler spécifiquement ces INs, pour les activer ou les inhiber à l'aide de techniques d'optogénétique. Conjugué à des approches électrophysiologique et comportementale, cela permettrait d'évaluer la contribution de chaque groupe d'INs dans la plasticité du réseau M1-M1 et les comportements moteurs, et de déterminer avec précision les INs dont l'activité peuvent mimer ou non les conséquences d'un stress.

Par ailleurs, concernant les comportements moteurs, il serait judicieux d'employer des tests évaluant plus spécifiquement la motricité fine, par exemple en utilisant des tests de « reaching » et de « grasping ». Le M1 est en effet particulièrement engagé dans la réalisation de gestes fins nécessitant de la dextérité (Hamano et al., 2021; Jadavji et Metz, 2008; G. A. Metz et al., 2005), et l'utilisation de tels tests permettrait peut-être de mieux apprécier l'impact du stress sur la motricité.

Le fonctionnement du réseau neuronal au sein du M1 évoqué dans le cadre de ce travail, combinant les données obtenues et celles issues de la littérature, reste spéculatif. Par exemple, nous avons considéré ici que l'agencement entre CPs et INs était similaire au sein des boucles supérieure et inférieure du M1. Or ce n'est peut-être pas le cas, les rôles fonctionnels de ces deux réseaux interconnectés étant différents, la boucle supérieure jouant un rôle dans l'intégration de l'information et la boucle inférieure dans l'envoi d'efférences vers d'autres structures sous-corticales (Tremblay et al., 2016). Afin de parfaire notre compréhension de l'effet du stress au sein du M1, il serait important de mieux caractériser l'agencement du réseau spécifiquement au sein du cortex moteur. À cette fin, des approches électro-anatomique et optogénétique basées sur la technique de photostimulation, associées à l'usage de lignées murines transgéniques et/ou l'injection de traceurs rétrogrades pourraient être utilisées.

Ce travail de thèse étant à visée exploratoire, les liens entre cotransporteurs au chlorure et stress restent corrélatifs. Le blocage de ces protéines au sein du M1 à l'aide d'antagonistes suite à un stress, préalablement à l'étude de la plasticité du réseau M1-M1, pourrait permettre de confirmer ou non leur implication dans les changements plastiques liés à la réponse au stress.

De plus, comme déjà évoqué au cours de cette discussion, il serait pertinent de précisément caractériser la localisation cellulaire de ces récepteurs, à l'aide de techniques d'immunohistochimie, afin de mieux comprendre leur rôle dans le fonctionnement du réseau cortical mature, et ce que cela implique en cas stress.

Au cours de ces travaux, deux types de stress se sont révélés capables d'influencer le fonctionnement du M1. Un stress aigu, conduisant à une réponse physiologique, ainsi qu'un stress prénatal, ayant des répercussions à plus long terme, potentiellement délétères pour la fonction motrice et l'évolution de la SLA. Qu'en est-il du stress chronique ? Ce dernier a été mis en jeu dans l'apparition de troubles de l'humeur, anxieux et cognitifs (Fogaça et Duman, 2019; Gellner et al., 2022; Graybeal et al., 2011; McEwen et al., 2016), mais également dans le cadre de maladies neurodégénératives telles que les maladies d'Alzheimer ou de Parkinson (Dallé et Mabandla, 2018; Hoeijmakers et al., 2017; Piirainen et al., 2017; Sotiropoulos et Sousa, 2016; van Wamelen et al., 2020). Il est tout à fait probable qu'un stress chronique ait également un impact sur le M1 et les fonctions motrices. L'étude de ce type de stress sur l'excitabilité et la plasticité du M1 ainsi que sur les comportements moteurs pourrait s'avérer particulièrement pertinente dans le contexte lié à la SLA.

La notion de sensibilité au stress, et donc de vulnérabilité, n'a pas été abordée dans le cadre de cette thèse. Or, il existe une variabilité interindividuelle importante dans les réponses physiologiques et comportementales dues au stress. Aussi, si tous les individus sont potentiellement sensibles au stress, l'apparition de pathologies qui lui sont liées ne concerne qu'une minorité de sujets. La vulnérabilité au stress a été associée à une dérégulation de l'axe corticotrope et serait liée à des altérations génétiques comme épigénétiques. Elle toucherait de plus en particulier les circuits neuronaux inhibiteurs de la réponse de stress, notamment en lien avec l'hippocampe et le cortex préfrontal (Ebner et Singewald, 2017). Il serait intéressant de déterminer dans quelle mesure cette sensibilité interindividuelle influence le fonctionnement du M1 suite à un stress, ainsi que ses conséquences sur le développement de la SLA. Dans le contexte de ce travail, une première étape serait d'augmenter le nombre d'animaux par groupe, afin de mettre en évidence la présence potentielle de sous-catégories selon la sensibilité au stress des souris, via une mesure des taux de GCs en réponse à un stress, et de corrélérer ces résultats avec les données électrophysiologiques et immunohistochimiques.

L'intégralité de cette étude a été réalisée chez des souris mâles. Or, il existe un dimorphisme sexuel dans la réactivité de l'axe corticotrope suite à un stress, se traduisant par une activation plus robuste chez les femelles (Heck et Handa, 2019; Oyola et Handa, 2017; Sze

et Brunton, 2020). Les conséquences du stress sont également distinctes entre mâles et femelles. Il n'impacte pas de la même manière la transmission neuronale et la morphologie des structures limbiques, et n'induit pas les mêmes conséquences comportementales (Duman et al., 2019; Jadavji et Metz, 2008; Sze et Brunton, 2020). Les femmes tout comme les rongeurs femelles sont par ailleurs plus sensibles à l'installation de troubles de l'humeur ou de troubles anxieux (Sze et Brunton, 2020). Parallèlement à cela, la progression de la SLA semble évoluer plus lentement chez les femelles (Kreilaus et al., 2020; Molnar-Kasza et al., 2021). Il apparaît ainsi impératif d'évaluer les effets du stress sur le M1 chez les femelles, ainsi que ses conséquences en cas de SLA, selon les mêmes paramètres que ceux présentés ici afin de rendre possible des comparaisons selon le sexe. La lignée murine SOD1^{G93A} pourrait être utilisée à cet effet, avec cependant la nécessité de contrôler quotidiennement l'évolution du cycle ovarien des souris. La difficulté de l'étude réside dans la multitude de groupes qui en découle : au-delà de la séparation WT et SOD et des sous-ensembles stress et non stress, il serait en effet pertinent d'évaluer l'effet du stress selon les taux d'œstrogènes circulants au cours du cycle ovarien. Chez la souris, ce dernier est d'une durée de 4-5 jours et est constitué de 4 phases (proestrus, estrus, metestrus et diestrus) (Byers et al., 2012). La formation d'au minimum deux sous-groupes supplémentaires serait alors nécessaire, pour évaluer l'effet du stress en cas d'une concentration en œstrogènes élevée (stade de l'estrus) ou non (regroupant les autres phases du cycle).

Enfin, les travaux menés au cours de cette thèse ont mis en évidence l'influence du stress sur l'activité du M1. Qu'en est-il de la réciproque ? Si l'amygdale envoie des afférences au niveau du cortex moteur (Grèzes et al., 2014; Kita et Kitai, 1990; Morecraft et al., 2007), il n'y a pas, à notre connaissance, de données évaluant s'il s'agit d'une relation bidirectionnelle (Schönfeld et Wojtecki, 2019). Le M1 des rongeurs comme des primates humains et non humains envoie cependant des projections au niveau des glandes surrénales (Dum et al., 2019), il n'est donc pas exclu qu'il régule la réponse de stress. Une première approche électrophysiologique *in vivo*, stimulant le M1 et enregistrant la réponse neuronale de l'amygdale, en cas de stress ou non, pourrait constituer un premier pas dans la compréhension de l'influence supposée du M1 dans la régulation de la réponse au stress.

Conclusion

Le stress, en tant que réponse adaptative, conduit dans sa finalité à la mise en place de comportements moteurs spécifiques, afin de faire face à une situation perçue comme menaçante. En accord avec ce rôle clé du stress, ce travail de recherche a mis en avant son impact sur une aire cérébrale non limbique, le cortex moteur primaire (M1), structure majeure du contrôle des mouvements volontaires. L'utilisation de la lignée murine transgénique, modèle de la SLA, SOD1^{G93A} (SOD), a révélé non seulement l'influence à court terme d'un stress aigu, mais également celle à long terme d'un stress prénatal, sur le M1 en conditions physiologiques chez les animaux WT et pathologiques chez les souris SOD. Si ces deux types de stress semblent moduler l'excitabilité du M1 de la même manière, cet effet s'avère dépendre du génotype des souris, augmentant cette excitabilité chez les WT tout en la diminuant chez les SOD. Ces modifications du réseau neuronal au sein du M1 suite à un stress pourraient avoir leur importance dans l'adaptation des comportements moteurs, mais également dans l'évolution de la SLA. En effet, si le stress aigu entraîne une réponse adaptative physiologique, ce n'est pas nécessairement le cas du stress prénatal. Ce dernier entraîne effectivement des troubles de la fonction motrice, et pourrait potentiellement précipiter le développement des symptômes moteurs dans le cadre de la SLA, bien que les effets observés soient limités, probablement du fait de la moindre importance du M1 dans le fonctionnement du système moteur murin. Cela n'en laisse pas moins soupçonner que le maintien d'un déséquilibre entre excitations et inhibitions au sein du M1, suite à un stress, participe aux déficits déjà présents au sein du réseau cortical moteur observés dans la SLA. Il apparaît nécessaire d'étendre nos connaissances sur les mécanismes physiologiques sous-tendant l'influence du stress sur le M1, afin de mieux en apprécier les conséquences dans le cadre d'un réseau cortical moteur altéré. Enfin, si ces données ont souligné l'influence du stress sur le M1, il convient également d'explorer la relation inverse, afin de déterminer dans quelle mesure le cortex moteur pourrait réguler la réponse au stress.

Bibliographie

- Abe, K., Aoki, M., Tsuji, S., Itoyama, Y., Sobue, G., Togo, M., Hamada, C., Tanaka, M., Akimoto, M., Nakamura, K., Takahashi, F., Kondo, K., Yoshino, H., Abe, K., Aoki, M., Tsuji, S., Itoyama, Y., Sobue, G., Togo, M., ... Yoshino, H. (2017). Safety and efficacy of edaravone in well defined patients with amyotrophic lateral sclerosis : A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet Neurology*, *16*(7), 505-512. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30115-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30115-1)
- Abraham, W. C. (2008). Metaplasticity : Tuning synapses and networks for plasticity. *Nature Reviews Neuroscience*, *9*(5), 387-387. <https://doi.org/10.1038/nrn2356>
- Abraham, W. C., & Bear, M. F. (1996). Metaplasticity : The plasticity of synaptic plasticity. *Trends in Neurosciences*, *19*(4), 126-130. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(96\)80018-x](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(96)80018-x)
- Ahima, R., Krozowski, Z., & Harlan, R. E. (1991). Type I corticosteroid receptor-like immunoreactivity in the rat CNS : Distribution and regulation by corticosteroids. *The Journal of Comparative Neurology*, *313*(3), 522-538. <https://doi.org/10.1002/cne.903130312>
- Ahima, R. S., Garcia, M. M., & Harlan, R. E. (1992). Intracellular Localization of Corticosteroid Receptors in Brain : Potential Interactions with Signal Transduction Pathways. *Experimental Biology and Medicine*, *201*(3), 244-253. <https://doi.org/10.3181/00379727-201-43503B>
- Akatsu, S., Ishikawa, C., Takemura, K., Ohtani, A., & Shiga, T. (2015). Effects of prenatal stress and neonatal handling on anxiety, spatial learning and serotonergic system of male offspring mice. *Neuroscience Research*, *101*, 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2015.07.002>
- Al-Chalabi, A., & Hardiman, O. (2013). The epidemiology of ALS : A conspiracy of genes, environment and time. *Nature Reviews Neurology*, *9*(11), 617-628. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2013.203>
- Alfarez, D. N., Joëls, M., & Krugers, H. J. (2003). Chronic unpredictable stress impairs long-term potentiation in rat hippocampal CA1 area and dentate gyrus *in vitro* : Chronic stress and synaptic plasticity. *European Journal of Neuroscience*, *17*(9), 1928-1934. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02622.x>
- Anderson, C. T., Sheets, P. L., Kiritani, T., & Shepherd, G. M. G. (2010). Sublayer-specific microcircuits of corticospinal and corticostriatal neurons in motor cortex. *Nature Neuroscience*, *13*(6), 739-744. <https://doi.org/10.1038/nn.2538>
- Apicella, A. J., Wickersham, I. R., Seung, H. S., & Shepherd, G. M. G. (2012). Laminarily Orthogonal Excitation of Fast-Spiking and Low-Threshold-Spiking Interneurons in Mouse Motor Cortex. *Journal of Neuroscience*, *32*(20), 7021-7033. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0011-12.2012>
- Arancibia, S., Payet, O., Givalois, L., & Tapia-Arancibia, L. (2001). Acute stress and dexamethasone rapidly increase hippocampal somatostatin synthesis and release from the dentate gyrus hilus. *Hippocampus*, *11*(4), 469-477. <https://doi.org/10.1002/hipo.1061>

