



**HAL**  
open science

# Rôle du cervelet dans l'apprentissage du chant chez l'oiseau

Roman Ursu

► **To cite this version:**

Roman Ursu. Rôle du cervelet dans l'apprentissage du chant chez l'oiseau. Neurosciences. Université de Bordeaux, 2022. Français. NNT : 2022BORD0354 . tel-04027197

**HAL Id: tel-04027197**

**<https://theses.hal.science/tel-04027197>**

Submitted on 13 Mar 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 Roman URSU

**Rôle du cervelet dans l'apprentissage du chant chez l'oiseau**

Sous la direction du Dr. Arthur Leblois

Soutenue le 08 décembre 2022 à Bordeaux

Membres du jury :

**M. Arthur LEBLOIS**

Chargé de recherche, Institut des Maladies Neurodégénératives  
CNRS UMR5293 (Bordeaux)

Directeur de thèse

**M. David DIGREGORIO**

Directeur de recherche, Institut Pasteur, CNRS UMR3571 (Paris)

Président

**Mme Daniela POPA**

Directrice de recherche, Institut de Biologie de l'École Normale Supérieure  
Inserm U1024 (Paris)

Rapporteuse

**M. Nicolas GIRET**

Chargé de recherche, Institut NeuroPSI, UMR9197 (Saclay)

Rapporteur

**Mme Christelle ROCHEFORT**

Maître de conférences, Sorbonne Université, UMR 8246 (Paris)

Examinatrice

**Mme Annemie VAN DER LINDEN**

Professeur, Université d'Anvers, Faculty of Pharmaceutical,  
Biomedical and Veterinary Sciences, Bio-Imaging Lab (Antwerpen, BELGIQUE)

Examinatrice



# Remerciements

J'aimerais remercier avant tout mon directeur de thèse Arthur Leblois qui m'a accepté comme étudiant et m'a donné la possibilité de travailler sur un sujet captivant dans le domaine passionnant des neurosciences. J'aimerais remercier Arthur pour son encadrement, sa disponibilité et tous les conseils qu'il m'a donnés au cours de ces années. Je souhaite aussi remercier Nicolas Mallet pour sa disponibilité à m'aider. Merci aussi à l'ancien directeur de l'équipe Thomas Boraud pour l'atmosphère agréable au sein de l'équipe.

Merci beaucoup à Ludivine Pidoux pour toute son aide précieuse au début de ma thèse et ses conseils. Grand merci à Remya pour son aide, les discussions sur les différents aspects expérimentaux et tout le temps qu'on a passé ensemble. Merci à Eduarda pour son aide dans la réalisation du code pour l'analyse de l'activité neuronale. Grand merci aux stagiaires qui m'ont aidé au niveau de l'histologie. Merci Valentine et Coline. Merci à Timothé et tous ceux qui avant lui nous ont aidé à prendre soin de la colonie des oiseaux. J'aimerais aussi remercier Sandra Dovero, Nathalie Biendon et Evelyne Doudnikoff qui m'ont beaucoup aidé pour l'utilisation des équipements et la réalisation d'expériences. Merci aussi à l'ancien et actuel directeur de l'IMN, Erwan Bezard et Thomas Boraud pour permettre l'utilisation commune des équipements de l'institut.

Merci également à tous les collègues doctorants et aux autres membres de l'équipe et de l'institut pour leur bonne humeur et leur bienveillance.

Roman Ursu

# **Titre : Rôle du cervelet dans l'apprentissage du chant chez l'oiseau**

## **Résumé :**

Le cervelet est important pour l'apprentissage sensorimoteur. Cette structure intervient dans la correction en temps réel des erreurs du mouvement, la coordination et l'ajustement temporel des actions motrices. La coordination et la plasticité du temps d'activation musculaires sont importantes pour l'acquisition et la production de la parole. Les difficultés des patients cérébelleux de perception et production de la parole ainsi que l'activation du cervelet pendant la production de la parole suggèrent un rôle du cervelet dans ce comportement. Un modèle animal pour la production de vocalisations est l'oiseau chanteur. Ces oiseaux ont un circuit neuronal dédié à l'apprentissage et la production du chant. Le chant est appris à l'état juvénile et reste stable au cours de la vie adulte. Cette stabilité du chant nécessite la présence d'un retour auditif non perturbé. Les oiseaux rendus sourds voient leur chant se dégrader fortement et la perturbation du retour auditif chez les oiseaux sains induit des modifications réversibles des propriétés temporelles du chant. Le cervelet est fonctionnellement connecté au circuit du chant et des lésions cérébelleuses perturbent l'apprentissage des propriétés temporelles du chant au stade juvénile. Quel est le rôle du cervelet dans la production et la plasticité des vocalisations adultes? Le cervelet pourrait comparer le retour auditif attendu au retour auditif réel pendant le chant pour mettre à jour un éventuel modèle interne relatif au chant. Le cervelet pourrait aussi participer à l'ajustement des durées des éléments du chant.

Pour répondre à cette question, nous étudions la modulation de l'activité du cervelet pendant la production chant et en réponse au playback du chant afin de révéler d'éventuelles représentations motrice et auditive du chant dans le cervelet. Nous avons enregistré l'activité neuronale dans plusieurs lobules cérébelleux pendant le chant avec et sans perturbation auditive afin de mettre en évidence une éventuelle représentation du retour auditif inattendu dans le cervelet. Les réponses neuronales à des stimulations auditives passives sont également comparées afin de déterminer les composantes motrices et auditives des réponses observées. En-fin, nous avons également effectué des lésions des structures de sortie du cervelet pour étudier le rôle du cervelet dans la plasticité des propriétés temporelle du chant adulte. Nous avons découvert que les neurones du lobule IV modulent leur activité pendant la production du chant mais beaucoup moins pendant l'écoute passive du chant ce qui suggère un rôle moteur de ce lobule. La modulation de l'activité du lobule IV pendant le chant n'est pas affectée par la perturbation du retour auditif. Cependant, les neurones du lobule V modulent leur activité pendant le chant et pendant l'écoute passive. Certains de ces neurones sont modulés similairement pendant le chant et pendant l'écoute passive du chant. L'activité de ce lobule est aussi modulée par la perturbation du retour auditif mais ces modulations peuvent s'expliquer par les réponses passives aux stimuli auditifs. Ceci suggère un rôle sensoriel pour ce lobule. En-fin, nous avons constaté une corrélation entre l'activité neuronale et la durée des éléments du chant ce qui suggère un rôle du cervelet dans le contrôle des propriétés temporelles du chant.

Nous avons aussi découvert que la plasticité de la durée des éléments du chant peut s'induire par la déformation de l'amplitude du chant produit et/ou par le décalage dans le temps de l'initiation de l'élément du chant. La lésion des structures de sortie du cervelet latéral n'affecte pas la capacité à

modifier la durée des éléments du chant sous l'effet de la perturbation du retour auditif. Les lésions ne modifient pas de manière significative la dynamique de retour aux durées initiales.

Au cours de ce travail, nous avons trouvé une représentation motrice et auditive du chant dans le cervelet des oiseaux chanteurs. Nos données ne permettent pas d'affirmer que le cervelet latéral intervient dans la plasticité des éléments du chant. Ce travail apporte des indices supplémentaires pour un rôle du cervelet dans la production de vocalisations.

**Mots clés** : Cervelet, apprentissage sensorimoteur, électrophysiologie

# **Title : Role of the cerebellum in avian song learning**

## **Abstract :**

The cerebellum is important for sensorimotor learning. This structure is involved in real-time correction of movement errors, coordination and temporal adjustment of motor actions. Coordination of muscles and plasticity of muscle activation time are important for the acquisition and production of speech. The difficulties of cerebellar patients for speech perception and production as well as the activation of the cerebellum during speech production suggest a role of the cerebellum in this behavior. An animal model for producing vocalizations is the songbird. These birds have a neural circuit dedicated to song production and learning. The song is learned in the juvenile stage and remains stable during adult life. This stability of singing requires the presence of undistorted auditory feedback. The song of deafened birds deteriorates sharply and the distortion of auditory feedback in healthy birds induces reversible changes in the temporal properties of song. The cerebellum is functionally connected to the song circuitry and plays a role in learning the temporal features of song in the juvenile stage. What would be the role of the cerebellum in the production of adult vocalizations? The cerebellum could compare the expected auditory feedback to the actual auditory feedback during singing to update a possible internal model relating to singing. The cerebellum could also participate in adjusting the duration of song elements.

For this, we study the modulation of the activity of the cerebellum during singing and look for motor and auditory representation of singing in the cerebellum. We recorded neural activity during singing with and without auditory distortion as well as during passive auditory stimulation. The distortion of auditory feedback during singing is done to unveil a possible representation of unexpected auditory feedback in the cerebellum. We also performed lesions of the cerebellar output structures to study the effect of the cerebellum on the plasticity of the temporal features of adult song.

We discovered that the neurons of lobule IV modulate their activity during song production but much less during passive song listening, suggesting a motor role of this lobule. Moreover, the modulation of lobule IV activity during singing is not affected by the distortion of auditory feedback. However, lobule V neurons modulate their activity during singing and during passive listening. Some of these neurons are modulated similarly during singing and during passive listening to song. The activity of this lobule is also modulated by the distorted auditory feedback, but these modulations can be explained by passive responses to auditory stimuli. This suggests a sensory role for this lobule. Finally, we found a correlation between neuronal activity and the duration of song elements, which suggests a role of the cerebellum in controlling the temporal features of song.

We also discovered that the plasticity of the duration of the song elements can be induced by the distortion of the amplitude of the song produced and/or by the time shift of the initiation of the song element. Finally, the lesion of the output structures of the lateral cerebellum does not affect the capacity to modify the duration of the elements of the song under the effect of distorted auditory feedback. Nor does the lesion significantly affect the dynamics of return to the initial durations.

During this work, we found a motor and sensory representation of song in the cerebellum of songbirds. Our data doesn't allow to assert that the lateral cerebellum is involved in the plasticity of

song elements. This work provides additional clues for a role of the cerebellum in the production of vocalizations.

**Key words** : Cerebellum, sensorimotor learning, electrophysiology



# Table des matières

Introduction.....	11
1 Anatomie et physiologie du cervelet.....	11
1.1 Anatomie .....	11
1.1.1 Aperçu général .....	11
1.1.2 Les grandes divisions du cervelet .....	12
1.1.3 Types cellulaires et connectivité .....	13
1.2 Physiologie.....	18
1.2.1 Organisation parasagittale et somatotopie.....	18
1.2.2 Plasticité .....	20
1.2.3 Comparaison entre vertébrés .....	21
2 Fonctions du cervelet .....	23
2.1 Contrôle moteur .....	23
2.1.1 Effet des lésions du cervelet chez les humains .....	23
2.1.2 Etudes chez les animaux.....	24
2.2 Estimation du temps écoulé/activité préparatoire/anticipative.....	27
2.3 Apprentissage sensorimoteur/adaptation .....	30
2.4 Aspect sensoriel/langage .....	31
2.5 Modèles.....	33
2.5.1 Modèles internes.....	33
2.5.2 Modèles d'adaptation du gain .....	35
2.5.3 Modèles d'estimation du temps .....	36
3 Oiseaux .....	38
3.1 Généralités .....	38
3.1.1 Chant et autres vocalisations .....	39
3.1.2 Apprentissage du chant.....	40
3.1.3 Plasticité adulte .....	41
3.2 Circuit du chant .....	42
3.2.1 Anatomie .....	42
3.2.2 Physiologie.....	44
4 Problématique.....	50
Article 1.....	49
Article 2.....	75

Résultats complémentaires.....	91
Discussion.....	93
Références.....	102

# Abréviations

- CF** : Climbing Fibres ou fibres grimpantes
- CS** : Conditioned Stimulus ou stimulus conditionnel
- CR** : Conditioned Response ou réponse conditionnelle
- DCN** : Deep Cerebelar Nuclei ou noyaux profonds cérébelleux
- FN** : Fastigial Nucleus ou noyau fastigial
- GrC** : Granule Cell ou cellule granulaire
- GoC** : Golgi Cell ou cellule de Golgi
- GIC** : Globular Cells ou cellules globulaires
- IN** : Interposed Nucleus ou noyau interposé
- IO** : Inferior Olive ou olive inférieure
- LC** : Lugaro Cells ou cellules de Lugaro
- MF** : Mossy Fibres ou fibres moussues
- OKR** : Opto-Kinetic Reflex ou réflexe opto-cinétique
- PF** : Parallel Fibres ou fibres parallèles
- PC** : Purkinje Cell ou cellule de Purkinje
- US** : Unconditioned Stimulus ou stimulus inconditionnel
- UBC** : Unipolar Brush Cells ou cellules unipolaires en brosse
- VOR** : Vestibulo-Ocular Reflex ou réflexe vestibulo-oculaire
- VN** : Vestibular Nucleus ou noyau vestibulaire
- VTA** : Ventral Tegmental Area ou aire ventrale tegmentale

# Introduction

## 1 Anatomie et physiologie du cervelet

### 1.1 Anatomie

#### 1.1.1 Aperçu général

Le cervelet est une partie du rhombencéphale présente chez la plupart des vertébrés. Bien que sa taille et sa forme varie parmi les vertébrés, le circuit général est conservé (Voogd & Glickstein, 1998). Le cervelet est une structure généralement repliée composée d'un cortex organisé autour d'un ensemble de noyaux profonds du cervelet ou deep cerebellar nuclei (DCN) (figures 1,2). Le cortex est la structure d'entrée du cervelet et les DCN constituent les structures de sortie du cervelet. Les entrées vers le cervelet sont transmises par deux types d'axones. Le premier type d'axones s'appelle les fibres moussues (MF) et le second type les fibres grimpantes (CF). Les MF proviennent du tronc cérébral et de la moelle épinière. Les CF proviennent d'une région précise du tronc cérébral, l'olive inférieure (IO).

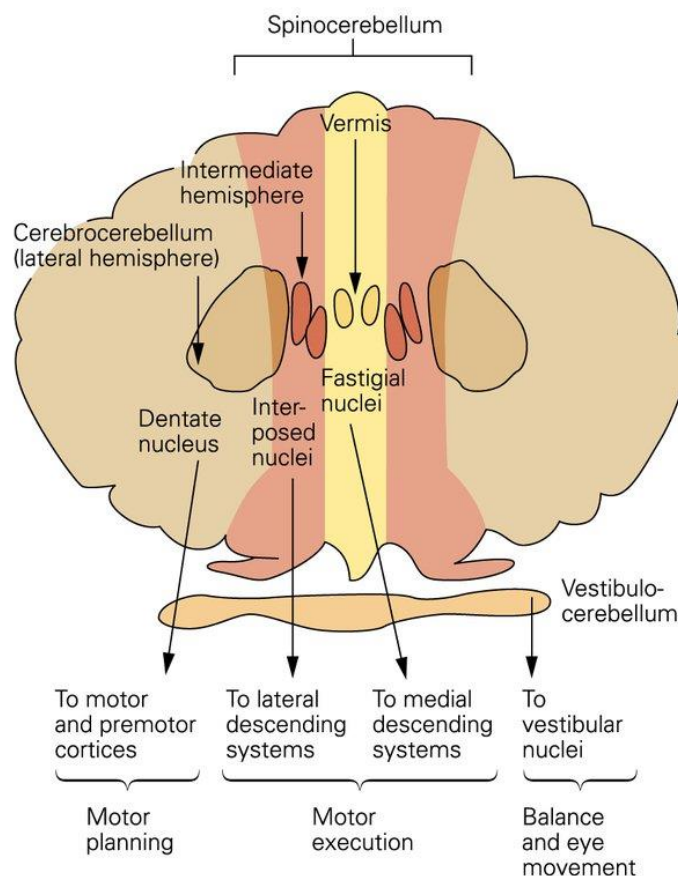


Figure 1: Coupe horizontale du cervelet de primate. La partie médiale du cortex cérébelleux projette vers les noyaux fastigiaux (FN). La partie la plus latérale projette vers les noyaux latéraux (DN). La partie intermédiaire projette vers les noyaux interposés (IN). Les parties médiales et interposées constituent le spinocerebellum. La partie la plus latérale le cerebrocerebellum. Image prise de (Jessell, Kandel, & Schwartz, 2000).

Les DCN sont un ensemble de noyaux disposés selon un axe medio latéral. De plus médial au plus latéral on trouve : le noyau médial parfois appelé noyau fastigial (FN), le noyau interposé (IN) souvent constitué d'un sous noyau médial et latéral et en fin le noyau latéral parfois appelé noyau dentelé (DN) (figure 1). Les DCN reçoivent les sorties du cortex cérébelleux et envoient des projections à l'extérieur du cervelet. La liste des DCN peut être complétée par les noyaux vestibulaires qui se trouvent dans le tronc cérébral, en dehors des limites anatomiques du cervelet mais qui reçoivent les sorties de la partie la plus postérieure du cervelet.

### 1.1.2 Les grandes divisions du cervelet

La région médiale du cortex cérébelleux du cervelet appelée le vermis projette vers le noyau fastigial. A son tour le noyau fastigial projette vers la moelle épinière, le tronc cérébral et les noyaux vestibulaires participant au contrôle des muscles de posture. Le vermis et le noyau fastigial reçoivent également des entrées depuis la moelle épinière et du tronc cérébral véhiculant des signaux somatosensoriels proximaux, vestibulaires, auditifs et visuels. La région intermédiaire du cortex projette vers les noyaux interposés. Ces noyaux projettent vers le noyau rouge situé dans le tronc cérébral et dans une moindre mesure vers le thalamus. La région intermédiaire et les noyaux interposés reçoivent des signaux spinaux et somatosensoriels proximaux. Cette partie du cervelet intervient dans le contrôle des membres antérieurs lors des mouvements d'atteinte. Le vermis et la région intermédiaire constituent le spinocerevet (spinocerebellum) car ce sont les seules parties du cervelet recevant des entrées depuis la moelle spinale. La partie la plus latérale du cervelet reçoit des entrées depuis le cortex cérébral via le tronc cérébral et à son tour projette vers le noyau dentelé et ensuite vers le thalamus et le cortex cérébral. Cette partie du cervelet constitue le cerebrocervet (cerebrocerebellum). Le cerebrocervet est la partie du cervelet la plus récente phylogénétiquement et pourrait être impliqué dans les processus de planification (Jessell, Kandel, & Schwartz, 2000). En plus d'une division medio-latérale, le cervelet est divisé dans le plan sagittal en lobules définis par les replis du cortex cérébelleux et généralement ces lobules sont numérotés de I à X. Le lobule X projetant ses sorties vers les noyaux vestibulaires est appelé vestibulocervelet et intervient dans le contrôle oculaire, des muscles du cou et de la stabilité du corps lors du mouvement.

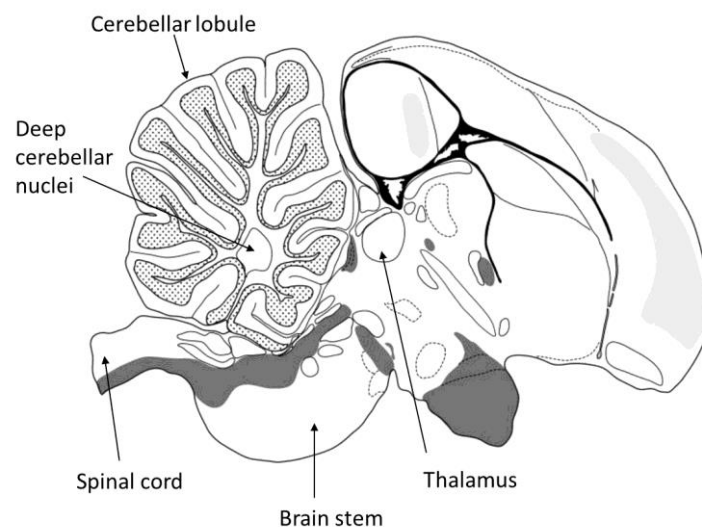


Figure 2: Coupe sagittale du cerveau de mandarin.

### 1.1.3 Types cellulaires et connectivité

Le cortex cérébelleux est divisé en trois couches : la couche granulaire, la couche de Purkinje et la couche moléculaire. La couche granulaire est composée de cellules granulaires (GrC), de cellules de Golgi (GoC), de cellules de Lugaro (LC), de cellules Globulaires (GIC) et de cellules unipolaires en brosse (UBC). La couche de Purkinje est composée d'une monocouche de cellules de Purkinje (PC) et de cellules Candelabrum (Lainé & Axelrad, 1994), (Osorno, et al., 2022). La couche moléculaire est composée de cellules stellaires et de cellules en panier communément classées en un seul group et appelées interneurons de la couche moléculaire (molecular layer interneurons ou MLI) (Uusisaari & Knöpfel, 2013).

#### 1.1.3.1 La couche granulaire

##### 1.1.3.1.1 Les fibres moussues (MF)

Les MF sont les axones afférents au cervelet. Les MF transmettent les signaux nerveux du reste du cerveau vers la couche granulaire, la couche d'entrée du cervelet tout en envoyant des collatérales vers les DCN (figure 3). Les MF forment des larges boutons synaptiques de 3µm de diamètre environ appelées rosettes (Rancz, Ishikawa, Duguid, Chadderton, Mahon, & Häusser, 2007). Les MF ont un faible taux de décharge au repos et transmettent l'information par des trains de potentiels d'action. Ainsi, des stimulations ponctuelles de la surface de la peau produisent des bouffées de potentiels d'action dans les MF et des trains de potentiels d'actions de longue durée sont aussi observés (Rancz, Ishikawa, Duguid, Chadderton, Mahon, & Häusser, 2007) (Bengtsson & Jörntell, 2009) (Kase, Miller, & Noda, 1980). Les synapses entre les MF et GrC sont aussi fiables et rapides même pour des trains de potentiels d'action de plusieurs centaines de Hz (Rancz, Ishikawa, Duguid, Chadderton, Mahon, & Häusser, 2007). Les entrées vers le cervelet transmises par les MF subissent une expansion de dimension puisqu'une MF en se ramifiant et du fait de la grande taille de sa terminaison axonale contacte environ 500 GrC (Hoxha, Tempia, Lippiello, & Miniaci, 2016).

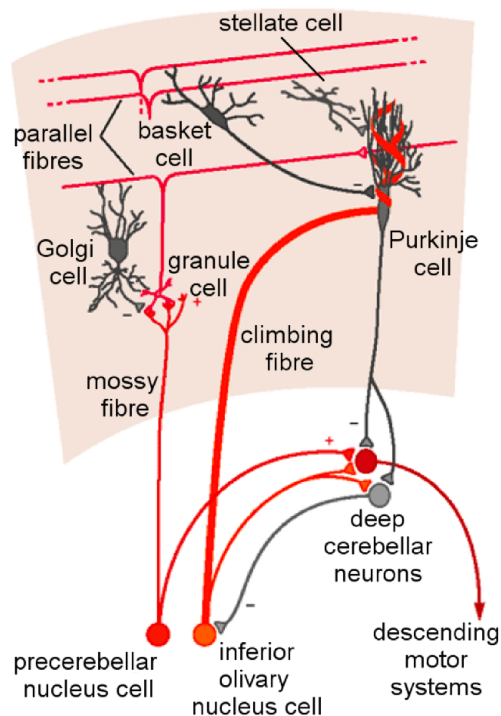


Figure 3: Schéma du circuit cortico-nucléaire. Image prise de (Jessell, Kandel, & Schwartz, 2000).

### 1.1.3.1.2 Les cellules granulaires (GrC)

La couche granulaire est principalement constituée de cellules granulaires (GrC). Les GrC sont de faible dimension faisant environ  $5\mu\text{m}$  de diamètre et sont densément agencées. Ces neurones représentent en nombre plus de la moitié des neurones de tout le cerveau (Wagner M. , Kim, Savall, Schnitzer, & Luo, 2017). Une GrC a environ quatre dendrites et un très long axone. Les dendrites des GrC sont contactées par les terminaisons axoniques des MF. Les axones des GrC montent vers la couche moléculaire et la traverse sur de très longues distances allant jusqu'à plusieurs mm perpendiculairement au plan sagittal (Mugnaini E. , 1983) (figure 4). L'ensemble des axones des GrC dans la couche moléculaire forme les fibres parallèles (PF). Les PF forment des synapses excitatrices avec les MLI de la couche moléculaire ainsi qu'avec les arbres dendritiques des PC des GoC et des cellules Candelabrum (figure 3,4) (Osorno, et al., 2022).

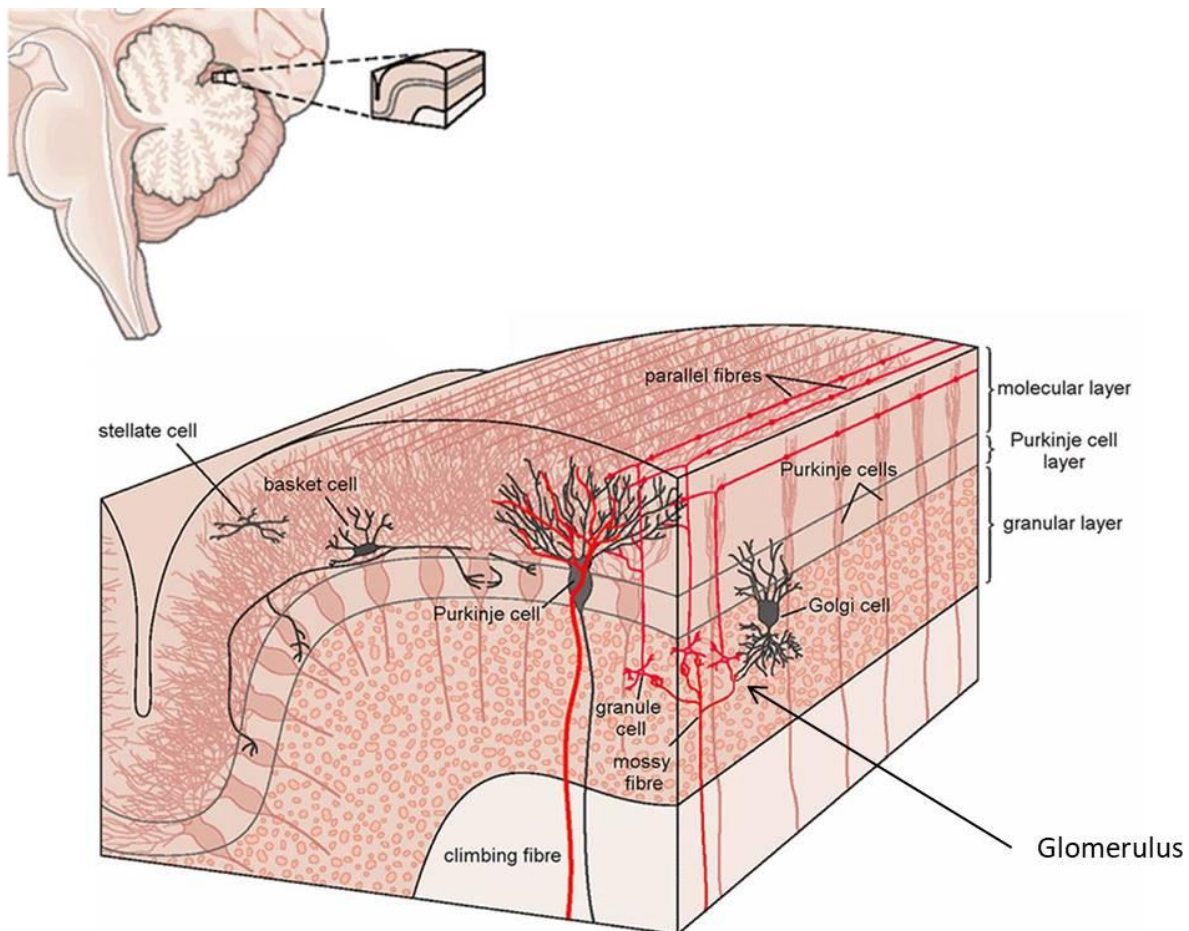


Figure 4: Portion de cortex cérébelleux. Le glomérule, synapse d'interconnexion entre les MF, les cellules de Golgi et les cellules granulaires est représenté plus en détail sur la figure 5. Image prise de (Jessell, Kandel, & Schwartz, 2000).

### 1.1.3.1.3 Les cellules de Golgi (GoC)

Les GoC sont les interneurons les plus nombreux de la couche granulaire. Il y a environ une GoC pour entre plusieurs centaines et plusieurs milliers de GrC (D'Angelo, Solinas, Mapelli, Gandolfi, Mapelli, & Prestori, 2013). Le GoC ont une dimension de  $10\text{-}30\mu\text{m}$  en diamètre et déchargent de manière spontanée autour de  $6\text{Hz}$  (D'Angelo, Solinas, Mapelli, Gandolfi, Mapelli, & Prestori, 2013). Généralement GABAergiques, certaines GoC peuvent simultanément libérer le GABA et la glycine (D'Angelo, Solinas, Mapelli, Gandolfi, Mapelli, & Prestori, 2013). L'arbre dendritique des GoC est composé de deux parties. La partie apicale s'étend dans la couche moléculaire et la partie basale

reste dans la couche granulaire. L'axone très ramifié des GoC et parfois les dendrites des GoC viennent contacter les synapses entre les MF et les GrC formant ainsi les gloméruli cérébelleux (figure 4 et 5). De ce fait, les GoC pourraient servir à moduler le gain de la transmission synaptique entre les MF et les GrC (D'Angelo, Solinas, Mapelli, Gandolfi, Mapelli, & Prestori, 2013). Les entrées excitatrices des GoC proviennent des MF et des PF. Les entrées inhibitrices proviennent des LC, d'autres GoC et pourraient aussi provenir des MLI (D'Angelo, Solinas, Mapelli, Gandolfi, Mapelli, & Prestori, 2013) (Hull & Regehr, 2012). Les GoC sont au centre d'un circuit d'inhibition directe (feedforward inhibition) et rétroactive (feedback inhibition) des dendrites des GrC au niveau des glomeruli (figure 6).

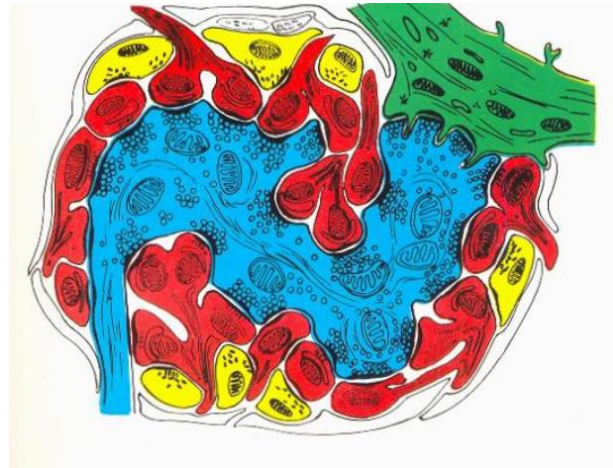


Figure 5: Représentation agrandie du gloméulus. En bleu, terminaison axonique d'une MF. En rouge, dendrites des GrC. En vert, dendrite d'une GoC. En jaune, terminaisons axoniques des GoC. Image prise de (Eccles, Ito, & Szentágothai, 1967).

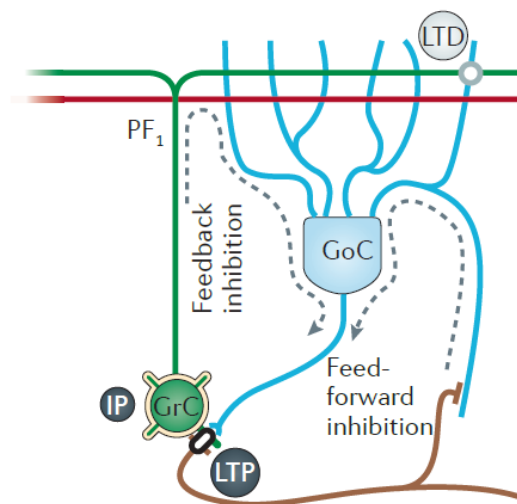


Figure 6: Inhibition directe (feedforward) et inhibition rétroactive (feedback) au niveau d'un gloméulus. L'inhibition feedforward consiste en l'activation d'une GoC directement par une MF. L'inhibition feedback consiste en l'activation d'une GoC depuis une MF par l'intermédiaire d'une GrC et d'une PF. Image prise de (Gao, van Beugen, & De Zeeuw, 2012).

De plus, les GoC sont interconnectées entre elles par des synapses électriques au niveau de leurs dendrites. Les GoC modulent leurs activités pendant les actions motrices, les stimulations sensorielles et présentent un champ récepteur étendu (Vos, Volny-Luraghi, & De Schutter, 1999)



(Gurnani & Silver, 2021). Ces modulations sont synchronisées pour un ensemble de GoC voisines ce qui pourrait être dû à leur couplage au niveau local par des synapses électriques (Gurnani & Silver, 2021).

#### 1.1.3.1.4 Les cellules de Lugaro (LC)

Les LC sont des interneurons inhibiteurs fusiformes localisées dans la partie supérieure de la couche granulaire, près de la couche de Purkinje. Les LC sont moins nombreuses que les GoC et leur proportion par rapport aux PC est de 1:15 chez le rat. Les LC sont possiblement inhibées par les collatéraux des PC, inhibent localement dans le plan sagittal les GIC et les MLI et envoient des axones à plus longue distance à travers la couche moléculaire parallèlement aux PF pour inhiber les dendrites apicaux des GoC (Lainé & Axelrad, 1994) (Hirono, et al., 2012) (Hirono M. , 2016). Les LC pourraient aussi recevoir des entrées excitatrices des MF. In vitro, les LC sont silencieuses au repos et se mettent à décharger après l'activation de leurs récepteurs sérotoninergiques. Les LC pourraient ainsi être la cible principale des fibres sérotoninergiques entrant dans le cortex cérébelleux (Hirono M. , 2016).

#### 1.1.3.1.5 Les cellules globulaires (GIC)

Les GIC ont été mises en évidence récemment et ont encore été peu étudiées (Prestori, Mapelli, & D'Angelo, 2019) (Hirono, et al., 2012). Les GIC sont inhibitrices, probablement présentes en proportions comparables aux LC et ayant un motif de connexion semblable aux LC : contacts synaptiques locaux dans le plan sagittal avec les MLI et connexions synaptiques distales avec les dendrites apicales des GoC dans la direction perpendiculaire au plan sagittal le long des PF. Les GIC sont aussi directement inhibées par des collatéraux des PC et excitées par les MF. Enfin, in vitro les GIC sont silencieuses et se mettent à décharger après ajout de sérotonine ou noradrénaline (Hirono, et al., 2012).

#### 1.1.3.1.6 Les cellules unipolaires en brosse (UBC)

Les UBC sont une classe d'interneurons excitateurs présentant un court dendrite dont les ramifications ressemblent à une brosse et un axone qui contacte des GrC et d'autres UBC (Mugnaini, Sekerkova, & Martina, 2011). Une UBC reçoit des entrées en provenance d'une seule MF formant une grande synapse avec de multiples points de contact et sur cette synapse viennent aussi se connecter des axones de GoC. Les UBC servent probablement à amplifier et prolonger dans le temps les signaux excitateurs provenant des MF. Enfin, les UBC sont surtout présentes dans le vermis et le vestibulo-cervelet et assez rares dans le cervelet latéral (Mugnaini, Sekerkova, & Martina, 2011).