- Arancibia-Cárcamo, I. L., & Kittler, J. T. (2009). Regulation of GABAA receptor membrane trafficking and synaptic localization. *Pharmacology & Therapeutics*, *123*(1), 17-31. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2009.03.012>
- Aroniadou, V. A., & Keller, A. (1993). The patterns and synaptic properties of horizontal intracortical connections in the rat motor cortex. *Journal of Neurophysiology*, *70*(4), 1553-1569. <https://doi.org/10.1152/jn.1993.70.4.1553>
- Aronica, E., Baas, F., Iyer, A., ten Asbroek, A. L. M. A., Morello, G., & Cavallaro, S. (2015). Molecular classification of amyotrophic lateral sclerosis by unsupervised clustering of gene expression in motor cortex. *Neurobiology of Disease*, *74*, 359-376. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.12.002>
- Ashok Verma, M. D. (2021). Clinical Manifestation and Management of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Exon Publications*, 1-14. <https://doi.org/10.36255/exonpublications.amyotrophiclateralsclerosis.management.2021>
- Babaev, O., Piletti Chatain, C., & Krueger-Burg, D. (2018). Inhibition in the amygdala anxiety circuitry. *Experimental & Molecular Medicine*, *50*(4), 1-16. <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0063-8>
- Baek, H., Yi, M.-H., Pandit, S., Park, J. B., Kwon, H. H., Zhang, E., Kim, S., Shin, N., Kim, E., Lee, Y. H., Kim, Y., Kim, D. W., & Kang, J. W. (2016). Altered expression of KCC2 in GABAergic interneuron contributes prenatal stress-induced epileptic spasms in infant rat. *Neurochemistry International*, *97*, 57-64. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.05.006>
- Baker, A., Kalmbach, B., Morishima, M., Kim, J., Juavinett, A., Li, N., & Dembrow, N. (2018). Specialized Subpopulations of Deep-Layer Pyramidal Neurons in the Neocortex: Bridging Cellular Properties to Functional Consequences. *The Journal of Neuroscience*, *38*(24), 5441-5455. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0150-18.2018>
- Bakken, T. E., Jorstad, N. L., Hu, Q., Lake, B. B., Tian, W., Kalmbach, B. E., Crow, M., Hodge, R. D., Krienen, F. M., Sorensen, S. A., Eggermont, J., Yao, Z., Aevermann, B. D., Aldridge, A. I., Bartlett, A., Bertagnolli, D., Casper, T., Castanon, R. G., Crichton, K., ... Lein, E. S. (2021). Comparative cellular analysis of motor cortex in human, marmoset and mouse. *Nature*, *598*(7879), 111-119. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03465-8>
- Bannister, A. P. (2005). Inter- and intra-laminar connections of pyramidal cells in the neocortex. *Neuroscience Research*, *53*(2), 95-103. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2005.06.019>
- Barker, A. T., Jalinous, R., & Freeston, I. L. (1985). Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet (London, England)*, *1*(8437), 1106-1107. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(85\)92413-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(85)92413-4)
- Barnes, C. A., Jung, M. W., McNaughton, B. L., Korol, D. L., Andreasson, K., & Worley, P. F. (1994). LTP saturation and spatial learning disruption: Effects of task variables and saturation levels. *Journal of Neuroscience*, *14*(10), 5793-5806. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-10-05793.1994>

- Beaulieu, C. (1993). Numerical data on neocortical neurons in adult rat, with special reference to the GABA population. *Brain Research*, 609(1-2), 284-292. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90884-p](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90884-p)
- Ben-Ari, Y., Khalilov, I., Kahle, K. T., & Cherubini, E. (2012). The GABA Excitatory/Inhibitory Shift in Brain Maturation and Neurological Disorders. *The Neuroscientist*, 18(5), 467-486. <https://doi.org/10.1177/1073858412438697>
- Bennur, S., Shankaranarayana Rao, B. S., Pawlak, R., Strickland, S., McEwen, B. S., & Chattarji, S. (2007). Stress-induced spine loss in the medial amygdala is mediated by tissue-plasminogen activator. *Neuroscience*, 144(1), 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.08.075>
- Benoit, J. D., Rakic, P., & Frick, K. M. (2015). Prenatal stress induces spatial memory deficits and epigenetic changes in the hippocampus indicative of heterochromatin formation and reduced gene expression. *Behavioural Brain Research*, 281, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.12.001>
- Bensimon, G., Lacomblez, L., & Meininger, V. (1994). A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. ALS/Riluzole Study Group. *The New England Journal of Medicine*, 330(9), 585-591. <https://doi.org/10.1056/NEJM199403033300901>
- Bhattacharjee, S., Kashyap, R., Abualait, T., Annabel Chen, S.-H., Yoo, W.-K., & Bashir, S. (2021). The Role of Primary Motor Cortex : More Than Movement Execution. *Journal of Motor Behavior*, 53(2), 258-274. <https://doi.org/10.1080/00222895.2020.1738992>
- Bliss, T. V. P., & Cooke, S. F. (2011). Long-term potentiation and long-term depression : A clinical perspective. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, 66 Suppl 1, 3-17. <https://doi.org/10.1590/s1807-59322011001300002>
- Bliss, T. V. P., & Lømo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, 232(2), 331-356. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1973.sp010273>
- Bopp, R., Holler-Rickauer, S., Martin, K. A. C., & Schuhknecht, G. F. P. (2017). An Ultrastructural Study of the Thalamic Input to Layer 4 of Primary Motor and Primary Somatosensory Cortex in the Mouse. *The Journal of Neuroscience*, 37(9), 2435-2448. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2557-16.2017>
- Boudaba, C., Schrader, L. A., & Tasker, J. G. (1997). Physiological Evidence for Local Excitatory Synaptic Circuits in the Rat Hypothalamus. *Journal of Neurophysiology*, 77(6), 3396-3400. <https://doi.org/10.1152/jn.1997.77.6.3396>
- Branchereau, P., Martin, E., Allain, A.-E., Cazenave, W., Supiot, L., Hodeib, F., Laupénie, A., Dalvi, U., Zhu, H., & Cattaert, D. (2019). Relaxation of synaptic inhibitory events as a compensatory mechanism in fetal SOD spinal motor networks. *ELife*, 8, e51402. <https://doi.org/10.7554/eLife.51402>
- Broqua, P., Baudrie, V., Laude, D., & Chaouloff, F. (1992). Influence of the novel antidepressant tianeptine on neurochemical, neuroendocrinological, and behavioral effects of stress in rats. *Biological Psychiatry*, 31(4), 391-400. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(92\)90232-O](https://doi.org/10.1016/0006-3223(92)90232-O)

- Brown, R. H., & Al-Chalabi, A. (2017). Amyotrophic Lateral Sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 377(2), 162-172. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1603471>
- Brunet, A., Stuart-Lopez, G., Burg, T., Scekic-Zahirovic, J., & Rouaux, C. (2020). Cortical Circuit Dysfunction as a Potential Driver of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 363. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00363>
- Bütefisch, C. M., Davis, B. C., Wise, S. P., Sawaki, L., Kopylev, L., Classen, J., & Cohen, L. G. (2000). Mechanisms of use-dependent plasticity in the human motor cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(7), 3661-3665. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.7.3661>
- Byers, S. L., Wiles, M. V., Dunn, S. L., & Taft, R. A. (2012). Mouse Estrous Cycle Identification Tool and Images. *PLOS ONE*, 7(4), e35538. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035538>
- Cannon, W. B. (1915). *Bodily changes in pain, hunger, fear and rage : An account of recent researches into the function of emotional excitement* (p. xiii, 311). D Appleton & Company. <https://doi.org/10.1037/10013-000>
- Cannon, W. B. (1929). ORGANIZATION FOR PHYSIOLOGICAL HOMEOSTASIS. *Physiological Reviews*, 9(3), 399-431. <https://doi.org/10.1152/physrev.1929.9.3.399>
- Caramia, M. D., Cicinelli, P., Paradiso, C., Mariorenzi, R., Zarola, F., Bernardi, G., & Rossini, P. M. (1991). 'Excitability' changes of muscular responses to magnetic brain stimulation in patients with central motor disorders. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology/Evoked Potentials Section*, 81(4), 243-250. [https://doi.org/10.1016/0168-5597\(91\)90009-M](https://doi.org/10.1016/0168-5597(91)90009-M)
- Castillo, P. E., Chiu, C. Q., & Carroll, R. C. (2011). Long-term plasticity at inhibitory synapses. *Current Opinion in Neurobiology*, 21(2), 328-338. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.01.006>
- Cazakoff, B. N., Johnson, K. J., & Howland, J. G. (2010). Converging effects of acute stress on spatial and recognition memory in rodents : A review of recent behavioural and pharmacological findings. *Biological Psychiatry*, 9.
- Cengiz, B., & Kuruoğlu, R. (2020). A new parameter to discriminate amyotrophic lateral sclerosis patients from healthy participants by motor cortical excitability changes. *Muscle & Nerve*, 61(3), 354-362. <https://doi.org/10.1002/mus.26786>
- Cerqueira, J. J., Mailliet, F., Almeida, O. F. X., Jay, T. M., & Sousa, N. (2007). The Prefrontal Cortex as a Key Target of the Maladaptive Response to Stress. *Journal of Neuroscience*, 27(11), 2781-2787. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4372-06.2007>
- Chen, S. X., Kim, A. N., Peters, A. J., & Komiyama, T. (2015). Subtype-specific plasticity of inhibitory circuits in motor cortex during motor learning. *Nature Neuroscience*, 18(8), 1109-1115. <https://doi.org/10.1038/nn.4049>
- Chiò, A., Logroscino, G., Traynor, B. J., Collins, J., Simeone, J. C., Goldstein, L. A., & White, L. A. (2013). Global Epidemiology of Amyotrophic Lateral Sclerosis : A Systematic Review of the Published Literature. *Neuroepidemiology*, 41(2), 118-130. <https://doi.org/10.1159/000351153>

- Christou, E. A., Jakobi, J. M., Critchlow, A., Fleshner, M., & Enoka, R. M. (2004). The 1- to 2-Hz oscillations in muscle force are exacerbated by stress, especially in older adults. *Journal of Applied Physiology*, 97(1), 225-235. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00066.2004>
- Chung, S., Son, G. H., Park, S. H., Park, E., Lee, K. H., Geum, D., & Kim, K. (2005). Differential Adaptive Responses to Chronic Stress of Maternally Stressed Male Mice Offspring. *Endocrinology*, 146(7), 3202-3210. <https://doi.org/10.1210/en.2004-1458>
- Citri, A., & Malenka, R. C. (2008). Synaptic Plasticity: Multiple Forms, Functions, and Mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 18-41. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301559>
- Cobos, I., Calcagnotto, M. E., Vilaythong, A. J., Thwin, M. T., Noebels, J. L., Baraban, S. C., & Rubenstein, J. L. R. (2005). Mice lacking Dlx1 show subtype-specific loss of interneurons, reduced inhibition and epilepsy. *Nature Neuroscience*, 8(8), 1059-1068. <https://doi.org/10.1038/nn1499>
- Cole, R. L., & Sawchenko, P. E. (2002). Neurotransmitter Regulation of Cellular Activation and Neuropeptide Gene Expression in the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus. *The Journal of Neuroscience*, 22(3), 959-969. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-03-00959.2002>
- Côme, E., Heubl, M., Schwartz, E. J., Poncer, J. C., & Lévi, S. (2019). Reciprocal Regulation of KCC2 Trafficking and Synaptic Activity. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13, 48. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00048>
- Concerto, C., Patel, D., Infortuna, C., Chusid, E., Muscatello, M. R., Bruno, A., Zoccali, R., Aguglia, E., & Battaglia, F. (2017). Academic stress disrupts cortical plasticity in graduate students. *Stress*, 20(2), 212-216. <https://doi.org/10.1080/10253890.2017.1301424>
- Cook, S. C., & Wellman, C. L. (2004). Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *Journal of Neurobiology*, 60(2), 236-248. <https://doi.org/10.1002/neu.20025>
- Cortes, M., Black-Schaffer, R. M., & Edwards, D. J. (2012). Transcranial Magnetic Stimulation as an Investigative Tool for Motor Dysfunction and Recovery in Stroke: An Overview for Neurorehabilitation Clinicians. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*, 15(4), 316-325. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1403.2012.00459.x>
- Costa, R. M., Cohen, D., & Nicolelis, M. A. L. (2004). Differential Corticostriatal Plasticity during Fast and Slow Motor Skill Learning in Mice. *Current Biology*, 14(13), 1124-1134. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.06.053>
- Coxon, J. P., Peat, N. M., & Byblow, W. D. (s. d.). Primary motor cortex disinhibition during motor skill learning. *J Neurophysiol*, 9.
- Cullinan, W. E., & Wolfe, T. J. (2000). Chronic stress regulates levels of mRNA transcripts encoding β subunits of the GABA_A receptor in the rat stress axis. *Brain Research*, 7.