### 1.1.3.2 La couche de Purkinje

#### 1.1.3.2.1 Les cellules de Purkinje (PC)

Les PC sont de grands neurones GABAergiques de quelques dizaines de micromètres de diamètre (30-80µm (Jessell, Kandel, & Schwartz, 2000) (Wagner M. , Kim, Savall, Schnitzer, & Luo, 2017)). Les PC forment une couche monocellulaire qui sépare la couche granulaire de la couche moléculaire. Ces cellules disposent d'un arbre dendritique très ramifié s'étalant sur toute la profondeur de la couche moléculaire et entièrement disposé dans le plan sagittal. Les PC reçoivent des entrées excitatrices des PF et des CF et reçoivent des entrées inhibitrices des MLI. Du fait des nombreuses ramifications de l'arbre dendritique des PC, du grand nombre des GrC et de la longueur des PF, chaque PC reçoit des entrées en provenance d'environ 100 000 PF (Hoxha, Tempia, Lippiello, & Miniaci, 2016). En revanche, à l'âge adulte, une PC est connectée qu'avec une seule CF. Cependant la connexion PC-CF

se fait sur environ 1000 points de contact ce qui rend cette connexion très fiable pour la transmission de l'information (De Zeeuw, Hoebeek, & Bosman, 2011). Les PC constituent les seules sorties du cortex cérébelleux en projetant leurs axones sur les neurones des DCN. Cependant, les PC inhibent par leurs collatérales d'autres PC ainsi que des CC et des interneurones de la couche granulaire comme les GIC. Electrohysiologiquement, les PC produisent deux types de potentiels d'action : les potentiels d'action simples (SS) et les potentiels d'action complexes (CS). Les SS sont générés de manière spontanée et leur taux de décharge est modulé sous l'effet des entrées excitatrices et inhibitrices. Le taux de décharge des SS au repos se situe en général entre 30 et 150 Hz (De Zeeuw, Hoebeek, & Bosman, 2011). Les CS sont générés par l'activation des CF provenant de l'olive inférieure (IO) et se produisent à un taux de décharge voisin de 1 Hz.

#### 1.1.3.2.2 Les cellules Candelabrum (CC)

Les cellules Candelabrum ont commencé à être étudiées seulement récemment (Lainé & Axelrad, 1994) (Osorno, et al., 2022). Les CC sont des interneurones inhibiteurs dont l'arbre dendritique se situe dans la couche moléculaire et quelques dendrites courts dans la couche granulaire. Les CC sont excitées par les MF et les PF, inhibées par les collatérales des PC et vont directement inhiber les MLI et au moins indirectement via les MLI, les PC. Les CC peuvent décharger in vitro de manière tonique ou en produisant des bouffées de potentiels d'action et chez la souris, leur nombre semble comparable au nombre des GoC (Osorno, et al., 2022).

#### 1.1.3.3 La couche moléculaire

Les interneurones de la couche moléculaire (MLI) sont souvent divisés en deux types : les cellules stellaires ou stellate cells (SC) situées dans la partie supérieure de la couche et les cellules en panier ou basket cells (BC) situées dans la partie basse de la couche près de la couche de Purkinje. Les dendrites des SC sont situées dans le même plan que l'arbre dendritique des PC mais leurs courts axones évoluent le long des PF et inhibent d'autres SC, les dendrites des PC et pourraient aussi inhiber les GoC (Rizza, et al., 2021) (D'Angelo, Solinas, Mapelli, Gandolfi, Mapelli, & Prestori, 2013). Les seules entrées excitatrices des SC proviennent des PF. Comme pour les SC, les dendrites des BC se situent dans le plan de l'arbre dendritique des PC. Les BC reçoivent des entrées excitatrices des PF et des entrées inhibitrices des PC et d'autres BC (Prestori, Mapelli, & D'Angelo, 2019). Les axones des BC évoluent dans le plan de l'arbre dendritique des PC et s'enroulent autour du soma des PC distantes formant un panier inhibiteur et se prolongent jusqu'au segment initial de l'axone ou Axon Initial Segment (AIS) formant un pinceau. Les SC et les BC déchargent de manière spontanée in vitro et in vivo entre 1 et 35 Hz et seraient aussi connectées par des synapses électriques (Rizza, et al., 2021) (Prestori, Mapelli, & D'Angelo, 2019) (De Zeeuw, Lisberger, & Raymond, 2021). Cependant la division des MLI en SC et BC fait toujours l'objet d'un débat (Sotelo, 2015).

#### 1.1.3.4 Les noyaux cérébelleux profonds (DCN)

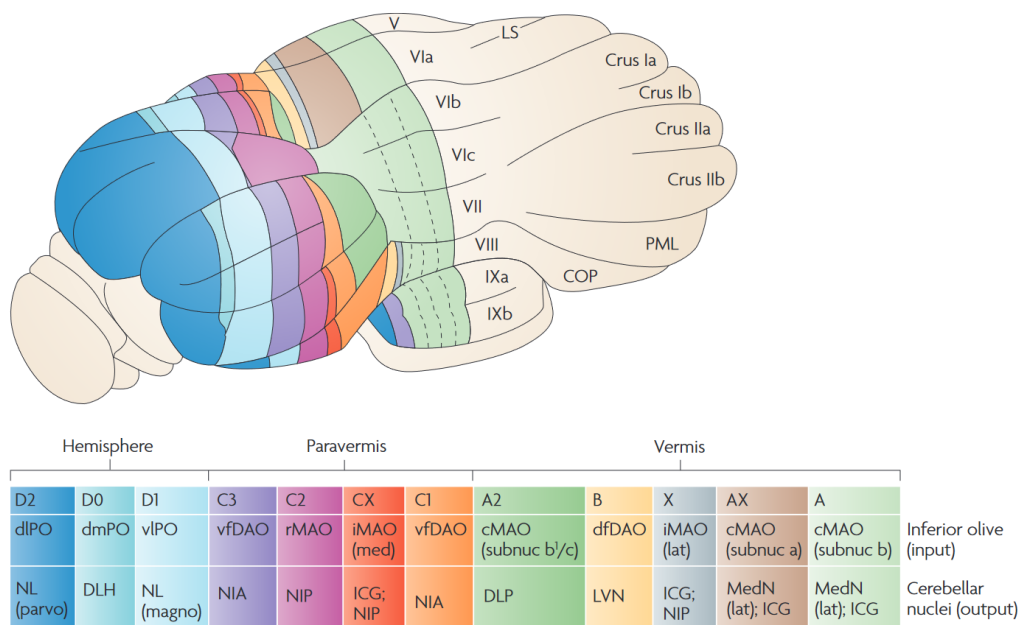
Les DCN sont un lieu de convergence des PC sortant du cortex puisqu'on estime qu'un neurone des DCN est contacté par environ 50 PC (Person & Raman, 2012). Les DCN sont constitués de plusieurs types de neurones. Les plus connus sont les neurones excitateurs de projection ou excitatory Projection Neurons (ePN) et les neurones inhibiteurs de projection vers l'olive inférieure ou Nucleo-Olivary neurons (NO). Moins connus sont les neurones inhibiteurs nucléo-corticaux ou inhibitory Nucleo-Cortical neurons (iNC), les neurones inhibiteurs projetant vers les noyaux vestibulaires (Gly-F) et les interneurones locaux (Uusisaari & Knöpfel, 2013) (Ankri, et al., 2015). Les ePN ont un grand soma, comparable à celui des PC et un arbre dendritique étendu. Les ePN reçoivent des entrées

inhibitrices des PC et des entrées excitatrices des collatérales des MF et des CF. Les ePN déchargent spontanément entre 20 et 60 Hz au repos et jusqu'à quelques centaines de Hertz lors de tâches motrices (Uusisaari & Knöpfel, 2013). Certains ePN envoient des collatérales dans la couche granulaire dont l'effet global est d'inhiber les PC (Gao, et al., 2016). Les neurones NO sont gabaergiques, déchargent spontanément jusqu'à 10Hz et reçoivent des entrées inhibitrices des PC (Uusisaari & Knöpfel, 2013). Les iNC sont des neurones inhibiteurs co-libérant le GABA et la glycine. Les axones des iNC ont des collatéraux dans les DCN et projettent vers le cortex cérébelleux en inhibant les GoC (Ankri, et al., 2015). Cependant il n'est pas encore connu si les iNC reçoivent des entrées de la part des PC. Les neurones GLy-F sont glycinergiques et projettent vers les noyaux vestibulaires. Les interneurons des DCN sont encore peu connus. Des études suggèrent qu'il existe dans les DCN des neurones inhibiteurs et excitateurs dont les axones se situent uniquement dans les DCN (Uusisaari & Knöpfel, 2013).

## 1.2 Physiologie

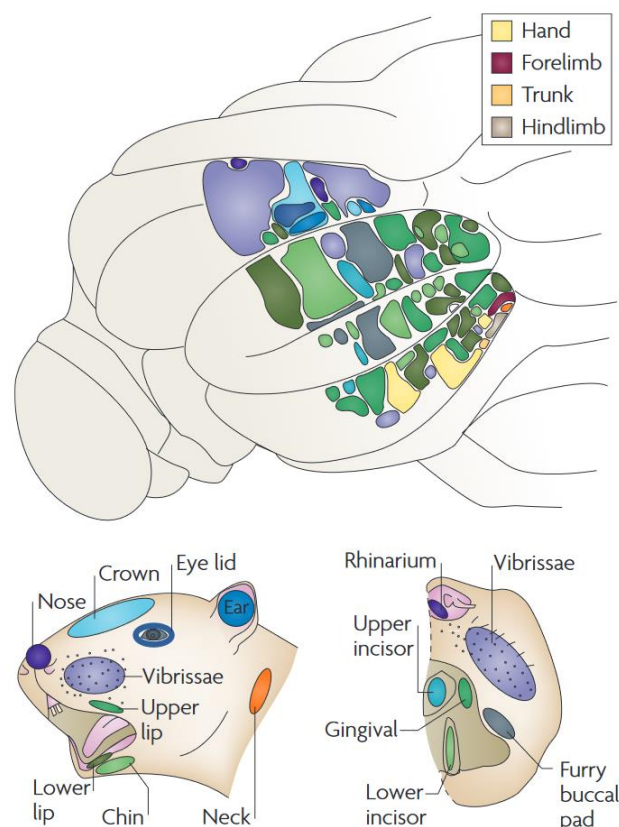
### 1.2.1 Organisation parasagittale et somatotopie

Les sorties du cortex cérébelleux composées de PC projettent sur les DCN selon une organisation medio-latérale (figure 1). En effet, la partie la plus médiale du cortex, le vermis projette sur le noyau le plus médial, le noyau fastigial. La partie intermédiaire du cortex projette sur les noyaux interposés et la partie latérale du cortex projette sur le noyau le plus latéral, le noyau dentelé. Les différents DCN à leur tour projettent vers différentes sous-parties de l'olive inférieure (IO). Par exemple chez le rat, le noyau latéral projette vers l'olive principale, les noyaux interposés projettent vers l'olive accessoire dorsale (DAO) et la partie rostrale de l'olive accessoire médiale (rMAO), enfin le noyau médial projette vers la partie caudale de l'olive accessoire médiale (cMAO) (figure 7).



**Figure 7: Organisation parasagittale du cervelet du rat en modules. Chaque couleur représente un module. Un module consiste en l'interconnexion d'une portion de cortex, d'une portion de DCN et d'une portion de l'olive inférieure. Image prise de (Apps & Hawkes, 2009).**

A leur tour les différentes sous parties de l'olive inférieure projettent leurs CF vers les parties du cortex cérébelleux qui par le biais des DCN innervent ces mêmes sous parties olivaires. Ainsi le cortex cérébelleux, les DCN et l'olive inférieure sont connectés entre eux en formant plusieurs boucles parasagittales (Apps R. , Hawkes, Aoki, & al., 2018), (Apps & Hawkes, 2009). Ces boucles portent le nom de Modules (Apps R. , Hawkes, Aoki, & al., 2018). Le nombre de Modules dépend de la finesse du traçage anatomique. Par exemple chez le rat, douze Modules ont été mis en évidence chacun d'une épaisseur d'environ 1mm (Apps & Hawkes, 2009). Cette division du cervelet réalisée par des études anatomiques peut être affinée par des études électrophysiologiques. En effet, en stimulant différentes parties de la surface du corps et en enregistrant l'activité des CS des PC dans le cortex cérébelleux, on constate que les PC qui modulent la décharge de leurs CS lors de la stimulation se regroupent en microzones du cortex cérébelleux souvent allongées selon l'axe antéro-postérieur et ayant une largeur de 100 à 300  $\mu\text{m}$  (Apps & Hawkes, 2009). Cependant l'extension antéropostérieure de ces microzones peut varier et est plus courte que l'extension des Modules. Parfois ces microzones n'ont pas d'axe d'extension et ressemblent plus à des taches (ou patch). Il peut aussi exister plusieurs microzones distinctes pour un même site de stimulation (Apps & Hawkes, 2009).



**Figure 8: Représentation de la somatotopie fracturée. Les régions colorées à la surface du cervelet représentent les champs récepteurs dans la couche granulaire pour la face du rat. Image prise de (Apps & Hawkes, 2009).**

Ces microzones du cortex cérébelleux ayant une modulation de la décharge des CS en réponse aux stimulations s'appellent les champs récepteurs des CF car les CS résultent de l'activation de ces fibres. La partie corticale formant une microzone reçoit des projections de CF d'une micropartie de l'olive et projette les axones de ces PC vers une micropartie du DCN. Au sein d'une microzone, les CS

déchargent de manière synchrone et ceci est dû au couplage par synapses électriques des neurones de la micropartie de l'olive correspondante (De Zeeuw, Hoebeek, & Bosman, 2011). L'ensemble formé par une microzone et par les microparties olivaires et nucléaires correspondantes forme un micromodule (Apps R. , Hawkes, Aoki, & al., 2018). Il n'est cependant pas encore clair si les projections olivaires de la micropartie du DCN se font sur la micropartie correspondante de l'olive (Apps R. , Hawkes, Aoki, & al., 2018).

L'existence de plusieurs microzones spatialement séparées répondant à la stimulation d'une même partie du corps, a mené au concept de somatotopie fracturée pour le cervelet (Apps & Hawkes, 2009). L'aspect fracturé ou dispersé de la somatotopie du cervelet est encore plus manifeste lorsqu'on enregistre les réponses aux stimulations du corps dans la couche granulaire (Apps & Hawkes, 2009)(figure 8). En effet, il existe souvent plusieurs régions non contiguës de la couche granulaire qui répondent à la stimulation d'une même région du corps de l'animal. Ces régions sont de tailles variables et parfois s'alignent selon l'axe des Modules (Apps & Hawkes, 2009). Une telle division du cervelet pourrait signifier que les différents Modules sont impliqués dans différentes fonctions comportementales et les différents micromodules au sein d'un Module seraient responsables de différents aspects d'une fonction (Apps & Hawkes, 2009). Cependant, il est très peu probable que les différents micromodules et Modules agissent indépendamment car les PF traversent le cortex cérébelleux perpendiculairement au plan sagittal sur de longues distances traversant plusieurs Modules. Les FP pourraient ainsi transmettre des entrées communes aux différents Modules et micromodules (Apps R. , Hawkes, Aoki, & al., 2018).

### 1.2.2 Plasticité

Les plasticités synaptique et intrinsèque sont répandues dans le cervelet puisque presque tous les types de synapses et beaucoup de types neuronaux présentent une forme de plasticité (Gao, van Beugen, & De Zeeuw, 2012) (De Zeeuw, Lisberger, & Raymond, 2021). L'exemple le plus connu est la plasticité synaptique entre les PF et les dendrites des PC. Lorsqu'une PF émet une bouffée de potentiels d'action les synapses entre cette PF et les PC se potentialisent et cette potentialisation persiste pendant plusieurs dizaines de minutes. Il s'agit d'une potentialisation à long terme (Long Term Potentialisation ou LTP). En revanche si lors de la décharge des PF, les CF déchargent à des instants proches alors les synapses PF-PC faiblissent et cette fois aussi l'affaiblissement persiste pendant des dizaines de minutes. On parle de dépression synaptique à long terme (Long Term Depression ou LTD), (Ito & Kano, 1982). Pendant un certain temps la LTD/LTP au niveau des PF-PC était considérée avec un intérêt particulier car ces synapses sont très nombreuses et les CF semblent transmettre un signal d'erreur. Ainsi les CF augmentent leur décharge lors de l'arrivée du stimulus inconditionnel (US) dans le contexte du conditionnement du clignement (le stimulus US étant typiquement une bouffée d'air comprimé dirigé vers l'œil donc aversif) de même que lors du glissement du champ visuel dans le contexte du VOR. Le mécanisme principal de l'apprentissage dans le cervelet consisterait alors en la dépression des synapses PF-PC qui étaient actives juste avant une décharge de CF de sorte que si le même contexte se répète, les PF actives à un instant donné au niveau de certaines synapses ne puissent plus avoir d'effet sur le comportement et ainsi ne plus engendrer d'erreur. A l'inverse, les synapses qui reçoivent des entrées de PF sans recevoir de signal d'erreur des CF n'engendrent pas d'erreur dans le comportement et peuvent donc être potentialisées ou au moins ne pas être affaiblies. Cette vision est cohérente avec une étude récente qui montre que pour que la LTD ait lieu il faut que les CF déchargent ni trop tôt après l'activation des PF ni trop tard et que cet intervalle de temps n'est pas le même partout dans le cervelet puisque

l'évaluation de la performance par les CF viendrait avec des délais variables selon les fonctions comportementales traitées par les différentes régions du cervelet (Suvrathan, Payne, & Raymond, 2016). Cette vision est aussi étayée par des études dans lesquelles des animaux avec des mutations au niveau des PC ne peuvent presque pas réaliser des tâches d'apprentissage dépendantes du cervelet comme le conditionnement du clignement (Chen, Bao, Lockard, Kim, & Thompson, 1996) ou l'adaptation du VOR (Gao, van Beugen, & De Zeeuw, 2012). Cependant les mutations en question affectent souvent plusieurs aspects du fonctionnement des PC et peuvent affecter d'autres parties du cervelet. Les mutations plus spécifiques au fonctionnement de la LTD au niveau des PC ne semblent cependant pas empêcher les apprentissages (Gao, van Beugen, & De Zeeuw, 2012). Ainsi selon la vision actuelle les différents lieux et formes de plasticité dans le cervelet auraient des importances semblables pour l'apprentissage et permettraient de compenser des mutations ponctuelles (Gao, van Beugen, & De Zeeuw, 2012). Des études suggèrent également que les DCN seraient aussi le siège de plasticité principalement au niveau des synapses entre les MF et les neurones des DCN et que les PC pourraient jouer un rôle dans l'induction de cette plasticité (De Zeeuw, Lisberger, & Raymond, 2021). Enfin, le cervelet a longtemps été considéré comme composé d'un circuit principalement à sens unique (forward circuit) même si des sous-circuits de rétroaction étaient connus comme le circuit GrC-GoC-GrC. Récemment cependant un circuit de rétroaction nucléo-cortical excitateur a été mis en évidence (Gao, et al., 2016). Dans ce circuit les neurones excitateurs des DCN projettent des axones collatéraux vers la couche granulaire. De manière intéressante, la densité des terminaisons des MF issues des collatéraux nucléaires augmente dans la région du cortex cérébelleux impliqué dans le conditionnement du clignement chez les souris ayant subi le conditionnement. L'augmentation du nombre de terminaisons synaptiques par la création de nouvelles synapses à la suite d'un entraînement constitue également une forme de plasticité.