- Cullinan, W. E., Ziegler, D. R., & Herman, J. P. (2008). Functional role of local GABAergic influences on the HPA axis. *Brain Structure and Function*, 213(1-2), 63-72. <https://doi.org/10.1007/s00429-008-0192-2>
- Czéh, B., Vardya, I., Varga, Z., Febraro, F., Csabai, D., Martis, L.-S., Højgaard, K., Henningsen, K., Bouzinova, E. V., Miseta, A., Jensen, K., & Wiborg, O. (2018). Long-Term Stress Disrupts the Structural and Functional Integrity of GABAergic Neuronal Networks in the Medial Prefrontal Cortex of Rats. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12, 148. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00148>
- Dallé, E., & Mabandla, M. V. (2018). Early Life Stress, Depression And Parkinson's Disease : A New Approach. *Molecular Brain*, 11(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s13041-018-0356-9>
- Darlington, D. N., Miyamoto, M., Keil, L. C., & Dallman, M. F. (1989). Paraventricular stimulation with glutamate elicits bradycardia and pituitary responses. *The American Journal of Physiology*, 256(1 Pt 2), R112-119. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1989.256.1.R112>
- Dayan, E., & Cohen, L. G. (2011). Neuroplasticity Subserving Motor Skill Learning. *Neuron*, 72(3), 443-454. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.10.008>
- de Groote, L., & Linthorst, A. C. E. (2007). Exposure to novelty and forced swimming evoke stressor-dependent changes in extracellular GABA in the rat hippocampus. *Neuroscience*, 148(3), 794-805. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.06.030>
- de Kloet, E. R., Joëls, M., & Holsboer, F. (2005). Stress and the brain : From adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(6), 463-475. <https://doi.org/10.1038/nrn1683>
- DiPietro, J. A., Novak, M. F. S. X., Costigan, K. A., Atella, L. D., & Reusing, S. P. (2006). Maternal Psychological Distress During Pregnancy in Relation to Child Development at Age Two. *Child Development*, 77(3), 573-587. <https://doi.org/10.1111/j.1467-8624.2006.00891.x>
- Diz-Chaves, Y., Pernía, O., Carrero, P., & Garcia-Segura, L. M. (2012). Prenatal stress causes alterations in the morphology of microglia and the inflammatory response of the hippocampus of adult female mice. *Journal of Neuroinflammation*, 9(1), 580. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-71>
- Douglas, R. J., & Martin, K. A. (1991). A functional microcircuit for cat visual cortex. *The Journal of Physiology*, 440, 735-769. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1991.sp018733>
- Dum, R. P., Levinthal, D. J., & Strick, P. L. (2019). The mind–body problem : Circuits that link the cerebral cortex to the adrenal medulla. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(52), 26321-26328. <https://doi.org/10.1073/pnas.1902297116>
- Duman, R. S., Sanacora, G., & Krystal, J. H. (2019). Altered Connectivity in Depression : GABA and Glutamate Neurotransmitter Deficits and Reversal by Novel Treatments. *Neuron*, 102(1), 75-90. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.03.013>
- Ebner, K., & Singewald, N. (2017). Individual differences in stress susceptibility and stress inhibitory mechanisms. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 14, 54-64. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2016.11.016>

- Eiland, L., Ramroop, J., Hill, M. N., Manley, J., & McEwen, B. S. (2012). Chronic juvenile stress produces corticolimbic dendritic architectural remodeling and modulates emotional behavior in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology*, *37*(1), 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.04.015>
- Fee, C., Banasr, M., & Sibille, E. (2017). Somatostatin-Positive Gamma-Aminobutyric Acid Interneuron Deficits in Depression : Cortical Microcircuit and Therapeutic Perspectives. *Biological Psychiatry*, *82*(8), 549-559. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.05.024>
- Felten, D. L., Kerry O'Banion, M. & Maida, M. (2016). Netter's atlas of neuroscience. Philadelphia, PA: Elsevier.
- Fiumelli, H., Briner, A., Puskarjov, M., Blaesse, P., Belem, B. J., Dayer, A. G., Kaila, K., Martin, J.-L., & Vutskits, L. (2013). An Ion Transport-Independent Role for the Cation-Chloride Cotransporter KCC2 in Dendritic Spinogenesis In Vivo. *Cerebral Cortex*, *23*(2), 378-388. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs027>
- Flak, J. N., Ostrander, M. M., Tasker, J. G., & Herman, J. P. (2009). Chronic stress-induced neurotransmitter plasticity in the PVN. *The Journal of Comparative Neurology*, *517*(2), 156-165. <https://doi.org/10.1002/cne.22142>
- Foerster, B. R., Callaghan, B. C., Petrou, M., Edden, R. A. E., Chenevert, T. L., & Feldman, E. L. (2012). Decreased motor cortex γ -aminobutyric acid in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*, *78*(20), 1596-1600. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182563b57>
- Foerster, B. R., Pomper, M. G., Callaghan, B. C., Petrou, M., Edden, R. A. E., Mohamed, M. A., Welsh, R. C., Carlos, R. C., Barker, P. B., & Feldman, E. L. (2013). An Imbalance Between Excitatory and Inhibitory Neurotransmitters in Amyotrophic Lateral Sclerosis Revealed by Use of 3-T Proton Magnetic Resonance Spectroscopy. *JAMA Neurology*, *70*(8), 1009. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.234>
- Fogaça, M. V., & Duman, R. S. (2019). Cortical GABAergic Dysfunction in Stress and Depression : New Insights for Therapeutic Interventions. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *13*, 87. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00087>
- Fogarty, M. J., Mu, E. W. H., Lavidis, N. A., Noakes, P. G., & Bellingham, M. C. (2017). Motor Areas Show Altered Dendritic Structure in an Amyotrophic Lateral Sclerosis Mouse Model. *Frontiers in Neuroscience*, *11*, 609. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00609>
- Fogarty, M. J., Noakes, P. G., & Bellingham, M. C. (2015). Motor Cortex Layer V Pyramidal Neurons Exhibit Dendritic Regression, Spine Loss, and Increased Synaptic Excitation in the Presymptomatic hSOD1^{G93A} Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The Journal of Neuroscience*, *35*(2), 643-647. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3483-14.2015>
- Foy, M. R., Stanton, M. E., Levine, S., & Thompson, R. F. (1987). Behavioral stress impairs long-term potentiation in rodent hippocampus. *Behavioral and Neural Biology*, *48*(1), 138-149. [https://doi.org/10.1016/s0163-1047\(87\)90664-9](https://doi.org/10.1016/s0163-1047(87)90664-9)
- Fuchs, A., Ringer, C., Bilkei-Gorzo, A., Weihe, E., Roeper, J., & Schütz, B. (2010). Downregulation of the Potassium Chloride Cotransporter KCC2 in Vulnerable Motoneurons in the SOD1-G93A Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis.

Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, 69(10), 1057-1070.
<https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181f4dcef>

- Fukuda, A. (2020). Chloride homeodynamics underlying modal shifts in cellular and network oscillations. *Neuroscience Research*, 156, 14-23.
<https://doi.org/10.1016/j.neures.2020.02.010>
- Gabbott, P. L., & Bacon, S. J. (1996). Local circuit neurons in the medial prefrontal cortex (areas 24a,b,c, 25 and 32) in the monkey: II. Quantitative areal and laminar distributions. *The Journal of Comparative Neurology*, 364(4), 609-636.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19960122\)364:4<609::AID-CNE2>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19960122)364:4<609::AID-CNE2>3.0.CO;2-7)
- Gabbott, P. L., Dickie, B. G., Vaid, R. R., Headlam, A. J., & Bacon, S. J. (1997). Local-circuit neurones in the medial prefrontal cortex (areas 25, 32 and 24b) in the rat: Morphology and quantitative distribution. *The Journal of Comparative Neurology*, 377(4), 465-499.
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(19970127\)377:4<465::aid-cne1>3.0.co;2-0](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(19970127)377:4<465::aid-cne1>3.0.co;2-0)
- Gao, Y., Zhou, J.-J., Zhu, Y., Kosten, T., & Li, D.-P. (2017). Chronic Unpredictable Mild Stress Induces Loss of GABA Inhibition in Corticotrophin-Releasing Hormone-Expressing Neurons through NKCC1 Upregulation. *Neuroendocrinology*, 104(2), 194-208.
<https://doi.org/10.1159/000446114>
- García-Cabezas, M. Á., & Barbas, H. (2014). Area 4 has layer IV in adult primates. *European Journal of Neuroscience*, 39(11), 1824-1834. <https://doi.org/10.1111/ejn.12585>
- Gellner, A.-K., Sitter, A., Rackiewicz, M., Sylvester, M., Philipsen, A., Zimmer, A., & Stein, V. (2022). Stress vulnerability shapes disruption of motor cortical neuroplasticity. *Translational Psychiatry*, 12(1), 91. <https://doi.org/10.1038/s41398-022-01855-8>
- Georges, G., & Jean-Martin, C. (1893). *Clinique des maladies du système nerveux : Leçons du professeur, mémoires, notes et observations : parus pendant les années 1889-90 et 1890-91. Tome 2* (Babé, Progrès médical : Veuve Babé : Félix Alcan. Paris, & Félix Alcan, Éd.s.; Vol. 2). <http://patrimoine.sorbonne-universite.fr/idurl/1/3465>
- Ghosal, S., Hare, B. D., & Duman, R. S. (2017). Prefrontal cortex GABAergic deficits and circuit dysfunction in the pathophysiology and treatment of chronic stress and depression. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 14, 1-8.
<https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2016.09.012>
- Gilabert-Juan, J., Castillo-Gomez, E., Pérez-Rando, M., Moltó, M. D., & Nacher, J. (2011). Chronic stress induces changes in the structure of interneurons and in the expression of molecules related to neuronal structural plasticity and inhibitory neurotransmission in the amygdala of adult mice. *Experimental Neurology*, 232(1), 33-40.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2011.07.009>
- Gilbert, C. D., & Wiesel, T. N. (1983). Functional organization of the visual cortex. *Progress in Brain Research*, 58, 209-218. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)60022-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)60022-9)
- Gonzalez Deniselle, M. C., Liere, P., Pianos, A., Meyer, M., Aprahamian, F., Cambourg, A., Di Giorgio, N. P., Schumacher, M., De Nicola, A. F., & Guennoun, R. (2016). Steroid Profiling in Male Wobbler Mouse, a Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Endocrinology*, 157(11), 4446-4460. <https://doi.org/10.1210/en.2016-1244>

- Grace, T., Bulsara, M., Robinson, M., & Hands, B. (2016). The Impact of Maternal Gestational Stress on Motor Development in Late Childhood and Adolescence: A Longitudinal Study. *Child Development*, 87(1), 211-220. <https://doi.org/10.1111/cdev.12449>
- Graybeal, C., Kiselycznyk, C., & Holmes, A. (2011). Stress-Induced Deficits in Cognition and Emotionality: A Role for Glutamate. In J. F. Cryan & A. Reif (Éds.), *Behavioral Neurogenetics* (Vol. 12, p. 189-207). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/7854_2011_193
- Grèzes, J., Valabrègue, R., Gholipour, B., & Chevallier, C. (2014). A direct amygdala-motor pathway for emotional displays to influence action: A diffusion tensor imaging study. *Human Brain Mapping*, 35(12), 5974-5983. <https://doi.org/10.1002/hbm.22598>
- Guinon, G., & Charcot, J.-M. (1893). *Clinique des maladies du système nerveux: Leçons du professeur, mémoires, notes et observations: parus pendant les années 1889-90 et 1890-91. Tome 2* (Babé, Progrès médical: Veuve Babé: Félix Alcan. Paris, & Félix Alcan, Éd.; Vol. 2). <http://patrimoine.sorbonne-universite.fr/idurl/1/3465>
- Gulácsi, A., Lee, C. R., Sík, A., Viitanen, T., Kaila, K., Tepper, J. M., & Freund, T. F. (2003). Cell Type-Specific Differences in Chloride-Regulatory Mechanisms and GABAA Receptor-Mediated Inhibition in Rat Substantia Nigra. *Journal of Neuroscience*, 23(23), 8237-8246. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-23-08237.2003>
- Gunes, Z. I., Kan, V. W. Y., Ye, X., & Liebscher, S. (2020). Exciting Complexity: The Role of Motor Circuit Elements in ALS Pathophysiology. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 573. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00573>
- Gunn, B. G., Cunningham, L., Cooper, M. A., Corteen, N. L., Seifi, M., Swinny, J. D., Lambert, J. J., & Belelli, D. (2013). Dysfunctional Astrocytic and Synaptic Regulation of Hypothalamic Glutamatergic Transmission in a Mouse Model of Early-Life Adversity: Relevance to Neurosteroids and Programming of the Stress Response. *Journal of Neuroscience*, 33(50), 19534-19554. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1337-13.2013>
- Hamano, Y. H., Sugawara, S. K., Fukunaga, M., & Sadato, N. (2021). The integrative role of the M1 in motor sequence learning. *Neuroscience Letters*, 760, 136081. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.136081>
- Han, Q., Cao, C., Ding, Y., So, K.-F., Wu, W., Qu, Y., & Zhou, L. (2015). Plasticity of motor network and function in the absence of corticospinal projection. *Experimental Neurology*, 15.
- Hardiman, O., Al-Chalabi, A., Chio, A., Corr, E. M., Logroscino, G., Robberecht, W., Shaw, P. J., Simmons, Z., & van den Berg, L. H. (2017). Amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17071. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.71>
- Hebb, D. O. (1949). *The organization of behavior; a neuropsychological theory* (p. xix, 335). Wiley.
- Heck, A. L., & Handa, R. J. (2019). Sex differences in the hypothalamic–pituitary–adrenal axis' response to stress: An important role for gonadal hormones. *Neuropsychopharmacology*, 44(1), 45-58. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0167-9>

- Hendry, S. H., Schwark, H. D., Jones, E. G., & Yan, J. (1987). Numbers and proportions of GABA-immunoreactive neurons in different areas of monkey cerebral cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 7(5), 1503-1519.
- Herman, J. P., Mueller, N. K., & Figueiredo, H. (2004). Role of GABA and Glutamate Circuitry in Hypothalamo-Pituitary-Adrenocortical Stress Integration. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1018(1), 35-45. <https://doi.org/10.1196/annals.1296.004>
- Herman, J. P., Tasker, J. G., Ziegler, D. R., & Cullinan, W. E. (2002). *Local circuit regulation of paraventricular nucleus stress integration Glutamate–GABA connections*. 12.
- Hess, G., & Donoghue, J. P. (1996). Long-term Depression of Horizontal Connections in Rat Motor Cortex. *European Journal of Neuroscience*, 8(4), 658-665. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1996.tb01251.x>
- Hewitt, S. A., Wamsteeker, J. I., Kurz, E. U., & Bains, J. S. (2009). Altered chloride homeostasis removes synaptic inhibitory constraint of the stress axis. *Nature Neuroscience*, 12(4), 438-443. <https://doi.org/10.1038/nn.2274>
- Hoeijmakers, L., Ruigrok, S. R., Amelanchik, A., Ivan, D., van Dam, A.-M., Lucassen, P. J., & Korosi, A. (2017). Early-life stress lastingly alters the neuroinflammatory response to amyloid pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Brain, Behavior, and Immunity*, 63, 160-175. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.12.023>
- Holderbach, R., Clark, K., Moreau, J.-L., Bischofberger, J., & Normann, C. (2007). Enhanced Long-Term Synaptic Depression in an Animal Model of Depression. *Biological Psychiatry*, 62(1), 92-100. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.07.007>
- Houston, C. M., He, Q., & Smart, T. G. (2009). CaMKII phosphorylation of the GABA(A) receptor: Receptor subtype- and synapse-specific modulation. *The Journal of Physiology*, 587(Pt 10), 2115-2125. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.171603>
- Hu, W., Zhang, M., Czéh, B., Flügge, G., & Zhang, W. (2010). Stress Impairs GABAergic Network Function in the Hippocampus by Activating Nongenomic Glucocorticoid Receptors and Affecting the Integrity of the Parvalbumin-Expressing Neuronal Network. *Neuropsychopharmacology*, 35(8), 1693-1707. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.31>
- Huizink, A. C., Robles de Medina, P. G., Mulder, E. J. H., Visser, G. H. A., & Buitelaar, J. K. (2003). Stress during pregnancy is associated with developmental outcome in infancy: Prenatal stress and infant development. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 44(6), 810-818. <https://doi.org/10.1111/1469-7610.00166>
- Hyman, S. E. (2009). How adversity gets under the skin. *Nature Neuroscience*, 12(3), 241-243. <https://doi.org/10.1038/nn0309-241>
- Inoue, W., Baimoukhametova, D. V., Füzesi, T., Cusulin, J. I. W., Koblinger, K., Whelan, P. J., Pittman, Q. J., & Bains, J. S. (2013). Noradrenaline is a stress-associated metaplastic signal at GABA synapses. *Nature Neuroscience*, 16(5), 605-612. <https://doi.org/10.1038/nn.3373>

- Inoue, W., & Bains, J. S. (2014). Beyond inhibition : GABA synapses tune the neuroendocrine stress axis: Insights & Perspectives. *BioEssays*, 36(6), 561-569. <https://doi.org/10.1002/bies.201300178>
- Ishiwata, H., Shiga, T., & Okado, N. (2005). Selective serotonin reuptake inhibitor treatment of early postnatal mice reverses their prenatal stress-induced brain dysfunction. *Neuroscience*, 133(4), 893-901. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.03.048>
- Issa, G., Wilson, C., Terry, A. V., & Pillai, A. (2010). An inverse relationship between cortisol and BDNF levels in schizophrenia : Data from human postmortem and animal studies. *Neurobiology of Disease*, 39(3), 327-333. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.04.017>
- Jadavji, N. M., & Metz, G. A. (2008). Sex differences in skilled movement in response to restraint stress and recovery from stress. *Behavioural Brain Research*, 195(2), 251-259. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.09.011>
- Jadavji, N. M., Supina, R. D., & Metz, G. A. (2011). Blockade of Mineralocorticoid and Glucocorticoid Receptors Reverses Stress-Induced Motor Impairments. *Neuroendocrinology*, 94(4), 278-290. <https://doi.org/10.1159/000329988>
- Jankord, R., & Herman, J. P. (2008). Limbic Regulation of Hypothalamo-Pituitary-Adrenocortical Function during Acute and Chronic Stress. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1148(1), 64-73. <https://doi.org/10.1196/annals.1410.012>
- Jefferson, S. J., Feng, M., Chon, Ur., Guo, Y., Kim, Y., & Luscher, B. (2020). Disinhibition of somatostatin interneurons confers resilience to stress in male but not female mice. *Neurobiology of Stress*, 13, 100238. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2020.100238>
- Jia, N., Yang, K., Sun, Q., Cai, Q., Li, H., Cheng, D., Fan, X., & Zhu, Z. (2010). Prenatal stress causes dendritic atrophy of pyramidal neurons in hippocampal CA3 region by glutamate in offspring rats. *Developmental Neurobiology*, 70(2), 114-125. <https://doi.org/10.1002/dneu.20766>
- Joëls, M., & Baram, T. Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 459-466. <https://doi.org/10.1038/nrn2632>
- Joëls, M., Karst, H., Alfarez, D., Heine, V. M., Qin, Y., van Riel, E., Verkuyl, M., Lucassen, P. J., & Krugers, H. J. (2004). Effects of chronic stress on structure and cell function in rat hippocampus and hypothalamus. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 7(4), 221-231. <https://doi.org/10.1080/10253890500070005>
- Joffe, M. E., Maksymetz, J., Lusching, J. R., Dogra, S., Ferranti, A. S., Luessen, D. J., Gallinger, I. M., Xiang, Z., Branthwaite, H., Melugin, P. R., Williford, K. M., Centanni, S. W., Shields, B. C., Lindsley, C. W., Calipari, E. S., Siciliano, C. A., Niswender, C. M., Tadross, M. R., Winder, D. G., & Conn, P. J. (2022). Acute restraint stress redirects prefrontal cortex circuit function through mGlu5 receptor plasticity on somatostatin-expressing interneurons. *Neuron*, 110(6), 1068-1083.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.12.027>
- Kaila, K., Price, T. J., Payne, J. A., Puskarjov, M., & Voipio, J. (2014). Cation-chloride cotransporters in neuronal development, plasticity and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(10), 637-654. <https://doi.org/10.1038/nrn3819>

- Kalueff, A. V., & Nutt, D. J. (2007). Role of GABA in anxiety and depression. *Depression and Anxiety*, 24(7), 495-517. <https://doi.org/10.1002/da.20262>
- Karni, A., Meyer, G., Jezzard, P., Adams, M. M., Turner, R., & Ungerleider, L. G. (1995). Functional MRI evidence for adult motor cortex plasticity during motor skill learning. *Nature*, 377(6545), 155-158. <https://doi.org/10.1038/377155a0>
- Kätzel, D., Zemelman, B. V., Buetfering, C., Wölfel, M., & Miesenböck, G. (2011). The columnar and laminar organization of inhibitory connections to neocortical excitatory cells. *Nature Neuroscience*, 14(1), 100-107. <https://doi.org/10.1038/nn.2687>
- Khademullah, C. S., Aqrabawi, A. J., Place, K. M., Dargaei, Z., Liang, X., Pressey, J. C., Bedard, S., Yang, J. W., Garand, D., Keramidis, I., Gasecka, A., Côté, D., De Koninck, Y., Keith, J., Zinman, L., Robertson, J., Kim, J. C., & Woodin, M. A. (2020). Cortical interneuron-mediated inhibition delays the onset of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, 143(3), 800-810. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa034>
- Khan, A. R., Kroenke, C. D., Wiborg, O., Chuhutin, A., Nyengaard, J. R., Hansen, B., & Jespersen, S. N. (2018). Differential microstructural alterations in rat cerebral cortex in a model of chronic mild stress depression. *PLOS ONE*, 13(2), e0192329. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192329>
- Khirug, S., Yamada, J., Afzalov, R., Voipio, J., Khiroug, L., & Kaila, K. (2008). GABAergic depolarization of the axon initial segment in cortical principal neurons is caused by the Na-K-2Cl cotransporter NKCC1. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(18), 4635-4639. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0908-08.2008>
- Kiernan, M. C., Vucic, S., Cheah, B. C., Turner, M. R., Eisen, A., Hardiman, O., Burrell, J. R., & Zoing, M. C. (2011). Amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet*, 377(9769), 942-955. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61156-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61156-7)
- Kim, D.-Y., Oh, B.-M., & Paik, N.-J. (2005). Excitability Profile of Motor Evoked Potentials and Silent Periods. *International Journal of Neuroscience*, 115(2), 267-283. <https://doi.org/10.1080/00207450590519553>
- Kim, J., Hughes, E. G., Shetty, A. S., Arlotta, P., Goff, L. A., Bergles, D. E., & Brown, S. P. (2017). Changes in the Excitability of Neocortical Neurons in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis Are Not Specific to Corticospinal Neurons and Are Modulated by Advancing Disease. *The Journal of Neuroscience*, 37(37), 9037-9053. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0811-17.2017>
- Kim, J. J., Foy, M. R., & Thompson, R. F. (1996). Behavioral stress modifies hippocampal plasticity through N-methyl-D-aspartate receptor activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(10), 4750-4753.
- Kita, H., & Kitai, S. T. (1990). Amygdaloid projections to the frontal cortex and the striatum in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 298(1), 40-49. <https://doi.org/10.1002/cne.902980104>
- Klomjai, W., Katz, R., & Lackmy-Vallée, A. (2015). Basic principles of transcranial magnetic stimulation (TMS) and repetitive TMS (rTMS). *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*, 58(4), 208-213. <https://doi.org/10.1016/j.rehab.2015.05.005>