### **1.2.3 Comparaison entre vertébrés**

Les différents vertébrés possèdent un cervelet plus ou moins développé. Le degré de développement du cervelet peut se mesurer par sa taille relative à tout le cerveau et le degré de repliement. En effet plus le cervelet est replié, plus sa surface est grande et donc plus il contient de PC. Une autre mesure du degré de développement pourrait être le nombre de DCN.

#### **1.2.3.1 Les poissons**

Le degré de repliement du cervelet chez les poissons est très variable mais les poissons disposent en général d'un cervelet développé. Par exemple le cervelet du requin est très fortement replié (présence de beaucoup de lobules) mais les repliements ne sont pas symétriques par rapport au plan de symétrie sagittale contrairement aux autres espèces. Le cervelet des mormyridés (poissons électriques) représente jusqu'à 80% de la masse totale du cerveau et est très replié. Chez certains poissons, les PC sont dispersées dans les couches moléculaires et granulaires. Une particularité architecturale des poissons à nageoires rayonnées est qu'en plus des PC, leur couche de Purkinje contient des cellules eurydendroïdes morphologiquement semblables aux PC. Les PC ne projettent pas en dehors du cortex cérébelleux mais sur ces cellules eurydendroïdes qui projettent ensuite vers le tronc cérébral. Ainsi les cellules eurydendroïdes semblent remplacer les DCN. En général, les poissons ont un seul DCN disposé des deux côtés du plan de symétrie sagittal (Yopak, Pakan, & Wylie, 2017).

### **1.2.3.2 Les reptiles**

Chez les reptiles et les amphibiens, le cervelet est très petit et lisse, apparaissant souvent comme une feuille. Chez les serpents, morphologiquement le cervelet est presque plat et les PC ne sont pas toujours organisées en une monocouche mais s'étendent sous formes d'amas dans la couche moléculaire. Les crocodiles ont le plus grand cervelet parmi les reptiles. Leur cervelet contient deux fissures séparant la structure en trois lobes mais reste globalement non replié. Les reptiles ont en général deux DCN vus comme les équivalents du noyau fastigial et interposé des mammifères (Yopak, Pakan, & Wylie, 2017) (Nieuwenhuys, 1967).

### **1.2.3.3 Les oiseaux**

Le cervelet des oiseaux représente environ 10% du volume total du cerveau et est divisé en lobules. Il est traditionnellement considéré que le cervelet des oiseaux est principalement constitué du vermis et les hémisphères ne sont que très faiblement développés mais bien présents comme le montre l'existence d'un troisième DCN, l'équivalent du noyau dentelé des mammifères. Au niveau du plan de symétrie sagittal, l'organisation en lobules du cervelet aviaire ressemble à l'organisation du cervelet des mammifères à tel point que les lobules des cervelets des deux espèces sont numérotés de I à X (Yopak, Pakan, & Wylie, 2017). Le lobule X est toujours le vestibulocervelet. Les autres lobules sont numérotés en fonction des positions des fissures les plus profondes entre les lobules.

### **1.2.3.4 Les mammifères**

Les mammifères disposent du cervelet le plus développé de toutes les espèces vivantes. C'est avant tout le cas des primates dont les hémisphères cérébelleux sont particulièrement développés. Les parties latérales des hémisphères cérébelleux se projettent sur le noyau dentelé qui est le plus grand DCN du cervelet des primates. Par l'intermédiaire du noyau dentelé, les hémisphères latéraux se projettent vers le thalamus puis le cortex et reçoivent en retour via le tronc cérébral des entrées depuis le cortex (Bostan, Dum, & Strick, 2012). Ainsi, on considère que le cervelet latéral s'est développé pour permettre la planification de mouvements plus fins et complexes des membres antérieurs ainsi que de tâches cognitives de plus en plus complexes (Barton & Venditti, 2014).

### **1.2.3.5 Les structures de type cérébelleux**

Les vertébrés possèdent souvent à la fois un cervelet et des structures de type cérébelleux (Bell & Han, 2008). Les structures de type cérébelleux ont une architecture semblable à l'architecture du cervelet. Dans les structures cérébelleuses, les cellules principales sont l'équivalent des PC dans le cervelet. Les cellules principales reçoivent deux types d'entrées, les PF et des entrées sensorielles. Les entrées sensorielles sont l'équivalent des CF dans le cervelet. Une différence architecturale importante entre les structures cérébelleuses et le cervelet est que les entrées sensorielles ne sont pas relayées par l'olive inférieure comme dans le cas du cervelet mais viennent directement contacter les cellules principales, éventuellement parfois par l'intermédiaire d'interneurones (Devor, 2000). Parmi les structures de type cérébelleux, on trouve le noyau octavolatéral dorsal (Dorsal Octavolateral Nucleus ou DON) chez certains poissons ou le noyau cochléaire dorsal (Dorsal Cochlear Nucleus) chez les mammifères. Le DON fonctionne comme un filtre et sert à soustraire les effets électriques du mouvement propre du poisson du champ électrique total perçu par les capteurs électriques du poisson. Ceci permet de détecter des objets inattendus dans l'environnement. Du fait de la similarité entre les architectures du cervelet et des structures cérébelleuses, il se pourrait que le rôle du cervelet serait également de prédire les conséquences sensorielles des mouvements générés par l'animal pour mieux pouvoir détecter les stimuli inattendus (Bell & Han, 2008).

# 2 Fonctions du cervelet

## 2.1 Contrôle moteur

### 2.1.1 Effet des lésions du cervelet chez les humains

Le cervelet est largement considéré être impliqué dans le contrôle du mouvement et plus précisément dans la coordination et l'aspect temporel de ce contrôle. En effet, chez les humains les lésions du cervelet produisent des déficits moteurs caractéristiques souvent regroupés sous la dénomination d'ataxie cérébelleuse (ataxie signifiant absence de coordination) (Diener & Dichgans, 1992) (Jessell, Kandel, & Schwartz, 2000). Typiquement, les personnes présentant des lésions du cervelet ratent la cible qu'ils doivent atteindre avec leur doigt. En tentant de corriger le mouvement et de positionner leur doigt sur la cible, leur main se met à osciller de manière irrégulière autour de la cible. Enfin, la trajectoire du bras lui-même depuis la position initiale vers la cible est moins régulière comparée au cas d'une personne non lésée. De façon semblable, lorsqu'une personne présentant des lésions du cervelet effectue un lancer de balle vers une cible, le temps de libération de la balle (compté à partir de l'instant quand la main se retrouve en position verticale) est cinq fois plus variable que pour une personne sans lésion. Cette variabilité accrue est due à un accroissement de la variabilité du temps du début d'activation des muscles du doigt qui libère la balle. Il en résulte une plus large zone de dispersion de la balle autour de la cible (Timmann, Watts, & Hore, 1999). Ceci suggère une baisse de la capacité à activer aux bons moments les différents muscles impliqués dans le mouvement. Outre les effets directs sur la motricité, les lésions du cervelet dégradent les capacités à estimer le temps dans le domaine sous-seconde et augmentent le délai de l'initiation du mouvement ce qui suggère aussi un rôle du cervelet dans la planification et l'organisation temporelle du mouvement (Diener & Dichgans, 1992) (Spencer, Zelaznik, Diedrichsen, & Ivry, 2003).

Les lésions du cervelet semblent affecter la durée des mouvements discontinus mais pas la durée des mouvements continus. En effet, dans une étude, des personnes avec lésion du cervelet ont été instruites pour effectuer des séquences de mouvements continus et discontinus et ayant une durée cible inférieure à une seconde (Spencer, Zelaznik, Diedrichsen, & Ivry, 2003). Les mouvements discontinus consistant en une séquence de mouvements stéréotypés avec une pause après chaque mouvement (par exemple taper du doigt sur la table ou dessiner des cercles). Les mouvements continus consistant en le même type de mouvements mais sans pause. Les personnes avec lésion du cervelet présentent une variabilité de la durée du mouvement plus grande que les personnes non lésées. De la même manière, pour les personnes lésées unilatéralement, la variabilité de la durée du mouvement est plus grande lorsque le mouvement est effectué par le membre associé à l'hémisphère lésé du cervelet que lorsque le mouvement est fait par le membre associé à l'hémisphère non lésé. Ceci suggère que lorsqu'un mouvement répétitif est défini par des stimuli saillants (dans ce cas les stimuli saillants sont l'initiation brusque du mouvement après une pause et l'arrêt du mouvement), le cervelet semble nécessaire pour une réalisation précise du mouvement dans le temps. Lorsque le mouvement ne fait pas intervenir de stimuli saillants, la réalisation précise dans le temps du mouvement dépendrait d'autres parties du cerveau.

Dans certains cas, les lésions du cervelet empêchent l'adaptation sensorimotrice aux changements de l'environnement. C'est le cas pour l'adaptation de la coordination œil-main (Martin, Keating, Goodkin, Bastian, & Thach, 1996). En effet, lorsqu'une personne saine lance des fléchettes sur une cible, les fléchettes se distribuent centrées sur la cible. Si la personne met des prismes devant ces



yeux qui distordent ses champs de vue en le translatant vers la droite, les fléchettes lancées par la personne se distribuent à gauche de la cible. Après plusieurs lancers, la personne adapte la coordination entre sa vue et son bras et progressivement les fléchettes commencent à se distribuer plus près de la cible. Après avoir enlevé les prismes, les fléchettes lancées par la personne se distribuent à droite de la cible. Après plusieurs lancers une réadaptation a lieu et les fléchettes finissent progressivement par se distribuer plus près de la cible. Si la même expérience est effectuée par une personne présentant une lésion du cervelet, l'adaptation peut être fortement atténuée. Après avoir mis les prismes, la personne ne parvient pas à atteindre la cible avec les fléchettes même après plusieurs lancers. En enlevant les prismes, les fléchettes se distribuent autour de la cible dès le premier lancer. Ceci suggère un rôle du cervelet dans l'adaptation sensorimotrice.

L'étude des effets des lésions cérébelleuses chez les humains suggère que le cervelet est impliqué dans trois aspects du contrôle moteur. Le cervelet intervient dans la coordination précise dans le temps de muscles nécessaires au mouvement. Le cervelet pourrait aussi être impliqué dans l'estimation du temps écoulé après un stimulus saillant. Enfin, le cervelet joue un rôle dans l'adaptation sensorimotrice aux changements de l'environnement.

Dans ce qui suit, on présente des données expérimentales précisant le rôle du cervelet dans les trois aspects du contrôle moteur sus évoqués.

## **2.1.2 Etudes chez les animaux**

### ***2.1.2.1 Coordination précise des muscles dans le temps***

Le rôle du cervelet dans la coordination des muscles des membres pour la réalisation d'un mouvement précis a été rendu plus clair dans une expérience par T.Vilis et J.Hore (Vilis & Hore, 1980). Dans cette expérience, des singes ont été entraînés à garder un manipulateur centré sur une cible qu'ils tiennent par leur membre antérieur. Le manipulateur peut être brusquement déplacé de sa position de manière inattendue par l'expérimentateur (torque pulse à l'abscisse de la figure 9). Les singes réagissent en ramenant le manipulateur à sa position initiale. Des sondes à température réglable ont été préalablement implantées près des DCN interposés et dentelés des singes. De plus, l'EMG des muscles agonistes et antagonistes impliqués dans le déplacement du manipulateur est enregistré (Triceps et Biceps, figure 9). Lorsque les DCN sont refroidis, le retour du manipulateur vers sa position initiale se fait avec alternance de dépassements de la position cible dans des sens opposés (cool, figure 9). Ces mouvements oscillatoires de l'avant-bras n'ont presque pas lieu si les DCN ne sont pas refroidis (control, figure 9). Dans le cas où les DCN sont refroidis, le muscle antagoniste s'active avec retard et reste activé plus longtemps par rapport au cas sans refroidissement. Ceci produit un dépassement de la cible et une correction trop forte ce qui amène le membre à dépasser la cible dans le sens opposé.

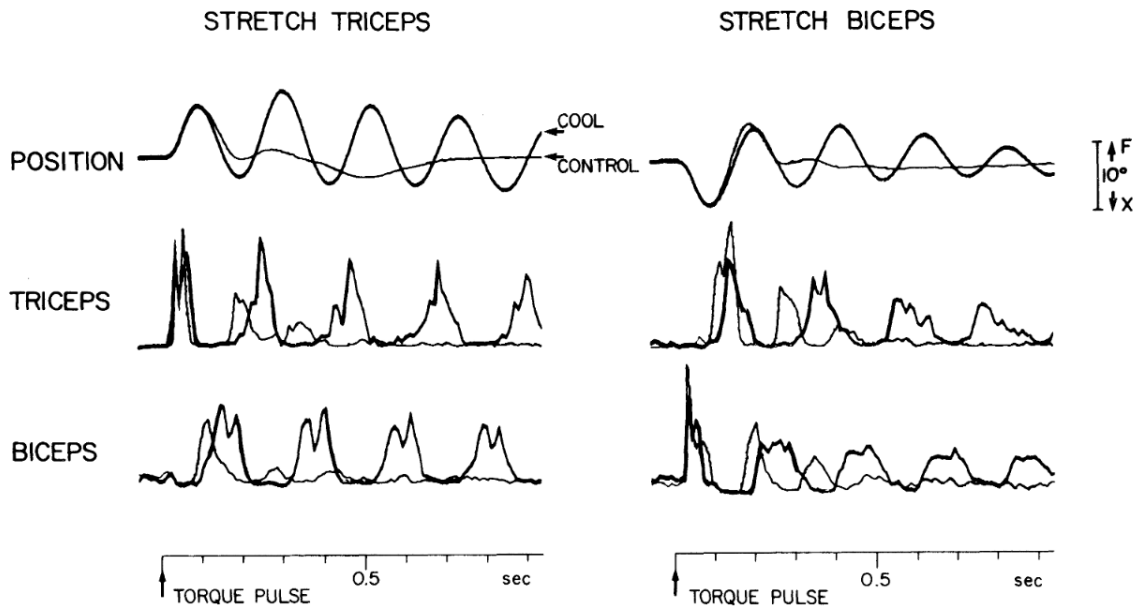


Figure 9: Les singes doivent tenir un manipulateur par leur avant-bras centré sur une position. Le manipulateur peut être brusquement déplacé (TORQUE PULSE) dans deux directions différentes de manière à étirer le biceps (image de droite, STRETCH BICEPS) ou le triceps (image de gauche, STRETCH TRICEPS). Les singes doivent alors ramener le manipulateur à sa position initiale. Dans chaque cas, l'EMG des biceps et triceps est mesuré. Dans chaque cas l'expérience est menée avec ou sans refroidissement des DCN dentelé et/ou interposé. Lorsque le manipulateur est brusquement déplacé de sorte à étirer le triceps (STRETCH TRICEPS), les triceps s'activent en premier engendrant un mouvement de retour du manipulateur. Les biceps s'activent ensuite pour freiner le mouvement (courbes fines). Si les DCN sont refroidis (courbes épaisses), les biceps s'activent en retard ce qui résulte en un dépassement de la position initiale et une réactivation plus forte des triceps également retardée. Ceci résulte en une séquence d'activations biceps/triceps résultant en une oscillation de l'avant-bras. Image prise de (Vilis & Hore, 1980).

L'importance du cervelet pour la précision des mouvements d'atteinte a aussi été mise en évidence chez les rongeurs par M. Becker et A. Person (Becker & Person, 2019). Dans cette étude, des souris doivent effectuer un mouvement d'atteinte avec leur patte antérieure pour chercher une récompense. Le mouvement d'atteinte est composé d'une phase d'accélération de la patte et d'une phase de décélération pour qu'au final la patte arrive avec une vitesse nulle au niveau de la récompense. L'enregistrement de l'activité neuronale dans la partie antérieure du noyau interposé montre que les neurones du noyau modulent leur activité principalement lors de la phase de décélération qui a lieu à la fin d'un mouvement d'atteinte. De plus l'activation ou l'inhibition optogénétique des neurones du noyau pendant cette phase augmente ou diminue la décélération de la patte respectivement ce qui amène la patte à ne pas atteindre ou au contraire à dépasser la cible. Ainsi, les neurones du noyau interposé antérieur interviendraient pour moduler l'intensité de la décélération de la patte. Ceci semble être le cas puisque les neurones du noyau interposé déchargent d'autant plus fortement lors de la phase de décélération que la patte était animée d'une vitesse élevée avant la phase de décélération. Ainsi, la patte parvient à atteindre la cible avec une plus faible variabilité en termes de position que la variabilité de sa vitesse avant la phase de décélération. Au cours du mouvement, les neurones du noyau interposé transmettraient ainsi un signal anticipatif au système musculaire ce qui permettrait à la patte d'atteindre la cible sans osciller autour comme ce serait le cas si le contrôle se faisait en utilisant uniquement le retour sensoriel.