- Kolasinski, J., Hinson, E. L., Divanbeighi Zand, A. P., Rizov, A., Emir, U. E., & Stagg, C. J. (2019). The dynamics of cortical GABA in human motor learning. *The Journal of Physiology*, *597*(1), 271-282. <https://doi.org/10.1113/JP276626>
- Koo, J. W., Park, C. H., Choi, S. H., Kim, N. J., Kim, H.-S., Choe, J. C., & Suh, Y.-H. (2003). Postnatal environment can counteract prenatal effects on cognitive ability, cell proliferation, and synaptic protein expression. *The FASEB Journal*, *17*(11), 1-27. <https://doi.org/10.1096/fj.02-1032fje>
- Kreilaus, F., Guerra, S., Masanetz, R., Menne, V., Yerbury, J., & Karl, T. (2020). Novel behavioural characteristics of the *superoxide dismutase 1 G93A* (*SOD1^{G93A}*) mouse model of amyotrophic lateral sclerosis include sex-dependent phenotypes. *Genes, Brain and Behavior*, *19*(2). <https://doi.org/10.1111/gbb.12604>
- Kuzmiski, J. B., Marty, V., Baimoukhametova, D. V., & Bains, J. S. (2010). Stress-induced priming of glutamate synapses unmasks associative short-term plasticity. *Nature Neuroscience*, *13*(10), 1257-1264. <https://doi.org/10.1038/nn.2629>
- Larson, J., & Munkácsy, E. (2015). Theta-burst LTP. *Brain Research*, *1621*, 38-50. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.10.034>
- Lee, A. S., Duman, R. S., & Pittenger, C. (2008). A double dissociation revealing bidirectional competition between striatum and hippocampus during learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(44), 17163-17168. <https://doi.org/10.1073/pnas.0807749105>
- Lee, H. H. C., Walker, J. A., Williams, J. R., Goodier, R. J., Payne, J. A., & Moss, S. J. (2007). Direct Protein Kinase C-dependent Phosphorylation Regulates the Cell Surface Stability and Activity of the Potassium Chloride Cotransporter KCC2. *Journal of Biological Chemistry*, *282*(41), 29777-29784. <https://doi.org/10.1074/jbc.M705053200>
- Lee, Y.-A., Kim, Y.-J., & Goto, Y. (2016). Cognitive and affective alterations by prenatal and postnatal stress interaction. *Physiology & Behavior*, *165*, 146-153. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.07.014>
- Lemon, R. N. (2008). Descending Pathways in Motor Control. *Annual Review of Neuroscience*, *31*(1), 195-218. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.31.060407.125547>
- Lener, M. S., Niciu, M. J., Ballard, E. D., Park, M., Park, L. T., Nugent, A. C., & Zarate, C. A. (2017). Glutamate and Gamma-Aminobutyric Acid Systems in the Pathophysiology of Major Depression and Antidepressant Response to Ketamine. *Biological Psychiatry*, *81*(10), 886-897. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.05.005>
- Lepicard, E. M., Venault, P., Negroni, J., Perez-Diaz, F., Joubert, C., Nosten-Bertrand, M., Berthoz, A., & Chapouthier, G. (2003). Posture and balance responses to a sensory challenge are related to anxiety in mice. *Psychiatry Research*, *118*(3), 273-284. [https://doi.org/10.1016/S0165-1781\(03\)00069-6](https://doi.org/10.1016/S0165-1781(03)00069-6)
- Levshina, I. P., Mats, V. N., Pasikova, N. V., & Shuikin, N. N. (2009). Comparison of the Behavior of Rats after Immobilization with Structural Changes in the Motor Cortex. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, *39*(9), 915-919. <https://doi.org/10.1007/s11055-009-9202-y>

- Li, Y., Rong, J., Zhong, H., Liang, M., Zhu, C., Chang, F., & Zhou, R. (2021). Prenatal Stress Leads to the Altered Maturation of Corticostriatal Synaptic Plasticity and Related Behavioral Impairments Through Epigenetic Modifications of Dopamine D2 Receptor in Mice. *Molecular Neurobiology*, *58*(1), 317-328. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02127-6>
- Lim, L., Mi, D., Llorca, A., & Marín, O. (2018). Development and Functional Diversification of Cortical Interneurons. *Neuron*, *100*(2), 294-313. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.10.009>
- Lin, L. C., & Sibille, E. (2015). Somatostatin, neuronal vulnerability and behavioral emotionality. *Molecular Psychiatry*, *20*(3), 377-387. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.184>
- Liu, R., Wang, J., Liang, S., Zhang, G., & Yang, X. (2020). Role of NKCC1 and KCC2 in Epilepsy: From Expression to Function. *Frontiers in Neurology*, *10*, 1407. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01407>
- Llano, O., Smirnov, S., Soni, S., Golubtsov, A., Guillemin, I., Hotulainen, P., Medina, I., Nothwang, H. G., Rivera, C., & Ludwig, A. (2015). KCC2 regulates actin dynamics in dendritic spines via interaction with β -PIX. *Journal of Cell Biology*, *209*(5), 671-686. <https://doi.org/10.1083/jcb.201411008>
- Lundberg, U., Kadefors, R., Melin, B., Palmerud, G., Hassmén, P., Engström, M., & Elfsberg Dohns, I. (1994). Psychophysiological stress and emg activity of the trapezius muscle. *International Journal of Behavioral Medicine*, *1*(4), 354-370. https://doi.org/10.1207/s15327558ijbm0104_5
- Luoni, A., Berry, A., Calabrese, F., Capoccia, S., Bellisario, V., Gass, P., Cirulli, F., & Riva, M. A. (2014). Delayed BDNF alterations in the prefrontal cortex of rats exposed to prenatal stress : Preventive effect of lurasidone treatment during adolescence. *European Neuropsychopharmacology*, *24*(6), 986-995. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.12.010>
- Ma, Y. (2006). Distinct Subtypes of Somatostatin-Containing Neocortical Interneurons Revealed in Transgenic Mice. *Journal of Neuroscience*, *26*(19), 5069-5082. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0661-06.2006>
- Maekawa, S., Al-Sarraj, S., Kibble, M., Landau, S., Parnavelas, J., Cotter, D., Everall, I., & Leigh, P. N. (2004). Cortical selective vulnerability in motor neuron disease: A morphometric study. *Brain*, *127*(6), 1237-1251. <https://doi.org/10.1093/brain/awh132>
- Maffei, A. (2011). The Many Forms and Functions of Long Term Plasticity at GABAergic Synapses. *Neural Plasticity*, *2011*, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2011/254724>
- Magee, J. C., & Grienberger, C. (2020). Synaptic Plasticity Forms and Functions. *Annual Review of Neuroscience*, *43*(1), 95-117. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-090919-022842>
- Makara, G. B., & Stark, E. (1975). Effect of intraventricular glutamate on ACTH release. *Neuroendocrinology*, *18*(2), 213-216. <https://doi.org/10.1159/000122400>

- Maldonado Bouchard, S., & Hook, M. A. (2014). Psychological Stress as a Modulator of Functional Recovery Following Spinal Cord Injury. *Frontiers in Neurology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00044>
- Malenka, R. C., & Bear, M. F. (2004). LTP and LTD : An Embarrassment of Riches. *Neuron*, 44(1), 5-21. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.09.012>
- Marin, B., Boumédiène, F., Logroscino, G., Couratier, P., Babron, M.-C., Leutenegger, A. L., Copetti, M., Preux, P.-M., & Beghi, E. (2016). Variation in worldwide incidence of amyotrophic lateral sclerosis : A meta-analysis. *International Journal of Epidemiology*, dyw061. <https://doi.org/10.1093/ije/dyw061>
- Marker, R. J., Stephenson, J. L., Kluger, B. M., Curran-Everett, D., & Maluf, K. S. (2014). Modulation of intracortical inhibition in response to acute psychosocial stress is impaired among individuals with chronic neck pain. *Journal of Psychosomatic Research*, 76(3), 249-256. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2013.12.001>
- Marlier, L. N., Csikós, T., Rebaudengo, N., Borboni, P., Patacchioli, F. R., Angelucci, L., Privat, A., & Lauro, R. (1995). Distribution of glucocorticoid receptor mRNA in the rat spinal cord. *Neuroreport*, 6(16), 2245-2249. <https://doi.org/10.1097/00001756-199511000-00034>
- Maroun, M. (2006). Stress reverses plasticity in the pathway projecting from the ventromedial prefrontal cortex to the basolateral amygdala. *European Journal of Neuroscience*, 24(10), 2917-2922. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05169.x>
- Maroun, M., & Richter-Levin, G. (2003). Exposure to acute stress blocks the induction of long-term potentiation of the amygdala-prefrontal cortex pathway in vivo. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(11), 4406-4409.
- Maruyama, S., Fukunaga, M., Sugawara, S. K., Hamano, Y. H., Yamamoto, T., & Sadato, N. (2021). Cognitive control affects motor learning through local variations in GABA within the primary motor cortex. *Scientific Reports*, 11(1), 18566. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97974-1>
- Matisz, C. E., Badenhorst, C. A., & Gruber, A. J. (2021). Chronic unpredictable stress shifts rat behavior from exploration to exploitation. *Stress*, 24(5), 635-644. <https://doi.org/10.1080/10253890.2021.1947235>
- Matrisciano, F., Tueting, P., Dalal, I., Kadriu, B., Grayson, D. R., Davis, J. M., Nicoletti, F., & Guidotti, A. (2013). Epigenetic modifications of GABAergic interneurons are associated with the schizophrenia-like phenotype induced by prenatal stress in mice. *Neuropharmacology*, 68, 184-194. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.04.013>
- McColgan, P., Joubert, J., Tabrizi, S. J., & Rees, G. (2020). The human motor cortex microcircuit : Insights for neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 21(8), 401-415. <https://doi.org/10.1038/s41583-020-0315-1>
- McEwen, B. S., Nasca, C., & Gray, J. D. (2016). Stress Effects on Neuronal Structure : Hippocampus, Amygdala, and Prefrontal Cortex. *Neuropsychopharmacology*, 41(1), 3-23. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.171>