### 2.1.2.2 *Actions attendues/inattendues*

Les études de la section précédente suggèrent que le cervelet intervient dans le contrôle en temps réel du mouvement des membres et que ce contrôle s'effectuerait par la prédiction de l'état futur du membre et/ou de l'environnement. Dans ce cas, le cervelet devrait pouvoir discriminer entre les stimulations attendues et les stimulations non attendues. Ceci semble être le cas dans certains contextes. En effet, dans les études menées par l'équipe de Kathleen Cullen, des singes effectuent des mouvements de la tête et/ou du corps de manière passive (on leur impose des mouvements, figure 10, A1) ou de manière active (les singes effectuent de manière spontanée le mouvement, figure 10, B1). Pendant la réalisation des mouvements, les neurones du noyau fastigial du cervelet sont enregistrés (Brooks & Cullen, 2013), (Mackrous, Carriot, Jamali, & Cullen, 2019). Ces études ont mis évidence des neurones qui modulent leur activité pendant les mouvements passifs (figure 10,A1) mais pas pendant les mouvements actifs (figure 10,B1). Plus précisément, la modulation de l'activité de ces neurones suit la modulation de la vitesse ou de l'accélération de la tête de l'animal uniquement lorsque le mouvement de la tête ne résulte pas d'un mouvement volontaire mais a été imposé à l'animal par l'expérimentateur. De plus, lorsque le mouvement de l'animal est composé d'une partie passive et d'une partie active, les modulations de la décharge neuronale correspondent aux modulations passives. Cette différence de modulation neuronale entre mouvements passifs et actifs ne provient pas du système vestibulaire lui-même car le nerf vestibulaire module son activité de la même manière pour les mouvements passifs et actifs (Mackrous, Carriot, Jamali, & Cullen, 2019). Ainsi le cervelet participerait au calcul de la prédiction des conséquences sensorielles des mouvements volontaires et les DCN emmêtreraient le signal de différence entre les conséquences sensorielles prédites et les conséquences sensorielles réelles. De manière intéressante, la même équipe a montré qu'un mouvement passif accompagnant systématiquement un mouvement actif évoque initialement une modulation neuronale mais finit avec le temps par ne plus évoquer de modulation de l'activité neuronale des noyaux fastigiaux (Brooks, Carriot, & Cullen, Learning to expect the unexpected: rapid updating in primate cerebellum during voluntary self-motion, 2015). Ainsi les stimulations évoquées par le mouvement passif accompagnant systématiquement le mouvement actif finiraient par être incorporées dans les prédictions des conséquences sensorielles du mouvement. Cependant il n'est pas encore clair dans quelle partie du cervelet ou ailleurs les prédictions des conséquences sensorielles ont lieu ni comment ces calculs s'effectuent.

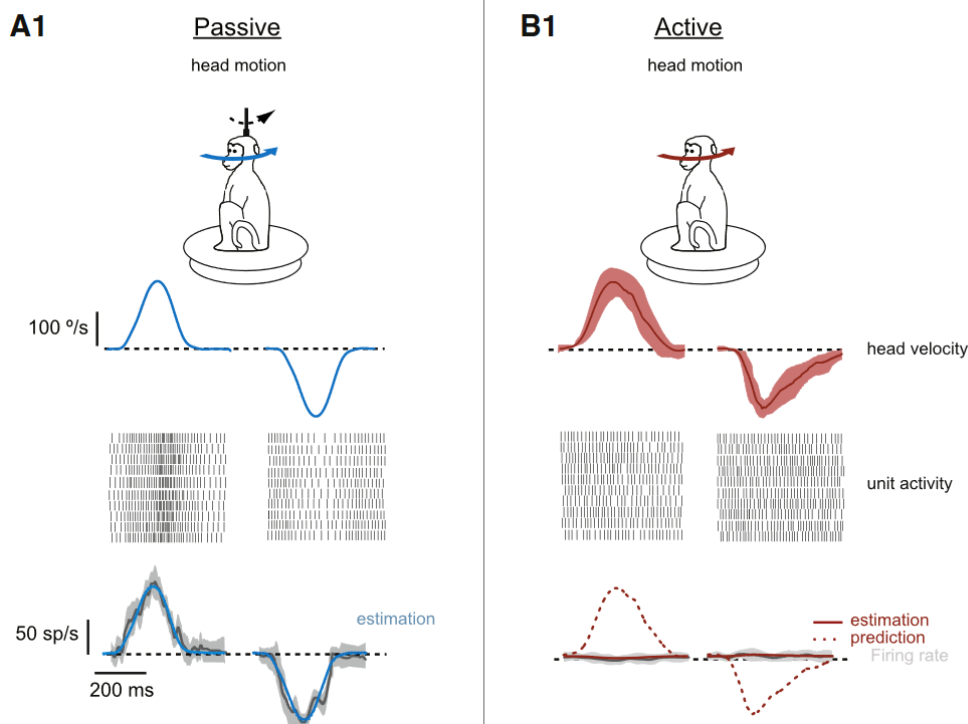


Figure 10: Singes effectuant des mouvements passifs (A1) et actifs (B1) de la tête. Head velocity indique le profil de vitesse de la tête. Unit activity indique l'activité d'un neurone du noyau fastigial avec en dessous le taux de décharge moyen (Firing rate). Lors de l'imposition d'un mouvement passif à la tête du singe, le neurone module sa décharge. Lorsque le singe effectue lui-même le mouvement, le neurone n'est pas modulé. Image prise de (Brooks & Cullen, 2013).

## 2.2 Estimation du temps écoulé/activité préparatoire/anticipative

Des études expérimentales montrent l'implication du cervelet dans l'estimation du temps écoulé après la présentation d'un stimulus saillant. L'exemple le plus connu est le conditionnement du clignement de l'œil (Eyeblink Conditioning ou EC). Dans cette expérience, on présente à un lapin un stimulus neutre, typiquement auditif (stimulus conditionnel ou Conditioned Stimulus CS). Après un laps de temps (intervalle inter stimulus ou Interstimulus Interval ISI) l'animal reçoit une bouffée d'air comprimé (stimulus inconditionnel ou Unconditioned Stimulus US) au niveau de son œil ce qui provoque la fermeture d'une paupière (Medina & Mauk, 2000)(figure 11). Après plusieurs séances sous un tel conditionnement, le système nerveux de l'animal établit un lien entre les deux stimuli et lors de la présentation du CS, l'animal anticipe l'arrivée du US et commence à partiellement fermer sa paupière avant l'arrivée du US. La fermeture de la paupière avant la présentation du stimulus aversif US est appelée réponse conditionnelle (Conditioned Response ou CR)(figure 11). La CR est généralement induite pour des valeurs du ISI entre 100ms et 3s mais c'est pour des valeurs du ISI entre 150ms et 400ms que l'induction du CR est maximale et dépasse 90% (Medina & Mauk, 2000). Dans le cas classique du conditionnement, le CS dure jusqu'à la présentation du US. L'intérêt de ce conditionnement pour l'étude de l'estimation de la durée est que la fermeture anticipative de la paupière (CR) a lieu un peu avant l'arrivée du US. Ainsi si l'ISI est long, la fermeture de la paupière commence plus tard par rapport au cas où l'ISI est plus court (Medina & Mauk, 2000).

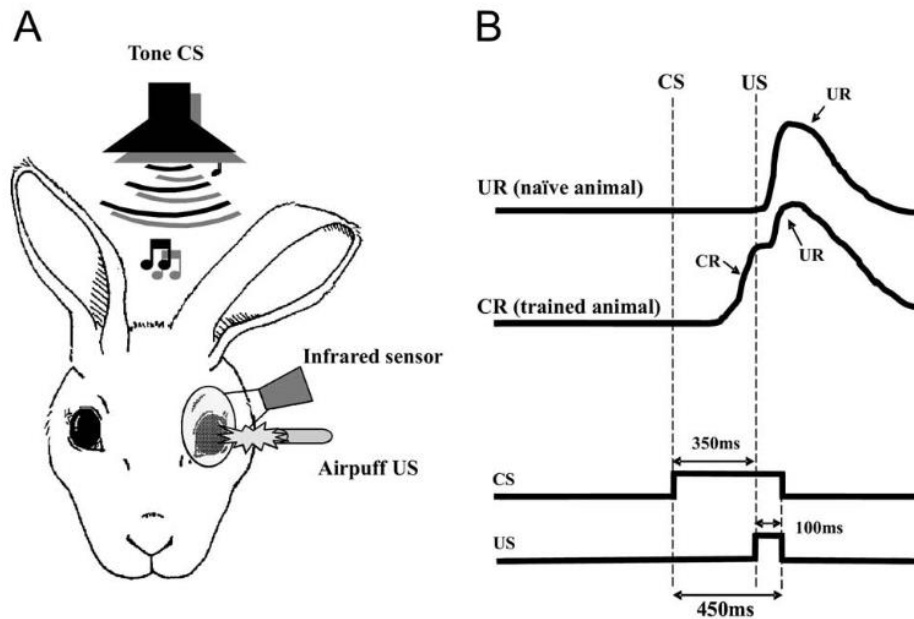


Figure 11: A : Schéma du conditionnement du clignement de l'œil.

Le conditionnement du clignement met donc en évidence l'apprentissage d'une durée dans le domaine sous seconde définie par deux stimuli saillants (le début du CS et l'arrivée du US). Il a été montré que le cervelet intervient dans l'apprentissage et l'expression de la CR, avec possiblement des rôles différents pour le cortex et pour les DCN (Takehara-Nishiuchi, 2016). En effet, la lésion de la partie antérieure du noyau interposé empêche complètement l'apprentissage de la CR chez un animal naïf. L'inactivation réversible ou la lésion du noyau interposé chez un animal conditionné supprime provisoirement ou définitivement la CR respectivement (Takehara-Nishiuchi, 2016). En revanche, la lésion de larges portions du cortex n'empêche pas l'expression du CR chez un animal conditionné mais semble rendre l'apprentissage de la CR moins efficace sans toutefois l'empêcher complètement (Takehara-Nishiuchi, 2016) (Chen, Bao, Lockard, Kim, & Thompson, 1996). L'importance du cortex pour l'acquisition de la CR est aussi appuyée par la récente découverte d'une connexion nucléo-corticale excitatrice (Gao, et al., 2016). Lors de l'acquisition de la CR, la densité des terminaisons de ces MF issues du noyau augmente. Chez les souris entraînées l'excitation optogénétique de ces MF nucléaires lors de la présentation du CS augmente l'amplitude du CR avant l'arrivée du US. A l'inverse, l'inhibition de ces MF lors du CS diminue l'amplitude du CR. Ainsi l'acquisition de la CR dans le contexte du conditionnement du clignement pourrait faire intervenir la plasticité de MF nucléo-corticales. Remarquablement, la déconnexion pharmacologique réversible du cortex cérébelleux du noyau interposé chez un animal conditionné n'empêche pas l'expression de la CR mais perturbe le temps d'initiation de la CR. Dans ce cas la CR se produit rapidement après le début du CS. Ainsi le cortex semble intervenir dans la détermination du profil temporel de la CR. Enfin, l'expression de la CR, s'accompagne par une augmentation de la décharge neuronale de certains neurones du noyau interposé et d'une baisse de la décharge de certaines PC (McCormick & Thompson, 1984), (Halverson, Khilkevich, & Mauk, 2015). Ceci suggère que la CR est initiée par une augmentation de la décharge des neurones du noyau résultant d'une diminution de l'inhibition provenant des PC. La présence d'une CR lorsque le cortex a été déconnecté suggère des entrées excitatrices vers le noyau interposé depuis les MF véhiculant le CS. Ainsi, le noyau interposé intégrerait les entrées excitatrices de MF et les entrées inhibitrices des PC pour augmenter sa

décharge neuronale juste avant l'arrivée du US (Takehara-Nishiuchi, 2016). L'augmentation de la décharge du noyau interposé se propage ensuite au noyau rouge et de là aux motoneurones du muscle de la paupière produisant la CR.

Le conditionnement du clignement de l'œil met en évidence une modulation de l'activité neuronale en anticipation d'un évènement extérieur à venir. Dans certains cas, le cervelet présente une activité anticipative appelée activité préparatoire juste avant l'initiation par l'animal lui-même d'un mouvement, par exemple une saccade oculaire. En effet, dans une étude, Jun Kunimatsu et al. ont entraîné des singes à effectuer des saccades oculaires (Kunimatsu, Suzuki, Ohmae, & Tanaka, 2018). Un stimulus visuel est envoyé au singe pour lui signifier qu'il doit initier une saccade après un intervalle variable de temps. Selon la couleur du stimulus visuel, le singe attend ~500, ~1200 ou ~2300 ms avant d'initier une saccade. Indépendamment du délai, certains neurones du noyau dentelé des singes commencent à augmenter leur taux de décharge environ 500 ms avant l'initiation de la saccade. Cette activité neuronale rampante culmine au moment de l'initiation de la saccade et décroît ensuite. Ainsi dans cette tâche comportementale, le stimulus visuel ne semble pas perturber l'activité des neurones du noyau dentelé à moins que l'initiation de la saccade doive se faire dans les 500 ms. En revanche, dès la présentation du stimulus, certains neurones du striatum initient une activité rampante qui dure jusqu'à l'initiation du mouvement même si le mouvement est initié plusieurs secondes après. Le cervelet serait ainsi impliqué dans le déclenchement des mouvements impliquant des traitements temporels inférieurs à 1 seconde alors que les traitements de délais plus longs se feraient dans le striatum ou ailleurs.

Dans l'étude précédente, l'activité préparatoire commençant seulement 500 ms avant le mouvement pourrait être purement motrice, servant au déclenchement du mouvement. Cependant, dans un autre contexte, l'activité préparatoire pourrait être impliquée dans un processus plus évolué comme la planification du mouvement. Par exemple dans l'étude de Gao et al., des souris peuvent toucher pendant 1.3 secondes avec leurs vibrisses un objet qui peut se situer à deux emplacements différents (Gao, Davis, Thomas, & al., 2018). L'objet est alors retiré et après un délai de 1.3 secondes et un signal sonore, les souris doivent indiquer la position de l'objet en léchant le robinet de droite ou celui de gauche pour avoir une récompense. La lésion du noyau fastigial mais pas du noyau dentelé empêche l'initiation du mouvement ou rallonge le temps d'initiation du mouvement. Également, la photostimulation ou la photoinhibition du noyau fastigial pendant la période de délai produit une baisse de la performance des souris. Cependant la photostimulation pendant la phase d'exécution du mouvement ne perturbe pas la durée ou la fréquence du léchage. Ainsi le noyau fastigial ne serait pas impliqué dans le contrôle moteur mais dans la planification du mouvement déterminant la direction du mouvement et son initiation. Dans cette étude l'activité préparatoire est également présente dans le cortex moteur (ALM). La photoinhibition de cette activité dans le cortex moteur ou le noyau du cervelet perturbe l'activité préparatoire dans le cervelet ou le cortex moteur respectivement. Une telle activité préparatoire est également observée pour des mouvements du membre antérieur. En effet dans une étude, des souris initient spontanément le déplacement d'un objet à l'aide de leur membre antérieur (Wagner M. , et al., 2019). Environ 1 seconde avant l'initiation du mouvement, des GrC du cervelet et des cellules pyramidales du cortex prémoteur initient une activité préparatoire qui culmine lors de l'initiation du mouvement. Ces études montrent qu'une activité préparatoire à l'initiation du mouvement a lieu dans la couche d'entrée du cervelet, dans les structures de sortie du cervelet et dans des parties du cortex moteur. Ainsi l'activité préparatoire dans le cervelet proviendrait d'une dynamique de réseau.

Enfin, il a été récemment montré que le cervelet des souris présente une activité préparatoire en anticipation de la réception d'une récompense (Wagner M. , Kim, Savall, Schnitzer, & Luo, 2017) (Chabrol, Blot, & Mrsic-Flogel, 2019). Dans une étude, l'activité préparatoire est présente dans les neurones du noyau dentelé et dans le cortex moteur (ALM) et l'inhibition du noyau dentelé inhibe l'activité préparatoire dans ALM (Chabrol, Blot, & Mrsic-Flogel, 2019). Dans une autre étude, l'activité préparatoire est présente dans les GrC (Wagner M. , Kim, Savall, Schnitzer, & Luo, 2017). Ces études montrent que l'activité préparatoire à une réception de récompense est présente à l'entrée et à la sortie du cervelet ainsi que dans le cortex moteur. Ceci montre comme dans le cas du contrôle moteur ci-dessus que l'activité préparatoire à une récompense est présente dans le cervelet et le cortex et résulterait de l'interaction entre ces structures.

### 2.3 Apprentissage sensorimoteur/adaptation

Le cervelet intervient également dans l'adaptation sensorimotrice d'un comportement aux changements de l'environnement. Parmi les exemples les plus étudiés chez les animaux sont le réflexe vestibulo-oculaire (Vestibulo-Ocular Reflex ou VOR) et le réflexe opto-cinétique (Opto-Kinetic Reflex ou OKR). Le OKR se manifeste par le mouvement compensatoire des yeux lorsque le champ visuel effectue un mouvement d'ensemble. C'est le comportement involontaire des yeux lorsqu'on regarde par la fenêtre assis dans un train en marche. En laboratoire, le OKR est étudié en plaçant un animal sur un support fixe au centre d'un cylindre dont les parois internes affichent des bandes verticales noires et blanches en alternance et en imposant un mouvement sinusoïdal au cylindre. La performance du OKR est alors mesurée par le rapport entre l'amplitude du mouvement des yeux et l'amplitude du mouvement du cylindre. Plus ce rapport, appelé gain, est proche de l'unité plus le réflexe est performant. Pour de faibles fréquences d'oscillation du cylindre, le gain est proche de l'unité mais pour des fréquences plus élevées, le gain est plus faible (Shutoh, Ohki, Kitazawa, Itohara, & Nagao, 2006). On constate que si on place une souris dans un tel environnement pendant une heure, le gain du réflexe augmente. Ceci constitue l'adaptation du réflexe. Si juste après l'adaptation, on inactive réversiblement le lobule X du cervelet (flocculus), le gain baisse jusqu'à sa valeur d'avant entraînement (Shutoh, Ohki, Kitazawa, Itohara, & Nagao, 2006). Remarquablement, si on mesure le gain le lendemain avant une nouvelle séance d'entraînement, on obtient une valeur plus élevée que le gain du jour précédent avant entraînement mais plus faible que le gain du jour précédent après entraînement. De plus, ce gain n'est plus affecté par l'inactivation réversible du lobule X. Ainsi, l'expression du comportement adapté juste après l'apprentissage nécessite le cortex. Cependant le lendemain, une partie de l'adaptation est oubliée et la partie restante n'est plus dépendante du cortex. Enfin si on effectue des lésions du lobule X ou de l'olive inférieure, les souris naïves ne sont pas capable d'adapter le gain de leur réflexe. Ceci met en évidence un processus d'adaptation en deux parties. Une partie d'acquisition de l'adaptation qui nécessite le cortex cérébelleux et une partie de consolidation qui consiste en le transfert d'une partie de l'adaptation en dehors du cortex (Shutoh, Ohki, Kitazawa, Itohara, & Nagao, 2006). Ce transfert pourrait avoir lieu vers les noyaux vestibulaires qui sont la cible des projections des PC du lobule X et que l'on peut considérer comme faisant partie de l'ensemble des DCN. En effet, après plusieurs jours d'entraînement, les noyaux vestibulaires des souris présentent une excitabilité accrue (Shutoh, Ohki, Kitazawa, Itohara, & Nagao, 2006). Ceci suggère que la modification du gain du réflexe pourrait à long terme être stockée dans les poids synaptiques entre les MF et les noyaux vestibulaires. Le signal codant le déplacement du champ visuel arriverait par les MF et engendrerait une réponse plus forte des noyaux vestibulaires qui produiraient un déplacement oculaire avec plus d'amplitude. Le VOR se manifeste par le

mouvement compensatoire des yeux lors du mouvement de la tête. Au laboratoire, la performance du VOR se mesure en plaçant un animal dans l'obscurité sur un support animé d'un mouvement sinusoïdal et en mesurant le mouvement des yeux par rapport à la tête de l'animal (figure 12). De même que pour l'OKR, on mesure le gain du VOR. Si, dans un environnement éclairé on place l'animal au centre d'un cylindre fixe dont les parois internes affichent des bandes verticales noires et blanches en alternance et qu'on impose des mouvements de sens opposé au support de l'animal et au cylindre, les yeux de l'animal finissent par réaliser des mouvements compensatoires d'amplitude plus élevée. On constate alors que le gain du VOR mesuré dans l'obscurité a augmenté. Si le support de l'animal et le cylindre réalisent des mouvements dans le même sens, le mouvement compensatoire des yeux devient de moindre amplitude et le gain diminue.

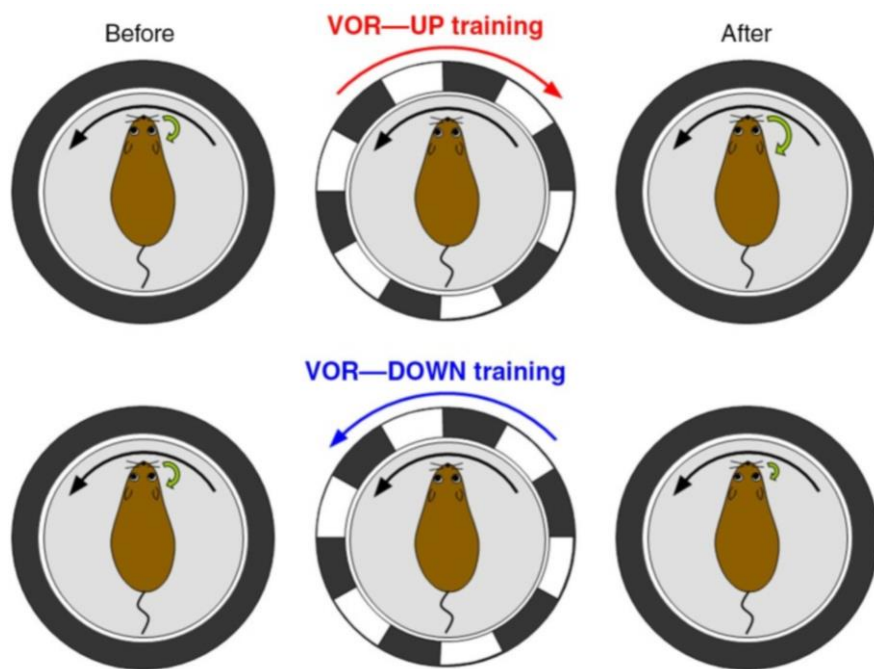


Figure 12: Illustration du principe de l'augmentation du gain du VOR (UP training) et de la diminution du gain (DOWN training). La mesure du gain se fait dans le noir en plaçant l'animal sur une plateforme oscillante et en mesurant le mouvement de ses yeux par rapport au mouvement de la plateforme (Before et After). Pour augmenter le gain, l'écran strié devant l'animal oscille dans le sens opposé de celui de la plateforme. Pour baisser le gain, l'écran et la plateforme oscillent dans le même sens. Image prise de (Hirano & Kawaguchi, 2014).

On constate aussi que si on lèse le lobule X de l'animal naïf, il n'est pas capable de modifier le gain du VOR (Ito M. , 1998). En revanche effectuer une lésion du lobule X après adaptation produit des résultats variables mais généralement n'empêche pas complètement l'expression de l'adaptation (Boyden, Katoh, & Raymond, 2004). Ceci suggère que le cortex est nécessaire pour l'acquisition de l'adaptation mais que l'expression de l'adaptation apprise dépendrait partiellement ou complètement d'une structure en dehors du cervelet. Des données expérimentales indiquent que la mémoire de l'adaptation pourrait à long terme se localiser dans le noyau vestibulaire sous forme de connectivité synaptique accrue ou diminuée entre les MF et les neurones du noyau (De Zeeuw, Lisberger, & Raymond, 2021).

## 2.4 Aspect sensoriel/langage

Les humains souffrant de lésions ou dégénération du cervelet présentent également des troubles de production et perception de la parole ainsi que des troubles de compréhension du langage. Plus



précisément, ces personnes présentent une élocution saccadée (Urban & Marx, 2003), des difficultés de génération de mots et de construction de phrases grammaticalement correctes ainsi que des difficultés de lecture et d'écriture (De Smet, Baillieux, De Deyn, & Mariën, 2007) (Ackermann & Brendel, Neurobiology of Language, 2016).

Les difficultés de perception peuvent être illustrées sur l'exemple de l'étude (Ackermann, Gräber, Hertrich, & Daum, 1997). Dans cette étude des personnes doivent discriminer acoustiquement deux mots, Boden et Boten. Le mot Boden /bo:dn/ veut dire sol en allemand et se prononce avec une courte pause entre les deux syllabes /bo/ et /dn/. Le mot Boten /bo:tn/ veut dire messagers et se prononce avec une longue pause entre /bo/ et /tn/. Si on fait écouter à des personnes saines des séquences du mot Boden et que l'on augmente progressivement la durée de la pause, les personnes finissent par percevoir Boten lorsque la pause devient trop longue (voir figure 13). Les personnes ayant une lésion bilatérale du cervelet ne parviennent pas à distinguer entre les deux mots quelle que soit la durée de la pause. Ainsi le cervelet pourrait être impliqué dans le traitement temporel des éléments du langage.

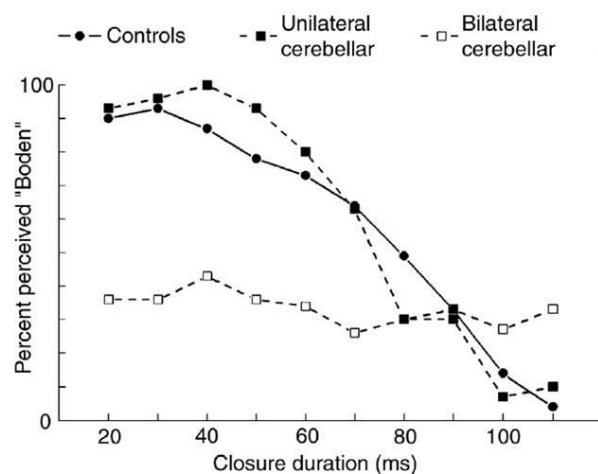


Figure 13: Perturbation de la perception acoustique chez des personnes lésées et saines soumises à l'écoute du mot Boden. L'abscisse (Closure duration) indique la durée de la pause entre /bo/ et /dn/ dans Boden /bo:dn/. L'ordonnée indique la proportion de mots entendus classés comme Boden. Les personnes lésées unilatéralement (n=2) se comportent comme les personnes saines. Les personnes lésées bilatéralement (n=8) ne parviennent pas à distinguer les versions à courte pause des versions à longue pause du mot Boden. Reprise de (Ackermann, Gräber, Hertrich, & Daum, 1997)

L'observation de l'activité du cervelet grâce à la fMRI lors de la production de séquences de syllabes montre une augmentation de l'activité dans les lobules VI et VIII du cervelet. L'activation du lobule VI est d'autant plus forte que les syllabes ou la séquence sont complexes (Bohlanda & Guenther, 2006). Il n'est cependant pas clair si cette augmentation d'activité est associée à une action motrice ou au fait d'entendre sa propre voix car les zones avoisinantes sont aussi activées pendant la réception auditive. Des études suggèrent également que le lobule VIII est impliqué dans le traitement du retour sensoriel lors de la production de la parole (Ziegler & Ackermann, 2017).

Enfin, le cervelet pourrait intervenir dans des tâches linguistiques de plus haut niveau puisque les personnes lésées ont des difficultés pour discriminer entre phrases grammaticalement correctes et incorrectes (De Smet, Baillieux, De Deyn, & Mariën, 2007). De même, l'association sémantique de mots observés visuellement sans parler à voix haute s'accompagne d'une activation du cervelet et

cette activation est d'autant plus importante que la complexité de l'association à réaliser est difficile (Xiang, et al., 2003).

Le cervelet pourrait jouer un rôle dans l'acquisition de la parole puisque les enfants ayant des défauts cérébelleux acquièrent la parole avec retard. Cependant, les défauts de la parole chez ces enfants arrivés à l'âge adulte sont mineurs. Ceci suggère que si le cervelet joue un rôle dans l'acquisition de la parole, ce rôle peut être largement compensé par d'autres circuits comme le cortex cérébral (Ziegler & Ackermann, 2017).

## 2.5 Modèles

Les études expérimentales présentées dans les sections précédentes font partie des études menées depuis plusieurs décennies montrant l'implication du cervelet dans le contrôle musculaire en temps réel, dans l'adaptation du contrôle musculaire aux changements environnementaux et dans l'estimation de l'écoulement du temps. Très tôt la question s'est également posée de comment le circuit du cervelet permet d'expliquer les observations expérimentales. Dans cette section on présente quelques exemples de modèles utilisés pour expliciter le rôle du cervelet.

### 2.5.1 Modèles internes

Dans l'étude de Vilis et Hore (Vilis & Hore, 1980) de la section 2.1.2.1., les auteurs proposent que le cervelet réalise des prédictions de l'évolution du membre et informe le cortex qui émet des commandes motrices anticipatives ce qui permet d'atteindre la cible sans oscillations lors du mouvement d'atteinte. Lorsque le cervelet est perturbé, le cortex ne dispose que du retour sensoriel pour corriger le mouvement. Le retour sensoriel mettant un certain temps à arriver, la commande motrice corrective arrive avec retard ce qui produit des oscillations du membre. Il a été proposé que pour réaliser ces prédictions le cervelet contiendrait un modèle direct du membre (Wolpert, Miall, & Kawato, 1998).

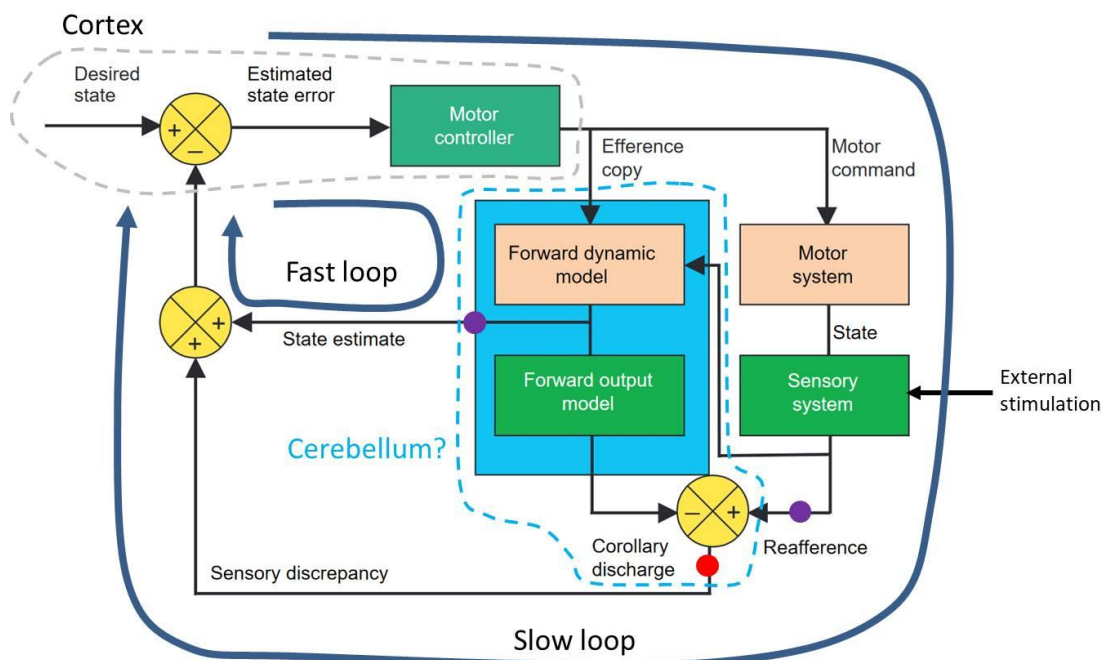


Figure 14 : Schéma de principe d'un modèle interne direct (Internal Forward Model) avec un possible partage des rôles entre cortex et cervelet. Les pointillés en gris représentent le cortex. Le rectangle et les pointillés bleus représentent le

cervelet. Le point rouge représente le site des enregistrements dans (Brooks & Cullen, 2013) et les points violets les sites d'enregistrement dans (Tanaka, Ishikawa, & Kakei, 2019). Adaptation de (Wolpert, Miall, & Kawato, 1998).

La notion de modèle direct provient de l'automatique, un domaine de l'ingénierie, où pour améliorer la stabilité des systèmes pilotés on utilise parfois des modèles directs des systèmes à piloter. Un modèle direct est un modèle du système réel à piloter qui reçoit en entrée la commande envoyée au système à piloter et qui produit en sortie la réponse que produirait le système réel. Dans la pratique, la réponse du système réel à la commande met un certain temps à arriver au contrôleur. Ce dernier produit donc les signaux de commande sur la base d'observations passées du système réel. Ceci peut produire des oscillations de la réponse du système piloté et donc rendre plus difficile le pilotage du système. Disposer d'un modèle direct du système réel à piloter permet si le modèle est précis d'avoir sans délai une estimation de la réponse du système réel à la commande. Ceci permet de piloter le système réel de manière souhaitée.

La figure 14 présente un exemple de circuit dans lequel le cervelet implémenterait un modèle direct d'un membre et serait utilisé par le cortex pour le pilotage du membre. Dans cette figure, le cortex produit un signal de commande qui vient activer un membre (Motor System) ce qui va générer un stimulus sensoriel (Sensory Reafference) qui va revenir vers le cortex. La conséquence sensorielle de la commande arrive au cortex avec un certain délai en suivant la grande boucle (Slow Loop). Le signal de commande (Efference copy) est parallèlement envoyé dans le cervelet qui implémente un modèle direct du membre (Forward dynamic model). Le modèle produit une estimation de l'état futur du membre (State estimate). Cette estimation arrive au cortex avant la conséquence sensorielle car le chemin suivi a un délai plus court (Fast Loop). Le cortex connaissant l'état futur du membre peut estimer la conséquence sensorielle et si besoin produire une nouvelle commande correctrice plus tôt. Dans ce paradigme, le modèle direct du membre doit pouvoir être mis à jour si les propriétés de l'environnement se modifient ou si les propriétés mécaniques du membre changent progressivement comme c'est le cas lors du passage de l'état juvénile à l'état adulte. Pour cela, le modèle direct du membre doit être complété par un modèle direct du système sensoriel (Forward output model) pour pouvoir prédire les conséquences sensorielles de la commande. Les conséquences sensorielles prédites et les conséquences sensorielles réelles sont comparées et éventuellement utilisées (Sensory discrepancy) pour mettre à jour le modèle direct du membre (non illustré). De manière importante, pour que la comparaison ait un sens, il faut assurer la correspondance temporelle entre les signaux prédits et les signaux provenant du système sensoriel. Ceci suppose que l'apprentissage d'un modèle interne doit inclure l'apprentissage d'un délai temporel et ce délai serait différent selon la fonction motrice concernée.

La grande majorité des arguments étayant la théorie du cervelet comme lieu de modèles directs provient d'études de neuroimagerie et d'études cliniques (Imamizu, et al., 2000) (Tanaka H. , Ishikawa, Lee, & Kakei, 2020). Quelques études avec enregistrements électrophysiologiques apportent également des arguments en faveur de cette théorie. En effet, dans l'étude (Brooks & Cullen, 2013) évoquée précédemment, les neurones des noyaux fastigiaux modulent leur activité si l'animal est stimulé de manière inattendue mais ne modulent pas leur activité si la stimulation est générée par le mouvement volontaire de l'animal. Un tel signal serait attendu au niveau de la comparaison entre les conséquences sensorielles prédites et réelles effectuée au niveau du point rouge dans la figure 14. Egalement, l'atténuation progressive de la modulation des neurones du noyau fastigial pendant le mouvement volontaire dans un environnement modifié peut être interprétée comme la conséquence de la mise à jour du modèle direct (Brooks, Carriot, & Cullen,

Learning to expect the unexpected: rapid updating in primate cerebellum during voluntary self-motion, 2015). Une autre étude (Streng, Popa, & Ebner, 2018), semble également indiquer que le cervelet réalise des prédictions sur l'erreur de la position du membre. Dans cette étude, des singes ont été entraînés à déplacer un curseur sur un écran pour suivre une cible se déplaçant de manière imprévisible. Les expérimentateurs ont mesuré à chaque instant l'erreur entre la position du curseur et de la cible et le taux de décharge des PC. Schématiquement, les expérimentateurs ont constaté que les pics dans la magnitude de l'erreur de position sont précédés de 100 à 200 ms de pics de taux de décharge des PC. De même les pics dans la magnitude de l'erreur de position sont suivis de 200 ms de pics de taux de décharge des PC. Les pics de décharge des PC précédant le pic de l'erreur de position sont interprétés comme des signaux prédisant l'erreur de position du membre sur la base des copies des commandes motrices. Les pics de décharge des PC suivant le pic de l'erreur de position sont interprétés comme des signaux représentant l'erreur de position du membre issue du retour visuel. Ainsi une même PC produirait un signal de prédiction de l'erreur de position et 300 ms plus tard le signal de constat visuel de l'erreur. Cependant, les auteurs ne suggèrent pas de mécanisme de comparaison entre l'erreur et la prédiction mais suggèrent que ceci pourrait avoir lieu dans les DCN ou ailleurs dans le système nerveux. Enfin dans l'étude (Tanaka, Ishikawa, & Kakei, 2019) les expérimentateurs ont tenté de prédire l'activité des MF à partir de l'activité des DCN à un instant passé. Pour cela, ils ont enregistré l'activité des MF et des DCN dans le cervelet des singes pendant que ceux-ci effectuaient des mouvements de la poignée dans des directions différentes. Les expérimentateurs ont constaté que pour une direction du mouvement donnée, le taux de décharge d'une MF peut être prédit par une combinaison linéaire des taux de décharge de plusieurs DCN quelques dizaines à quelques centaines de ms plus tôt. Selon cette étude, l'activité neuronale au niveau du premier point violet (State estimate) de la figure 14 prédirait l'activité neuronale au niveau du deuxième point violet (Reafference) conformément au modèle. Les tentatives expérimentales visant à confirmer la théorie du modèle direct sont limitées par le nombre de cellules ou fibres qu'il est possible d'enregistrer simultanément. Dans les études sus-évoquées, le nombre de neurones enregistrés est de quelques dizaines et il ne s'agit pas d'enregistrements simultanés.