- McKlveen, J. M., Morano, R. L., Fitzgerald, M., Zoubovsky, S., Cassella, S. N., Scheimann, J. R., Ghosal, S., Mahbod, P., Packard, B. A., Myers, B., Bacceti, M. L., & Herman, J. P. (2016). Chronic Stress Increases Prefrontal Inhibition: A Mechanism for Stress-Induced Prefrontal Dysfunction. *Biological Psychiatry*, *80*(10), 754-764. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.03.2101>
- Mejzini, R., Flynn, L. L., Pitout, I. L., Fletcher, S., Wilton, S. D., & Akkari, P. A. (2019). ALS Genetics, Mechanisms, and Therapeutics: Where Are We Now? *Frontiers in Neuroscience*, *13*, 1310. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01310>
- Menon, P., Geevasinga, N., van den Bos, M., Yiannikas, C., Kiernan, M. C., & Vucic, S. (2017). Cortical hyperexcitability and disease spread in amyotrophic lateral sclerosis. *European Journal of Neurology*, *24*(6), 816-824. <https://doi.org/10.1111/ene.13295>
- Menon, P., Kiernan, M. C., & Vucic, S. (2015). Cortical hyperexcitability precedes lower motor neuron dysfunction in ALS. *Clinical Neurophysiology*, *126*(4), 803-809. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.04.023>
- Metz, G. A. (2007). Stress as a Modulator of Motor System Function and Pathology. *Reviews in the Neurosciences*, *18*(3-4). <https://doi.org/10.1515/REVNEURO.2007.18.3-4.209>
- Metz, G. A., Jadavji, N. M., & Smith, L. K. (2005). Modulation of motor function by stress: A novel concept of the effects of stress and corticosterone on behavior. *European Journal of Neuroscience*, *22*(5), 1190-1200. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04285.x>
- Metz, G. A. S., Schwab, M. E., & Welzl, H. (2001). The effects of acute and chronic stress on motor and sensory performance in male Lewis rats. *Physiology & Behavior*, *72*(1-2), 29-35. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(00\)00371-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(00)00371-1)
- Meyer, H. S., Schwarz, D., Wimmer, V. C., Schmitt, A. C., Kerr, J. N. D., Sakmann, B., & Helmstaedter, M. (2011). Inhibitory interneurons in a cortical column form hot zones of inhibition in layers 2 and 5A. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(40), 16807-16812. <https://doi.org/10.1073/pnas.1113648108>
- Miklós, I. H., & Kovács, K. J. (2012). Reorganization of Synaptic Inputs to the Hypothalamic Paraventricular Nucleus During Chronic Psychogenic Stress in Rats. *Biological Psychiatry*, *71*(4), 301-308. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2011.10.027>
- Miller, R. G., Mitchell, J. D., & Moore, D. H. (2012). Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND). *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001447.pub3>
- Miller, S., & Maguire, J. (2014). Deficits in KCC2 and activation of the HPA axis lead to depressionlike behavior following social defeat. *Hormonal Studies*, *2*(1), 2. <https://doi.org/10.7243/2052-8000-2-2>
- Minciacchi, D., Kassa, R. M., Del Tongo, C., Mariotti, R., & Bentivoglio, M. (2009). Voronoi-based spatial analysis reveals selective interneuron changes in the cortex of FALS mice. *Experimental Neurology*, *215*(1), 77-86. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.09.005>

- Miyagawa, K., Tsuji, M., Fujimori, K., Saito, Y., & Takeda, H. (2011). Prenatal stress induces anxiety-like behavior together with the disruption of central serotonin neurons in mice. *Neuroscience Research*, *70*(1), 111-117. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2011.02.002>
- Mòdol, L., Mancuso, R., Alé, A., Francos-Quijorna, I., & Navarro, X. (2014). Differential effects on KCC2 expression and spasticity of ALS and traumatic injuries to motoneurons. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00007>
- Molnar-Kasza, A., Hinteregger, B., Neddens, J., Rabl, R., Flunkert, S., & Hutter-Paier, B. (2021). Evaluation of Neuropathological Features in the SOD1-G93A Low Copy Number Transgenic Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *14*, 681868. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.681868>
- Molyneaux, B. J., Arlotta, P., Menezes, J. R. L., & Macklis, J. D. (2007). Neuronal subtype specification in the cerebral cortex. *Nature Reviews Neuroscience*, *8*(6), 427-437. <https://doi.org/10.1038/nrn2151>
- Monfils, M.-H., Plautz, E. J., & Kleim, J. A. (2005). In Search of the Motor Engram : Motor Map Plasticity as a Mechanism for Encoding Motor Experience. *The Neuroscientist*, *11*(5), 471-483. <https://doi.org/10.1177/1073858405278015>
- Monteiro, S., Roque, S., de Sá-J-Calãçada, D., Sousa, N., Correia-Neves, M., & Cerqueira, J. J. (2015). An Efficient Chronic Unpredictable Stress Protocol to Induce Stress-Related Responses in C57BL/6 Mice. *Frontiers in Psychiatry*, *6*. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2015.00006>
- Morecraft, R. J., McNeal, D. W., Stilwell-Morecraft, K. S., Gedney, M., Ge, J., Schroeder, C. M., & van Hoesen, G. W. (2007). Amygdala interconnections with the cingulate motor cortex in the rhesus monkey. *The Journal of Comparative Neurology*, *500*(1), 134-165. <https://doi.org/10.1002/cne.21165>
- Morimoto, M., Morita, N., Ozawa, H., Yokoyama, K., & Kawata, M. (1996). Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: An immunohistochemical and in situ hybridization study. *Neuroscience Research*, *26*(3), 235-269. [https://doi.org/10.1016/S0168-0102\(96\)01105-4](https://doi.org/10.1016/S0168-0102(96)01105-4)
- Morin-Parent, F., Champigny, C., Lacroix, A., Corbin, F., & Lepage, J.-F. (2019). Hyperexcitability and impaired intracortical inhibition in patients with fragile-X syndrome. *Translational Psychiatry*, *9*(1), 312. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0650-z>
- Musazzi, L., Treccani, G., & Popoli, M. (2015). Functional and structural remodeling of glutamate synapses in prefrontal and frontal cortex induced by behavioral stress. *Frontiers in Psychiatry*, *6*, 60. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2015.00060>
- Naka, A., Veit, J., Shababo, B., Chance, R. K., Risso, D., Stafford, D., Snyder, B., Egladyous, A., Chu, D., Sridharan, S., Mossing, D. P., Paninski, L., Ngai, J., & Adesnik, H. (2019). Complementary networks of cortical somatostatin interneurons enforce layer specific control. *ELife*, *8*, e43696. <https://doi.org/10.7554/eLife.43696>

- Nakamura, H., Kitagawa, H., Kawaguchi, Y., & Tsuji, H. (1997). Intracortical facilitation and inhibition after transcranial magnetic stimulation in conscious humans. *The Journal of Physiology*, 498(Pt 3), 817-823.
- Nguyen-Vu, T. B., Zhao, G. Q., Lahiri, S., Kimpo, R. R., Lee, H., Ganguli, S., Shatz, C. J., & Raymond, J. L. (2017). A saturation hypothesis to explain both enhanced and impaired learning with enhanced plasticity. *eLife*, 6, e20147. <https://doi.org/10.7554/eLife.20147>
- Nihei, K., McKee, A. C., & Kowall, N. W. (1993). Patterns of neuronal degeneration in the motor cortex of amyotrophic lateral sclerosis patients. *Acta Neuropathologica*, 86(1), 55-64. <https://doi.org/10.1007/BF00454899>
- Nishio, H., Tokumo, K., & Hirai, T. (2006). Effects of perinatal stress on the anxiety-related behavior of the adolescence mouse. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 24(4), 263-268. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2006.02.003>
- Okamoto, K., Kihira, T., Kondo, T., Kobashi, G., Washio, M., Sasaki, S., Yokoyama, T., Miyake, Y., Sakamoto, N., Inaba, Y., & Nagai, M. (2009). Lifestyle Factors and Risk of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Case-Control Study in Japan. *Annals of Epidemiology*, 19(6), 359-364. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2009.01.015>
- O'Kane, E. M., Stone, T. W., & Morris, B. J. (2004). Increased long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampus via modulation of GTPase signalling or inhibition of Rho kinase. *Neuropharmacology*, 46(6), 879-887. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2003.11.020>
- Oliviero, A., Mordillo-Mateos, L., Arias, P., Panyavin, I., Foffani, G., & Aguilar, J. (2011). Transcranial static magnetic field stimulation of the human motor cortex : TSMS of the human motor cortex. *The Journal of Physiology*, 589(20), 4949-4958. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.211953>
- Oyola, M. G., & Handa, R. J. (2017). Hypothalamic–pituitary–adrenal and hypothalamic–pituitary–gonadal axes: Sex differences in regulation of stress responsivity. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 20(5), 476-494. <https://doi.org/10.1080/10253890.2017.1369523>
- Ozdinler, P. H., Benn, S., Yamamoto, T. H., Guzel, M., Brown, R. H., & Macklis, J. D. (2011). Corticospinal Motor Neurons and Related Subcerebral Projection Neurons Undergo Early and Specific Neurodegeneration in hSOD1G93A Transgenic ALS Mice. *Journal of Neuroscience*, 31(11), 4166-4177. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4184-10.2011>
- Pallarés, M. E., Scacchi Bernasconi, P. A., Feleder, C., & Cutrera, R. A. (2007). Effects of prenatal stress on motor performance and anxiety behavior in Swiss mice. *Physiology & Behavior*, 92(5), 951-956. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.06.021>
- Parkin Kullmann, J. A., Hayes, S., & Pamphlett, R. (2018). Is psychological stress a predisposing factor for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)? An online international case-control study of premorbid life events, occupational stress, resilience and anxiety. *PLOS ONE*, 13(9), e0204424. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204424>
- Patacchioli, F. R., Monnazzi, P., Scontrini, A., Tremante, E., Caridi, I., Brunetti, E., Buttarelli, F. R., & Pontieri, F. E. (2003). Adrenal dysregulation in amyotrophic lateral sclerosis.

- Patin, V., Vincent, A., Lordi, B., & Caston, J. (2004). Does prenatal stress affect the motoric development of rat pups? *Developmental Brain Research*, 149(2), 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.devbrainres.2003.12.008>
- Pavlidis, C., Nivón, L. G., & McEwen, B. S. (2002). Effects of chronic stress on hippocampal long-term potentiation: Effects of Stress on LTP. *Hippocampus*, 12(2), 245-257. <https://doi.org/10.1002/hipo.1116>
- Perlman, G., Tanti, A., & Mechawar, N. (2021). Parvalbumin interneuron alterations in stress-related mood disorders: A systematic review. *Neurobiology of Stress*, 15, 100380. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100380>
- Petri, S., Krampfl, K., Hashemi, F., Grothe, C., Hori, A., Dengler, R., & Bufler, J. (2003). Distribution of GABA_A Receptor mRNA in the Motor Cortex of ALS Patients. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 62(10), 1041-1051. <https://doi.org/10.1093/jnen/62.10.1041>
- Philips, T., & Rothstein, J. D. (2015). Rodent Models of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Current Protocols in Pharmacology*, 69(1). <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0567s69>
- Piirainen, S., Youssef, A., Song, C., Kalueff, A. V., Landreth, G. E., Malm, T., & Tian, L. (2017). Psychosocial stress on neuroinflammation and cognitive dysfunctions in Alzheimer's disease: The emerging role for microglia? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 77, 148-164. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.01.046>
- Pol, A. N. V. D., Wuarin, J.-P., & Dudek, F. E. (1990). Glutamate, the Dominant Excitatory Transmitter in Neuroendocrine Regulation. *Science, New Series*, 250(4985), 1276-1278.
- Poldrack, R. A., & Packard, M. G. (2003). Competition among multiple memory systems: Converging evidence from animal and human brain studies. *Neuropsychologia*, 41(3), 245-251. [https://doi.org/10.1016/S0028-3932\(02\)00157-4](https://doi.org/10.1016/S0028-3932(02)00157-4)
- Pollock, K., Dorstyn, D., Butt, L., & Prentice, S. (2017). Posttraumatic stress following spinal cord injury: A systematic review of risk and vulnerability factors. *Spinal Cord*, 55(9), 800-811. <https://doi.org/10.1038/sc.2017.45>
- Popoli, M., Yan, Z., McEwen, B. S., & Sanacora, G. (2012). The stressed synapse: The impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(1), 22-37. <https://doi.org/10.1038/nrn3138>
- Post, M. W. M., & van Leeuwen, C. M. C. (2012). Psychosocial issues in spinal cord injury: A review. *Spinal Cord*, 50(5), 382-389. <https://doi.org/10.1038/sc.2011.182>
- Quan, M., Zheng, C., Zhang, N., Han, D., Tian, Y., Zhang, T., & Yang, Z. (2011). Impairments of behavior, information flow between thalamus and cortex, and prefrontal cortical synaptic plasticity in an animal model of depression. *Brain Research Bulletin*, 85(3), 109-116. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.03.002>