### 2.5.2 Modèles d'adaptation du gain

Pour rendre compte de l'adaptation du gain du VOR, historiquement deux hypothèses se sont développées. L'hypothèse d'Ito et l'hypothèse de Lisberger (Lisberger, 2021) schématiquement présentées sur la figure 15. Dans l'hypothèse d'Ito, le signal vestibulaire dû au mouvement de la tête est véhiculé par les MF et suit la courbe pointillée verte jusqu'aux motoneurones oculaires. Le glissement du champ visuel (résultant de la différence de mouvement de la tête et des yeux) est transmis par le CF. Un glissement du champ visuel lors du mouvement de la tête produit une décharge de CS ce qui affaiblit les synapses entre les PF et les PC ( $w_1$ ,  $w_2$  sur figure 15). Lorsque le même mouvement de la tête se reproduit, la transmission du signal vestibulaire se trouve affectée au niveau des synapses PF-PC et les motoneurones oculaires sont activés différemment de sorte que le glissement du champ visuel est amoindri. Ainsi dans l'hypothèse d'Ito, le cortex est le lieu d'acquisition et d'expression de l'adaptation du gain du reflexe et le signal d'instruction pour l'apprentissage est véhiculé par les CF. Dans l'hypothèse de Miles-Lisberger, le signal vestibulaire contacte le noyau vestibulaire et de là est transmis aux motoneurones oculaires selon la courbe pointillée bleue de la figure 15. Le glissement du champ visuel est véhiculé par les PC. La diminution du glissement du champ visuel résulte de la plasticité synaptique au niveau des synapses ( $v_1$ ,  $v_2$  sur figure 15) MF-VN sous l'effet des PC qui véhiculent le signal d'instruction pour l'apprentissage.

L'hypothèse actuelle consiste en une synthèse des deux hypothèses. L'apprentissage du gain se ferait en deux parties (Lisberger, 2021). Au début, le gain est appris par la plasticité synaptique dans le cortex au niveau des synapses PF-PC sous l'effet du signal instructif véhiculé par les CF. Progressivement le gain appris se transférerait vers les synapses MF-VN entre les fibres moussues (MF) et le noyau vestibulaire (VN). Ce transfert aurait lieu sous l'effet instructif des PC. A long terme, le gain appris serait représenté sous forme de connectivité modifiée au niveau de ces synapses MF-VN.

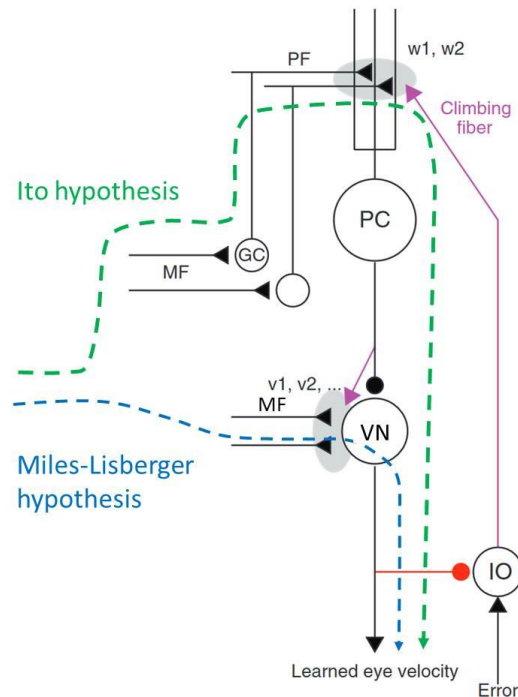


Figure 15: Hypothèses sur l'adaptation du gain du VOR. Les zones grisées sont le lieu de plasticités synaptiques. En violet, les signaux d'instruction. En vert le chemin du signal correspondant au gain adapté dans l'hypothèse d'Ito. En bleu dans l'hypothèse de Miles-Lisberger. L'hypothèse actuelle est une synthèse des deux. VN : noyaux vestibulaires. Adaptation de (Lisberger, 2021).

### 2.5.3 Modèles d'estimation du temps

Des tentatives de modélisation ont également été développées pour rendre compte du rôle du cervelet dans l'acquisition de la réponse conditionnelle (CR) dans le contexte du conditionnement du clignement l'oeil (section 2.2). L'aspect le plus difficile à modéliser est la dépendance du temps d'initiation de CR par rapport à la durée du CS. Après que le CS ait commencé, le cervelet est censé estimer le temps écoulé et déclencher le CR au bon moment avant l'arrivée de US. Il a été proposé (Medina & Mauk, 2000) qu'au cours de la présentation du CS, différents groupes de GrC s'activent dans le temps et lorsque l'US arrive par CF, les synapses PF-PC actives autour de cet instant subissent un affaiblissement par le mécanisme LTD. Lorsque le CS se reproduit, les synapses MF-PC activées juste avant l'arrivée de l'US étant affaiblies, la décharge des PC baisse ce qui désinhibe les DCN et engendre la CR. Ce modèle suppose que le CS engendre une activité se propageant dans le temps dans la couche granulaire ce qui n'a pas été vérifié expérimentalement. La figure 16 présente quelques hypothèses sur l'origine de l'éventuelle propagation spatio-temporelle de l'activation des synapses.

Récemment, un modèle a été proposé permettant d'expliquer le temps d'initiation de la CR par la diversité et la plasticité à court terme des synapses MF-GrC (Barri, Wiechert, & DiGregorio, 2022).

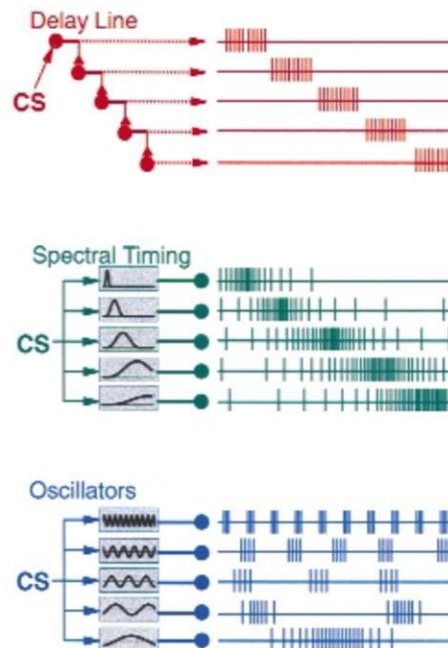


Figure 16: Possibles mécanismes de propagation spatio-temporelle de l'activité neuronale engendrée par le CS dans la couche granulaire. La couche granulaire est représentée par 5 GrC. Dans le cas (a), la propagation résulte d'une connexion en chaîne des GrC. Dans le cas (b), la propagation résulte d'une hétérogénéité de constantes de temps d'activation des différentes GrC. Dans le cas (c), la propagation résulte d'une hétérogénéité des paramètres de l'activité oscillatoire des différentes GrC. Repris de (Medina & Mauk, 2000).

La plasticité des synapses MF-GrC consiste en l'adaptation avec le temps de l'amplitude des courants post-synaptiques suite à une stimulation continue des MF. Il a été constaté expérimentalement que l'amplitude initiale du courant post-synaptique et la constante de temps de l'adaptation sont variables d'une GrC à l'autre comme illustré dans la figure 17 (Chabrol, Arenz, Wiechert, Margrie, & DiGregorio, 2015).

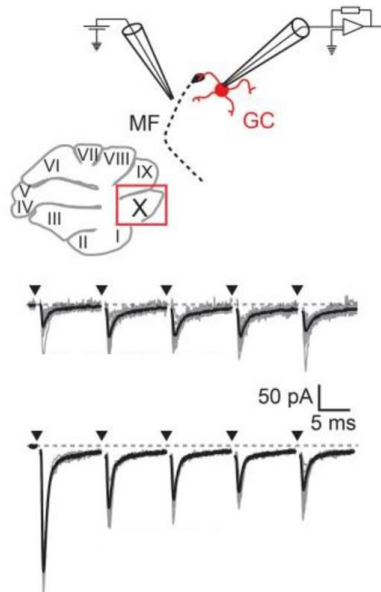


Figure 17: Deux exemples d'enregistrements de courants post-synaptiques dans des GrC suite à un train de stimulation de MF. Le profil d'adaptation des deux cellules est différent : la première commence par augmenter sa réponse puis la diminue, la seconde diminue fortement sa réponse. Les rectangles indiquent les temps de stimulation de MF. Adaptation de (Chabrol, Arenz, Wiechert, Margrie, & DiGregorio, 2015).

Suite à un brusque changement du taux de décharge des MF (arrivée du CS), les synapses MF-GrC mettent plus ou moins de temps à se stabiliser. De même le taux de décharge d'une GrC va se stabiliser plus ou moins rapidement selon le type de ses synapses. Certaines GrC mettront jusqu'à 700 ms pour se stabiliser. La sortie d'une PC est modélisée comme une combinaison linéaire des activités de plusieurs GrC. Les poids synaptiques des synapses PF-PC peuvent alors être choisis de telle manière que les PC baissent leur taux de décharge uniquement autour d'un instant particulier situé entre le début du CS et 700 ms après. Cependant les auteurs ne présentent pas de mécanisme plausible biologiquement qui permettrait d'ajuster les poids synaptiques jusqu'aux valeurs voulues. Ce modèle se concentre sur l'étape d'acquisition de la CR et ne traite pas du rôle des DCN.

Les sections précédentes montrent que le cervelet joue un rôle important dans l'apprentissage sensorimoteur et en particulier dans son aspect temporel sous-seconde. Dans cette partie nous allons découvrir un modèle animal et comportemental adapté pour l'étude de l'apprentissage sensorimoteur dans le domaine sous-seconde. Il s'agit de l'apprentissage vocal chez le diamant mandarin, un oiseau chanteur.

## 3 Oiseaux

### 3.1 Généralités

Les oiseaux chanteurs consistent d'environ 4000 espèces (Mooney R., 2009). Seule une petite partie est utilisée comme modèle animal pour la recherche scientifique. Le diamant mandarin dont le nom scientifique est *Taeniopygia guttata*, est l'un des oiseaux chanteurs les plus étudiés en laboratoire (figure 18) et a également été utilisé pour la préparation de cette thèse.



Figure 18: Diamant mandarin dans la nature.

### 3.1.1 Chant et autres vocalisations

Chez les diamants mandarins seuls les mâles chantent, les femelles ne chantent pas. Le chant des diamants mandarins sert à attirer les femelles et permettre ainsi la reproduction de l'espèce. Typiquement, un mâle se met à chanter lorsqu'il se trouve près d'une femelle. Cependant les diamants mandarins chantent aussi de manière spontanée même dans une cage d'isolation phonique d'un laboratoire. Les raisons écologiques du chant spontané sont peu connues mais pourraient consister à maintenir la stabilité du chant pendant les périodes d'absence des femelles. Les diamants mandarins apprennent à chanter jeunes et une fois adultes maintiennent leur chant tout au cours de leur vie. Le chant est produit comme une répétition de plusieurs motifs identiques. Un motif est composé en général d'une séquence de 2 à 5 syllabes précédées par un nombre variable de notes introductives. Un exemple de chant composé de deux motifs est représenté dans la figure 19. Une syllabe dure entre 50 et 300 ms et est séparée des syllabes précédentes et suivantes par des silences d'environ 25 ms (Ondracek & Hahnloser, 2013). En plus du chant appris, les diamants mandarins produisent des vocalisations appelés cris d'appel ou 'calls'. Les cris d'appel ressemblent à des syllabes isolées mais en général ont une structure spectrale plus simple que les syllabes du motif. Les cris d'appel sont produits par les mâles et par les femelles. Cependant si les cris des femelles sont innés, ceux du mâle sont en partie appris (Ondracek & Hahnloser, 2013). Les cris servent à se repérer entre membres et en général sont produits en réponse à la vocalisation d'un autre oiseau.

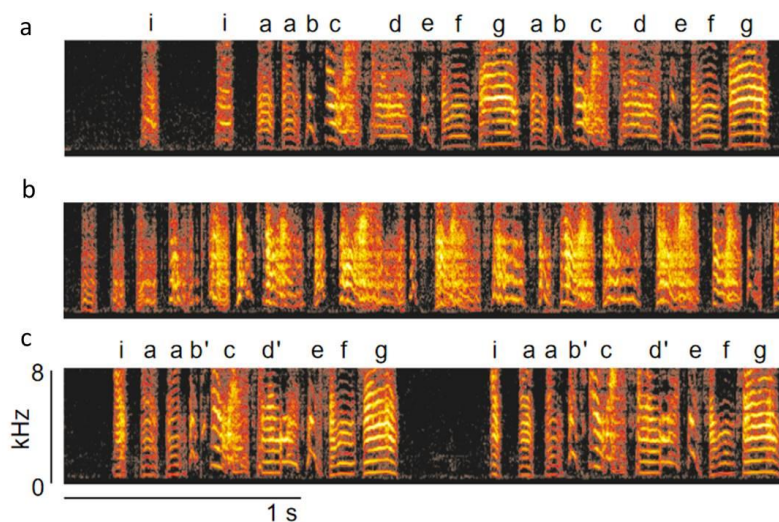


Figure 19: Spectrogrammes de chants de diamants mandarins. a : Chant de diamant mandarin adulte. Ce chant est composé de deux motifs. Le motif ici est une séquence de 6 syllabes : 'a,b,c,d,e,f,g'. Le premier motif est précédé de deux notes introductives 'i' et contient un double de la première syllabe 'a'. b : chant d'un juvénile diamant mandarin au stade



de sous-chant au début de la phase sensorimotrice, le chant du tuteur est représenté dans a. c : chant du juvénile à la fin de la phase sensorimotrice, chant cristallisé. Le chant appris est semblable au chant du tuteur mais diffère légèrement au niveau de certaines syllabes. Repris de (Brainard & Doupe, 2002)

Chez l'oiseau adulte, le degré de similarité d'un motif à l'autre est très élevé. Par exemple, la durée d'une même syllabe varie d'environ 5% entre les motifs. De plus, les diamants mandarins sont capables de discriminer acoustiquement de telles variations dans la durée des syllabes (Narula, Herbst, Rychen, & Hahnloser, 2018). Enfin, le chant est moins variable lorsque le mâle chante en direction de la femelle (chant dirigé) que lorsqu'il chante de manière spontanée (chant non dirigé). Ceci montre l'importance de la précision temporelle pour l'activation et la coordination des muscles lors de la production du chant chez le diamant mandarin.

### 3.1.2 Apprentissage du chant

Les diamants mandarins apprennent à chanter en imitant un tuteur qui dans la nature est le plus souvent le père. L'apprentissage du chant se fait pendant la période juvénile qui s'étend jusqu'à 90 jours après l'éclosion. Plus précisément la période d'apprentissage se décompose en deux étapes, la période sensorielle et la période sensorimotrice (voir figure 20). La période sensorielle commence tôt après l'éclosion et dure environ 60 jours. Cette période est caractérisée par la forte sensibilité du jeune oiseau au chant de son tuteur puisque si on prive le jeune de son tuteur pendant cette période, l'oiseau n'arrivera pas à développer un chant normal.

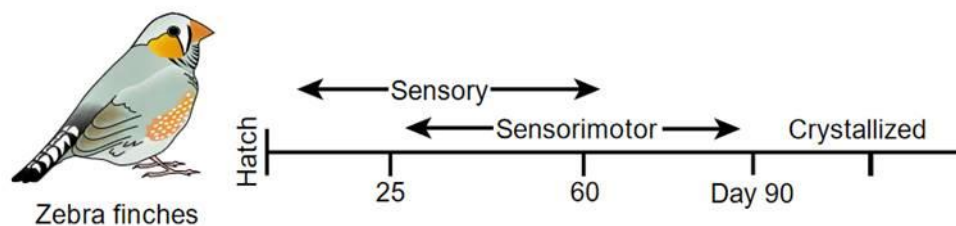


Figure 20: Périodes d'apprentissage du chant du diamant mandarin. Repris de (Brainard & Doupe, 2002).

Le chant d'un oiseau adulte qui a été isolé du tuteur pendant sa période sensorielle est composé de syllabes moins riches acoustiquement, ressemblant à des cris d'appel (Ondracek & Hahnloser, 2013). La période sensorimotrice commence lorsque le jeune oiseau se met à vocaliser en cherchant à imiter le chant du tuteur. Ceci a lieu vers 30 jours après l'éclosion, bien avant la fin de la période sensorielle (voir figure 20). Au début de la période sensorimotrice, les vocalisations produites par le juvénile sont très variables, bruitées, de faible amplitude et peu structurées, cette version du chant est appelée sous-chant ou 'subsong' et est comparable au babillage chez les humains (Ondracek & Hahnloser, 2013). Progressivement, en pratiquant les vocalisations, les syllabes commencent à apparaître. Cette version du chant s'appelle chant plastique ou 'plastic song'. Avec le temps le chant plastique augmente son amplitude, se structure et devient plus semblable au chant du tuteur. Vers la fin de la période sensorimotrice qui se situe à 90 après éclosion, le chant devient stéréotypé et semblable au chant du tuteur. Ce chant est appelé chant cristallisé et il ne change plus tout au long de la vie. Le chant appris par le juvénile n'est pas une copie exacte de celui du tuteur et peut contenir des modifications plus ou moins prononcées. Le cadre théorique actuel concernant l'apprentissage du chant chez le jeune repose sur la notion de correspondance de motif ou 'template matching'. Selon cette théorie, le jeune oiseau mémorise le chant du tuteur pendant la période sensorielle et

durant la période sensorimotrice, le jeune cherche à faire correspondre ses vocalisations avec le motif mémorisé. Le tuteur ne semble plus être important pour la cristallisation du chant plastique à la fin de la phase sensorielle.