- Quarta, E., Bravi, R., Scambi, I., Mariotti, R., & Minciacchi, D. (2015). Increased anxiety-like behavior and selective learning impairments are concomitant to loss of hippocampal interneurons in the presymptomatic SOD1(G93A) ALS mouse model : Hippocampal changes in SOD1(G93A) mice. *Journal of Comparative Neurology*, 523(11), 1622-1638. <https://doi.org/10.1002/cne.23759>
- Radley, J. J., Rocher, A. B., Miller, M., Janssen, W. G. M., Liston, C., Hof, P. R., McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2006). Repeated Stress Induces Dendritic Spine Loss in the Rat Medial Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex*, 16(3), 313-320. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhi104>
- Ramoia, A. S., & Sur, M. (1996). Short-Term Synaptic Plasticity in the Visual Cortex During Development. *Cerebral Cortex*, 6(4), 640-646. <https://doi.org/10.1093/cercor/6.4.640>
- Rei, N., Rombo, D. M., Ferreira, M. F., Baqi, Y., Müller, C. E., Ribeiro, J. A., Sebastião, A. M., & Vaz, S. H. (2020). Hippocampal synaptic dysfunction in the SOD1G93A mouse model of Amyotrophic Lateral Sclerosis : Reversal by adenosine A2AR blockade. *Neuropharmacology*, 171, 108106. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108106>
- Rinehart, J., Maksimova, Y. D., Tanis, J. E., Stone, K. L., Hodson, C. A., Zhang, J., Risinger, M., Pan, W., Wu, D., Colangelo, C. M., Forbush, B., Joiner, C. H., Gulcicek, E. E., Gallagher, P. G., & Lifton, R. P. (2009). Sites of regulated phosphorylation that control K-Cl cotransporter activity. *Cell*, 138(3), 525-536. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.05.031>
- Ringholz, G. M., Appel, S. H., Bradshaw, M., Cooke, N. A., Mosnik, D. M., & Schulz, P. E. (2005). Prevalence and patterns of cognitive impairment in sporadic ALS. *Neurology*, 65(4), 586-590. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000172911.39167.b6>
- Rivera, C., Li, H., Thomas-Crusells, J., Lahtinen, H., Viitanen, T., Nanobashvili, A., Kokaia, Z., Airaksinen, M. S., Voipio, J., Kaila, K., & Saarma, M. (2002). BDNF-induced TrkB activation down-regulates the K⁺-Cl⁻ cotransporter KCC2 and impairs neuronal Cl⁻ extrusion. *The Journal of Cell Biology*, 159(5), 747-752. <https://doi.org/10.1083/jcb.200209011>
- Rocher, C. (2004). Acute Stress-induced Changes in Hippocampal/Prefrontal Circuits in Rats : Effects of Antidepressants. *Cerebral Cortex*, 14(2), 224-229. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhg122>
- Rodrigues, S. M., LeDoux, J. E., & Sapolsky, R. M. (2009). The Influence of Stress Hormones on Fear Circuitry. *Annual Review of Neuroscience*, 32(1), 289-313. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135620>
- Roosendaal, B., McEwen, B. S., & Chattarji, S. (2009). Stress, memory and the amygdala. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 423-433. <https://doi.org/10.1038/nrn2651>
- Rosen, D. R., Siddique, T., Patterson, D., Figlewicz, D. A., Sapp, P., Hentati, A., Donaldson, D., Goto, J., O'Regan, J. P., Deng, H.-X., Rahmani, Z., Krizus, A., McKenna-Yasek, D., Cayabyab, A., Gaston, S. M., Berger, R., Tanzi, R. E., Halperin, J. J., Herzfeldt, B., ... Brown, R. H. (1993). Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*, 362(6415), 59-62. <https://doi.org/10.1038/362059a0>

- Rossi, S., De Chiara, V., Musella, A., Cozzolino, M., Bernardi, G., Maccarrone, M., Mercuri, N. B., Carrì, M. T., & Centonze, D. (2010). Abnormal sensitivity of cannabinoid CB1 receptors in the striatum of mice with experimental amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, *11*(1-2), 83-90. <https://doi.org/10.3109/17482960902977954>
- Rowland, L. P., & Shneider, N. A. (2001). Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The New England Journal of Medicine*, *13*.
- Rudy, B., Fishell, G., Lee, S., & Hjerling-Leffler, J. (2011). Three groups of interneurons account for nearly 100% of neocortical GABAergic neurons. *Developmental Neurobiology*, *71*(1), 45-61. <https://doi.org/10.1002/dneu.20853>
- Russell, G., & Lightman, S. (2019). The human stress response. *Nature Reviews Endocrinology*, *15*(9), 525-534. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0228-0>
- Saba, L., Viscomi, M. T., Caioli, S., Pignataro, A., Bisicchia, E., Pieri, M., Molinari, M., Ammassari-Teule, M., & Zona, C. (2016). Altered Functionality, Morphology, and Vesicular Glutamate Transporter Expression of Cortical Motor Neurons from a Presymptomatic Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cerebral Cortex*, *26*(4), 1512-1528. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu317>
- Sahni, V., Engmann, A., Ozkan, A., & Macklis, J. D. (2020). Motor cortex connections. In *Neural Circuit and Cognitive Development* (p. 167-199). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814411-4.00008-1>
- Saitoh, Y., & Takahashi, Y. (2020). Riluzole for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurodegenerative Disease Management*, *10*(6), 343-355. <https://doi.org/10.2217/nmt-2020-0033>
- Sale, M. V., Ridding, M. C., & Nordstrom, M. A. (2008). Cortisol Inhibits Neuroplasticity Induction in Human Motor Cortex. *Journal of Neuroscience*, *28*(33), 8285-8293. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1963-08.2008>
- Salerno, A., & Georgesco, M. (1998). Double magnetic stimulation of the motor cortex in amyotrophic lateral sclerosis. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, *107*(2), 133-139. [https://doi.org/10.1016/S0013-4694\(98\)00054-6](https://doi.org/10.1016/S0013-4694(98)00054-6)
- Salmon, P. (2001). Effects of physical exercise on anxiety, depression, and sensitivity to stress : A unifying theory. *Clinical Psychology Review*, *21*(1), 33-61. [https://doi.org/10.1016/s0272-7358\(99\)00032-x](https://doi.org/10.1016/s0272-7358(99)00032-x)
- Sandi, C., Venero, C., & Guaza, C. (1996). Novelty-related Rapid Locomotor Effects of Corticosterone in Rats. *European Journal of Neuroscience*, *8*(4), 794-800. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1996.tb01264.x>
- Sanes, J. N., & Donoghue, J. P. (2000). Plasticity and Primary Motor Cortex. *Annual Review of Neuroscience*, *23*(1), 393-415. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.23.1.393>
- Sarkar, J., Wakefield, S., MacKenzie, G., Moss, S. J., & Maguire, J. (2011). Neurosteroidogenesis Is Required for the Physiological Response to Stress : Role of Neurosteroid-Sensitive GABAA Receptors. *Journal of Neuroscience*, *31*(50), 18198-18210. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2560-11.2011>

- Schneider, M. L., & Coe, C. L. (1993). Repeated social stress during pregnancy impairs neuromotor development of the primate infant. *Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics: JDBP*, *14*(2), 81-87.
- Schneider, M. L., Roughton, E. C., Koehler, A. J., & Lubach, G. R. (1999). Growth and Development Following Prenatal Stress Exposure in Primates : An Examination of Ontogenetic Vulnerability. *Child Development*, *70*(2), 263-274. <https://doi.org/10.1111/1467-8624.00020>
- Schönfeld, L.-M., & Wojtecki, L. (2019). Beyond Emotions : Oscillations of the Amygdala and Their Implications for Electrical Neuromodulation. *Frontiers in Neuroscience*, *13*. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2019.00366>
- Schultchen, D., Reichenberger, J., Mittl, T., Weh, T. R. M., Smyth, J. M., Blechert, J., & Pollatos, O. (2019). Bidirectional relationship of stress and affect with physical activity and healthy eating. *British Journal of Health Psychology*, *24*(2), 315-333. <https://doi.org/10.1111/bjhp.12355>
- Schwabe, L., Oitzl, M. S., Philippson, C., Richter, S., Bohringer, A., Wippich, W., & Schachinger, H. (2007). Stress modulates the use of spatial versus stimulus-response learning strategies in humans. *Learning & Memory*, *14*(1-2), 109-116. <https://doi.org/10.1101/lm.435807>
- Selye, H. (1936). A Syndrome produced by Diverse Nocuous Agents. *Nature*, *138*(3479), 32-32. <https://doi.org/10.1038/138032a0>
- Selye, H. (1950). Stress and the General Adaptation Syndrome. *British Medical Journal*, *1*(4667), 1383-1392.
- Shors, T. J., & Dryver, E. (1994). Effect of stress and long-term potentiation (LTP) on subsequent LTP and the theta burst response in the dentate gyrus. *Brain Research*, *666*(2), 232-238. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)90777-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)90777-3)
- Shors, T. J., Gallegos, R. A., & Breindl, A. (1997). Transient and persistent consequences of acute stress on long-term potentiation (LTP), synaptic efficacy, theta rhythms and bursts in area CA1 of the hippocampus. *Synapse (New York, N.Y.)*, *26*(3), 209-217. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(199707\)26:3<209::AID-SYN2>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199707)26:3<209::AID-SYN2>3.0.CO;2-B)
- Ślusarczyk, J., Trojan, E., Głombik, K., Budziszewska, B., Kubera, M., Lasoń, W., Popiołek-Barczyk, K., Mika, J., Wędzony, K., & Basta-Kaim, A. (2015). Prenatal stress is a vulnerability factor for altered morphology and biological activity of microglia cells. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00082>
- Smith, S. M., & Vale, W. W. (2006). The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *8*(4), 383-395. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2006.8.4/ssmith>
- Son, G. H. (2006). Maternal Stress Produces Learning Deficits Associated with Impairment of NMDA Receptor-Mediated Synaptic Plasticity. *Journal of Neuroscience*, *26*(12), 3309-3318. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3850-05.2006>

- Sotiropoulos, I., & Sousa, N. (2016). Tau as the Converging Protein between Chronic Stress and Alzheimer's Disease Synaptic Pathology. *Neurodegenerative Diseases*, *16*(1-2), 22-25. <https://doi.org/10.1159/000440844>
- Sousa, N., Lukoyanov, N. V., Madeira, M. D., Almeida, O. F. X., & Paula-Barbosa, M. M. (2000). Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement. *Neuroscience*, *97*(2), 253-266. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(00\)00050-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00050-6)
- Spataro, R., Volanti, P., Vitale, F., Meli, F., Colletti, T., Di Natale, A., & La Bella, V. (2015). Plasma cortisol level in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, *358*(1-2), 282-286. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.09.011>
- Stark, E., Eichler, R., Roux, L., Fujisawa, S., Rotstein, H. G., & Buzsáki, G. (2013). Inhibition-Induced Theta Resonance in Cortical Circuits. *Neuron*, *80*(5), 1263-1276. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.09.033>
- Stengel, A., & Taché, Y. F. (2017). Activation of Brain Somatostatin Signaling Suppresses CRF Receptor-Mediated Stress Response. *Frontiers in Neuroscience*, *11*, 231. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00231>
- Stevens, H. E., Su, T., Yanagawa, Y., & Vaccarino, F. M. (2013). Prenatal stress delays inhibitory neuron progenitor migration in the developing neocortex. *Psychoneuroendocrinology*, *38*(4), 509-521. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.07.011>
- Strong, M. J., Abrahams, S., Goldstein, L. H., Woolley, S., McLaughlin, P., Snowden, J., Mioshi, E., Roberts-South, A., Benatar, M., Hortobágyi, T., Rosenfeld, J., Silani, V., Ince, P. G., & Turner, M. R. (2017). Amyotrophic lateral sclerosis - frontotemporal spectrum disorder (ALS-FTSD): Revised diagnostic criteria. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*, *18*(3-4), 153-174. <https://doi.org/10.1080/21678421.2016.1267768>
- Sultan, K. T., & Shi, S. (2018). Generation of diverse cortical inhibitory interneurons. *WIREs Developmental Biology*, *7*(2). <https://doi.org/10.1002/wdev.306>
- Szabo, B., Wallmichrath, I., Mathonia, P., & Pfreundtner, C. (2000). Cannabinoids inhibit excitatory neurotransmission in the substantia nigra pars reticulata. *Neuroscience*, *97*(1), 89-97. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(00\)00036-1](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00036-1)
- Sze, Y., & Brunton, P. J. (2020). Sex, stress and steroids. *The European Journal of Neuroscience*, *52*(1), 2487-2515. <https://doi.org/10.1111/ejn.14615>
- Tennant, K. A., Adkins, D. L., Donlan, N. A., Asay, A. L., Thomas, N., Kleim, J. A., & Jones, T. A. (2011). The Organization of the Forelimb Representation of the C57BL/6 Mouse Motor Cortex as Defined by Intracortical Microstimulation and Cytoarchitecture. *Cerebral Cortex*, *21*(4), 865-876. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhq159>
- Thomson. (2010). Neocortical layer 6, a review. *Frontiers in Neuroanatomy*. <https://doi.org/10.3389/fnana.2010.00013>

- Timmermans, S., Souffriau, J., & Libert, C. (2019). A General Introduction to Glucocorticoid Biology. *Frontiers in Immunology*, *10*, 1545. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01545>
- Tornero-Aguilera, J. F., Robles-Pérez, J. J., & Clemente-Suárez, V. J. (2017). Effect of Combat Stress in the Psychophysiological Response of Elite and Non-Elite Soldiers. *Journal of Medical Systems*, *41*(6), 100. <https://doi.org/10.1007/s10916-017-0748-x>
- Tóth, K., Lénárt, N., Berki, P., Fekete, R., Szabadits, E., Pósfai, B., Cserép, C., Alatshan, A., Benkő, S., Kiss, D., Hübner, C. A., Gulyás, A., Kaila, K., Környei, Z., & Dénes, Á. (2022). The NKCC1 ion transporter modulates microglial phenotype and inflammatory response to brain injury in a cell-autonomous manner. *PLoS Biology*, *20*(1), e3001526. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001526>
- Tremblay, R., Lee, S., & Rudy, B. (2016). GABAergic Interneurons in the Neocortex : From Cellular Properties to Circuits. *Neuron*, *91*(2), 260-292. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.033>
- Tsukahara, T., Masuhara, M., Iwai, H., Sonomura, T., & Sato, T. (2016). The effect of repeated stress on KCC2 and NKCC1 immunoreactivity in the hippocampus of female mice. *Data in Brief*, *6*, 521-525. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2015.12.041>
- Tuff, L. P., Racine, R. J., & Adamec, R. (1983). The effects of kindling on GABA-Mediated inhibition in the dentate gyrus of the rat. I. Paired-pulse depression. *Brain Research*, *277*(1), 79-90. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(83\)90909-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(83)90909-5)
- Ulrich-Lai, Y. M., & Herman, J. P. (2009). Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(6), 397-409. <https://doi.org/10.1038/nrn2647>
- Van den Bos, M. A. J., Higashihara, M., Geevasinga, N., Menon, P., Kiernan, M. C., & Vucic, S. (2018). Imbalance of cortical facilitatory and inhibitory circuits underlies hyperexcitability in ALS. *Neurology*, *91*(18), e1669-e1676. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006438>
- van Blitterswijk, M., DeJesus-Hernandez, M., & Rademakers, R. (2012). How do C9ORF72 repeat expansions cause amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia : Can we learn from other noncoding repeat expansion disorders? *Current Opinion in Neurology*, *25*(6), 689-700. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32835a3efb>
- van Wamelen, D. J., Wan, Y.-M., Ray Chaudhuri, K., & Jenner, P. (2020). Stress and cortisol in Parkinson's disease. In *International Review of Neurobiology* (Vol. 152, p. 131-156). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.irm.2020.01.005>
- Veeraiyah, P., Noronha, J. M., Maitra, S., Bagga, P., Khandelwal, N., Chakravarty, S., Kumar, A., & Patel, A. B. (2014). Dysfunctional glutamatergic and γ -aminobutyric acidergic activities in prefrontal cortex of mice in social defeat model of depression. *Biological Psychiatry*, *76*(3), 231-238. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.09.024>
- Verkuyl, J. M., Hemby, S. E., & Joels, M. (2004). Chronic stress attenuates GABAergic inhibition and alters gene expression of parvocellular neurons in rat hypothalamus. *European Journal of Neuroscience*, *20*(6), 1665-1673. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03568.x>

- Verma, A. (2014). Tale of two diseases : Amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *Neurology India*, 62(4), 347. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.141174>
- Virtanen, M. A., Uvarov, P., Hübner, C. A., & Kaila, K. (2020). NKCC1, an Elusive Molecular Target in Brain Development : Making Sense of the Existing Data. *Cells*, 9(12), 2607. <https://doi.org/10.3390/cells9122607>
- Vouimba, R.-M., Foy, M. R., Foy, J. G., & Thompson, R. F. (2000). 17 β -estradiol suppresses expression of long-term depression in aged rats. *Brain Research Bulletin*, 53(6), 783-787. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(00\)00377-4](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(00)00377-4)
- Vouimba, R.-M., Muñoz, C., & Diamond, D. M. (2006). Differential effects of predator stress and the antidepressant tianeptine on physiological plasticity in the hippocampus and basolateral amygdala. *Stress*, 9(1), 29-40. <https://doi.org/10.1080/10253890600610973>
- Vouimba, R.-M., Yaniv, D., Diamond, D., & Richter-Levin, G. (2004). Effects of inescapable stress on LTP in the amygdala versus the dentate gyrus of freely behaving rats. *The European Journal of Neuroscience*, 19(7), 1887-1894. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03294.x>
- Vucic, S., Cheah, B. C., & Kiernan, M. C. (2009). Defining the mechanisms that underlie cortical hyperexcitability in amyotrophic lateral sclerosis. *Experimental Neurology*, 220(1), 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.08.017>
- Vucic, S., Nicholson, G. A., & Kiernan, M. C. (2008). Cortical hyperexcitability may precede the onset of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, 131(6), 1540-1550. <https://doi.org/10.1093/brain/awn071>
- Vyas, A., Jadhav, S., & Chattarji, S. (2006). Prolonged behavioral stress enhances synaptic connectivity in the basolateral amygdala. *Neuroscience*, 143(2), 387-393. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.08.003>
- Vyas, A., Mitra, R., Shankaranarayana Rao, B. S., & Chattarji, S. (2002). Chronic Stress Induces Contrasting Patterns of Dendritic Remodeling in Hippocampal and Amygdaloid Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 22(15), 6810-6818. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-15-06810.2002>
- Vyas, A., Pillai, A. G., & Chattarji, S. (2004). Recovery after chronic stress fails to reverse amygdaloid neuronal hypertrophy and enhanced anxiety-like behavior. *Neuroscience*, 128(4), 667-673. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.07.013>
- Wagle-Shukla, A., Ni, Z., Gunraj, C. A., Bahl, N., & Chen, R. (2009). Effects of short interval intracortical inhibition and intracortical facilitation on short interval intracortical facilitation in human primary motor cortex : Interactions between intracortical circuits. *The Journal of Physiology*, 587(23), 5665-5678. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.181446>
- Walker, A. G., Wenthur, C. J., Xiang, Z., Rook, J. M., Emmitte, K. A., Niswender, C. M., Lindsley, C. W., & Conn, P. J. (2015). Metabotropic glutamate receptor 3 activation is required for long-term depression in medial prefrontal cortex and fear extinction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(4), 1196-1201. <https://doi.org/10.1073/pnas.1416196112>

- Wamsteeker Cusulin, J. I., Füzesi, T., Inoue, W., & Bains, J. S. (2013). Glucocorticoid feedback uncovers retrograde opioid signaling at hypothalamic synapses. *Nature Neuroscience*, *16*(5), 596-604. <https://doi.org/10.1038/nn.3374>
- Wei, J., Zhong, P., Qin, L., Tan, T., & Yan, Z. (2018). Chemicogenetic Restoration of the Prefrontal Cortex to Amygdala Pathway Ameliorates Stress-Induced Deficits. *Cerebral Cortex*, *28*(6), 1980-1990. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx104>
- Welniarz, Q., Dusart, I., & Roze, E. (2017). The corticospinal tract : Evolution, development, and human disorders: Corticospinal Tract Human Disorders. *Developmental Neurobiology*, *77*(7), 810-829. <https://doi.org/10.1002/dneu.22455>
- Wheaton, M. W., Salamone, A. R., Mosnik, D. M., McDonald, R. O., Appel, S. H., Schmolck, H. I., Ringholz, G. M., & Schulz, P. E. (2007). Cognitive impairment in familial ALS. *Neurology*, *69*(14), 1411-1417. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000277422.11236.2c>
- Wierońska, J. M., Stachowicz, K., Nowak, G., & Pilc, A. (2011). The Loss of Glutamate-GABA Harmony in Anxiety Disorders. In *Anxiety Disorders*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/19919>
- Wuarin, J. P., & Dudek, F. E. (1991). Excitatory amino acid antagonists inhibit synaptic responses in the guinea pig hypothalamic paraventricular nucleus. *Journal of Neurophysiology*, *65*(4), 946-951. <https://doi.org/10.1152/jn.1991.65.4.946>
- Xu, L., Anwyl, R., & Rowan, M. J. (1997). Behavioural stress facilitates the induction of long-term depression in the hippocampus. *Nature*, *387*(6632), 497-500. <https://doi.org/10.1038/387497a0>
- Yamawaki, N., Borges, K., Suter, B. A., Harris, K. D., & Shepherd, G. M. G. (2014). A genuine layer 4 in motor cortex with prototypical synaptic circuit connectivity. *ELife*, *3*, e05422. <https://doi.org/10.7554/eLife.05422>
- Yaniv, D., Vouimba, R. M., Diamond, D. M., & Richter-Levin, G. (2003). Simultaneous induction of long-term potentiation in the hippocampus and the amygdala by entorhinal cortex activation: Mechanistic and temporal profiles. *Neuroscience*, *120*(4), 1125-1135. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(03\)00386-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(03)00386-5)
- Zanette, G., Tamburin, S., Manganotti, P., Refatti, N., Forgiione, A., & Rizzuto, N. (2002). Changes in motor cortex inhibition over time in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology*, *249*(12), 1723-1728. <https://doi.org/10.1007/s00415-002-0926-7>
- Zhang, B.-B., Jin, H., Bing, Y.-H., Zhang, X.-Y., Chu, C.-P., Li, Y.-Z., & Qiu, D.-L. (2019). A Nitric Oxide-Dependent Presynaptic LTP at Glutamatergic Synapses of the PVN Magnocellular Neurosecretory Cells in vitro in Rats. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *13*, 283. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00283>
- Zhang, W., Zhang, L., Liang, B., Schroeder, D., Zhang, Z., Cox, G. A., Li, Y., & Lin, D.-T. (2016). Hyperactive somatostatin interneurons contribute to excitotoxicity in neurodegenerative disorders. *Nature Neuroscience*, *19*(4), 557-559. <https://doi.org/10.1038/nn.4257>

- Zhang, W.-H., Zhang, J.-Y., Holmes, A., & Pan, B.-X. (2021). Amygdala Circuit Substrates for Stress Adaptation and Adversity. *Biological Psychiatry*, 89(9), 847-856. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.12.026>
- Ziegler, D. R., & Herman, J. P. (2000). Local integration of glutamate signaling in the hypothalamic paraventricular region: Regulation of glucocorticoid stress responses. *Endocrinology*, 141(12), 4801-4804. <https://doi.org/10.1210/endo.141.12.7949>
- Ziemann, U., Winter, M., Reimers, C. D., Reimers, K., Tergau, F., & Paulus, W. (1997). Impaired motor cortex inhibition in patients with amyotrophic lateral sclerosis. Evidence from paired transcranial magnetic stimulation. *Neurology*, 49(5), 1292-1298. <https://doi.org/10.1212/wnl.49.5.1292>
- Zucchi, F. C., Matthies, N.-F., Badr, N., & Metz, G. A. (2010). Stress-induced glucocorticoid receptor activation determines functional recovery following ischemic stroke. *Experimental & Translational Stroke Medicine*, 2(1), 18. <https://doi.org/10.1186/2040-7378-2-18>