### 3.1.3 Plasticité adulte

Bien que le chant cristallisé reste stable tout au long de la vie adulte, cette stabilité nécessite la présence d'un retour auditif. L'oiseau doit s'entendre chanter lui-même. En effet si on enlève chirurgicalement les deux cochlées de la tête de l'oiseau, le chant perd à long terme (1 à 2 mois) sa structure (Nordeen & Nordeen, 1992). La perturbation du retour auditif pendant le chant a aussi permis de mettre en évidence une plasticité du chant chez l'oiseau adulte. En effet, pour certaines syllabes d'un chant on peut mesurer une fréquence fondamentale ou 'pitch' (voir figure 21). Si on considère une syllabe pour laquelle on peut définir une telle fréquence fondamentale alors pour un grand nombre de telles syllabes chantées, la fréquence fondamentale se distribue autour d'une valeur moyenne (voir figure 21,b). Il est alors possible de mettre en place un dispositif qui calcule en temps réel la valeur de la fréquence fondamentale de la syllabe d'intérêt. Si cette valeur est supérieure à la valeur moyenne, le dispositif génère un bruit acoustique perturbant ainsi le retour auditif de l'oiseau pendant son chant. Au bout de quelques jours sous un tel conditionnement, on constate que la moyenne de la distribution de la fréquence fondamentale s'est décalée vers des valeurs plus petites. L'oiseau chante plus de syllabes avec une fréquence fondamentale plus petite et évite de recevoir un retour auditif perturbé (voir figure 21,c). Si on supprime la perturbation du retour auditif, la distribution de la fréquence fondamentale retourne à son état initial (Tumer & Brainard, 2007). D'une façon semblable, on peut définir un élément du motif entre le début d'une syllabe d'intérêt et le début de la syllabe suivante. Un tel élément est alors constitué par la syllabe d'intérêt et le silence qui la sépare de la syllabe suivante. On peut cette fois mettre en place un dispositif qui perturbe le retour auditif en temps réel de manière conditionnelle à la durée de l'élément du motif choisi. Cette fois aussi, l'oiseau modifie la durée de l'élément du motif pour éviter la perturbation du retour auditif. Si la perturbation est supprimée, la durée de l'élément retourne à sa valeur initiale (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013). Ainsi, le chant de l'oiseau adulte présente une plasticité de ses caractéristiques spectrales et temporelles.

Le diamant mandarin peut donc être utilisé comme modèle animal pour l'étude de l'apprentissage par imitation et de l'apprentissage sensorimoteur en général. Par ailleurs, la précision temporelle de l'activation musculaire lors du chant joue un rôle important pour le diamant mandarin. De plus, cette espèce d'oiseaux est capable de modifier les caractéristiques temporelles du chant sous l'effet de perturbations du retour sensoriel. Ceci permet donc d'utiliser ce modèle animal plus spécifiquement pour étudier les aspects temporels de l'apprentissage sensorimoteur.

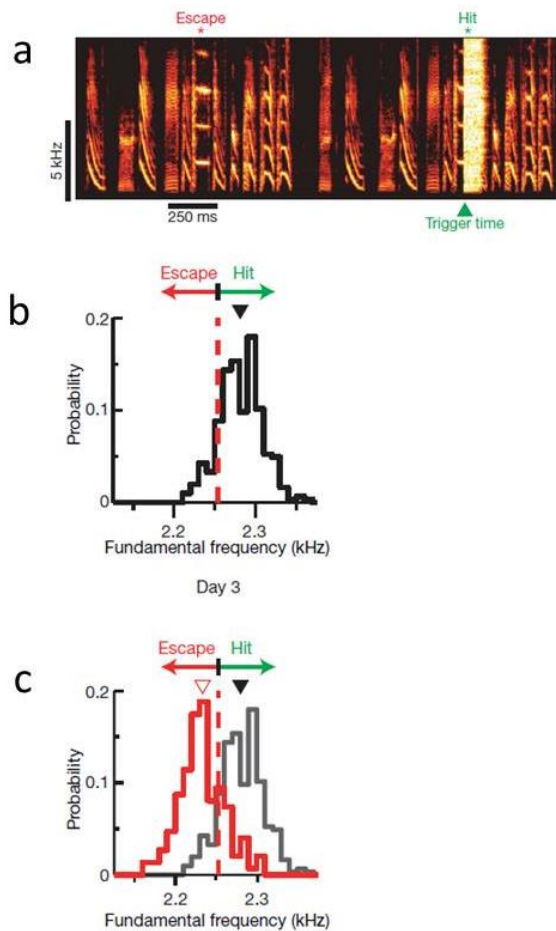


Figure 21: Exemple de plasticité chez l'oiseau adulte. a : illustration de la perturbation du retour auditif en temps réel. La fréquence fondamentale de la syllabe cible (en dessous de Escape) du premier motif chanté est suffisamment basse pour ne pas déclencher la perturbation. Ce n'est pas le cas pour le deuxième motif chanté et la perturbation du retour auditif est visible sur le spectrogramme (en dessous de Hit). b : distribution de la fréquence fondamentale de la syllabe cible pour un grand nombre de réalisations de la syllabe. La ligne rouge indique le seuil au-dessus duquel le retour auditif est perturbé. c : même graphique qu'en b mais avec la distribution (en rouge) après 3 jours de conditionnement. Repris de (Tumer & Brainard, 2007).

## 3.2 Circuit du chant

Un autre avantage du modèle diamant mandarin est que cette espèce d'oiseaux dispose d'un circuit neuronal dédié à l'apprentissage et la production du chant que nous allons découvrir dans cette partie.

### 3.2.1 Anatomie

Le télencéphale des oiseaux est constitué de ganglions de la base et du pallium. Le pallium constitue la partie du cerveau au-dessus des ganglions de la base et est l'analogue du cortex chez les mammifères. Cependant contrairement aux mammifères, le pallium est constitué d'un ensemble d'amas de neurones ou noyaux. Il existe un groupe de noyaux connectés entre eux formant un circuit qui intervient exclusivement dans l'apprentissage et la production du chant. La figure 22 présente un schéma de ce circuit du chant. Une tentative d'établir une analogie avec les mammifères est présentée dans la figure 23 : le noyau HVC est analogue au cortex pré-moteur associé au comportement du chant, RA est analogue au cortex moteur dédié au chant. L'aire X est la partie des ganglions de la base dédiée au chant. De manière intéressante, l'aire X contient entre autres des neurones de type striatal ou Medium Spine Neurons (MSN) et des neurones de type pallidal ou

Pallidal Neurons (PN). Les MSN reçoivent les projections en provenance de HVC et LMAN. Au moins une partie des PN projette vers DLM. Ainsi, l'aire X serait une fusion du striatum et du pallidum relatifs au chant. Les projections de HVC vers RA et l'aire X sont divergentes. En revanche la boucle aire X-DLM-LMAN est homologue à la boucle motrice GB-thalamo-corticale des mammifères et est connectée topographiquement (Fee & Goldberg, 2011) (Luo, Ding, & Perkel, 2001) tout comme le circuit DLM-LMAN-RA (Johnson, Sablan, & Bottjer, 1995). L'aire X reçoit de plus des projections dopaminergiques divergentes en provenance de l'aire ventrale tegmentale (VTA).

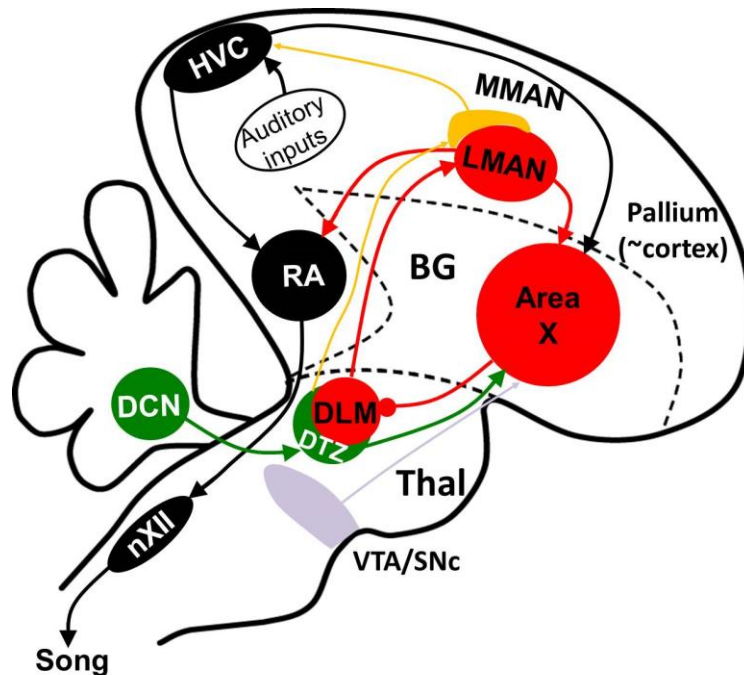


Figure 22: Schéma du circuit du chant. En noir le circuit intervenant pour la production du chant. En rouge le circuit intervenant pour l'apprentissage du chant. En vert le circuit cérébello-thalamique connecté au circuit du chant. BG : ganglions de la base. nXII est le noyau hypoglosse. Voir figure 25 pour un schéma plus complet.

Plusieurs études anatomiques suggèrent l'existence d'une connexion entre le cervelet latéral et le circuit du chant via le thalamus (Vates, Vicario, & Nottebohm, 1997) (Nicholson, Roberts, & Sober, 2018). Récemment, l'existence d'une connexion fonctionnelle entre le DCN latéral du cervelet et l'Aire X via la zone thalamique dorsale (dorsal thalamic zone ou DTZ) a été montrée chez le diamant mandarin (Pidoux, Le Blanc, Levenes, & Leblois, 2018).

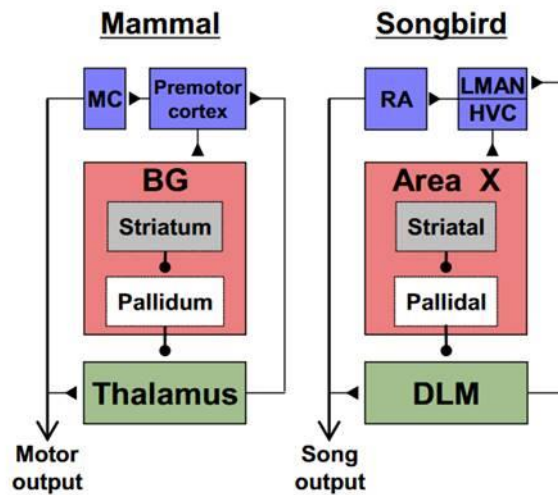


Figure 23: Analogie entre le circuit cortico-thalamo-ganglions de la base des mammifères et du diamant mandarin. Chez les mammifères les ganglions de la base (BG) sont anatomiquement séparés en un Striatum et en un Pallidum. Chez les oiseaux chanteurs, les ganglions de la base relatifs au chant ne sont pas anatomiquement séparés. L'Aire X contient des cellules de type pallidal et des cellules de type striatal (MSN) spatialement mélangées. Image prise de (Fee & Goldberg, 2011).

La figure 24 présente une proposition de numérotation en tenant compte des critères usuels pour de telles numérotations (Nieuwenhuys, 1967) (Voogd & Glickstein, 1998).

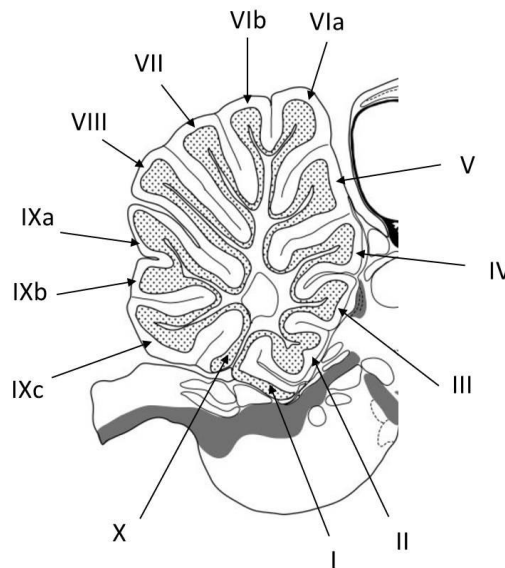


Figure 24: Numérotation des lobules du cervelet du diamant mandarin sur une section sagittale au niveau du plan de symétrie.

### 3.2.2 Physiologie

#### 3.2.2.1 HVC

Le noyau HVC (initialement acronyme de High Vocal Center), est un noyau prémoteur pour le comportement du chant. Ce noyau est entre autres composé de neurones projetant vers RA (HVCra), de neurones projetant vers l'aire X (HVCx) et d'interneurones. Les neurones de projection ne déchargent presque pas en dehors du chant. Pendant le chant un neurone HVCra, décharge une

bouffée de potentiels d'action (typiquement 4-6 potentiels d'action en moins de 10 ms) à un instant très précis du motif et ne décharge pas aux autres instants du motif (Hahnloser, Kozhevnikov, & Fee, 2002). Les neurones HVCx se comportent comme les neurones HVCra mais peuvent décharger à plusieurs instants différents au cours du motif (Kozhevnikov & Fee, 2006). Ce noyau est nécessaire à la production du chant car en le lésant, l'oiseau ne chante plus. Du fait du comportement des neurones HVCra, on considère que le noyau HVC encode le déroulement temporel du chant. En effet, en considérant l'ensemble des neurones HVCra, la connaissance du neurone qui est en train de décharger à un instant donné permet de savoir la phase du motif chanté. Ce rôle de HVC est confirmé par le fait que si on induit un accroissement de la durée d'une partie du chant au moyen d'une perturbation conditionnelle du retour auditif (voir section 3.1.3), l'activité neuronale dans HVC se trouve elle aussi dilatée dans le temps (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013).

Le noyau HVC reçoit également des entrées auditives et présente une réponse sélective aux stimuli auditifs. En effet, la stimulation passive d'un oiseau anesthésié avec son propre chant augmente l'activité neuronale dans ce noyau. Cependant les stimulations par son chant à l'envers ou le chant d'un congénère ne produisent pas de réponses dans HVC (Volman, 1996). De plus, chez certaines espèces d'oiseau chanteur, les neurones HVCx déchargent aussi bien pendant le chant que pendant l'écoute passive du chant propre de l'oiseau (Bird's Own Song ou BOS) et cette décharge se fait pendant la même phase du chant. L'activité pendant le chant des neurones HVCx dans ce cas n'est pas due au retour auditif mais résulte d'une activité collatérale de neurones moteurs de HVC, possiblement des neurones HVCra (Prather, Peters, Nowicki, & Mooney, 2008). Ainsi les neurones de HVCx semblent basculer entre deux modes : le mode moteur pendant le chant actif et le mode sensoriel tout le reste du temps. Les neurones HVCra aussi sont activés pendant l'écoute passive du chant propre mais pas pendant les autres stimuli (Mooney R. , 2000).

Le retour auditif est donc présent dans le noyau prémoteur HVC mais sa fonction n'est pas connue. Le retour auditif pourrait servir à maintenir la stabilité du chant dans le temps. En effet, on constate que si on prive les oiseaux adultes du retour auditif en les rendant sourds, leur chant se dégrade au bout de 8 à 10 semaines (Kojima & Kao, 2013).

#### 3.2.2.2 RA

Le noyau RA (acronyme de Robust nucleus of Arcopallium) est le noyau moteur du chant. Certains neurones de ce noyau déchargent au repos de manière régulière mais lors du chant leur taux de décharge devient fortement modulé (Yu & Margoliash, 1996). Ce type de neurones pourrait correspondre aux neurones projetant directement sur le nerf hypoglosse (nXII). Le rôle moteur de ce noyau se manifeste entre autres par la corrélation entre la variabilité du taux de décharge des neurones de ce noyau et la variabilité de la fréquence fondamentale (pitch) des syllabes (Sober, Wohlgenuth, & Brainard, Central Contributions to Acoustic Variation in Birdsong, 2008). Bien que considéré comme moteur, le noyau RA répond aux stimulations auditives par le propre chant de l'oiseau à l'état anesthésié et cette possibilité est due aux connexions provenant de HVC (Doupe A. , 1991).

#### 3.2.2.3 LMAN

Le noyau LMAN (acronyme de Lateral Magnocellular nucleus of Anterior Nidopallium), est un autre noyau prémoteur pour le comportement du chant. Les neurones de LMAN déchargent de manière irrégulière en produisant des bouffées (bursts) de potentiels d'action. Chez les juvéniles, lors du

chant la fréquence de décharge au sein des bouffées de potentiels d'action augmente par rapport aux périodes sans chant (Ölveczky, Andalman, & Fee, 2005). La fonction de ce noyau semble consister entre autres à introduire de la variabilité dans le noyau RA et ainsi dans le chant. En effet, la lésion ou l'inactivation pharmacologique de ce noyau chez les juvéniles entraîne une baisse de la variabilité des syllabes d'un motif à l'autre (Ölveczky, Andalman, & Fee, 2005) et réduit la variabilité de la décharge neuronale des neurones de RA (Ölveczky, Otchy, Goldberg, Aronov, & Fee, 2009). Plus spécifiquement, la lésion de LMAN réduit la variabilité de la fréquence fondamentale et de la durée des syllabes (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013). La désinhibition de LMAN augmente la fréquence de décharge au sein des bouffées de potentiels d'action, augmente la variabilité de la fréquence fondamentale, de la composition spectrale et de la durée des syllabes et des pauses entre les syllabes (Moorman, Ahn, & Kao, 2021). Au contraire, la stimulation brève de LMAN pendant le chant peut modifier l'amplitude et la fréquence fondamentale de la syllabe chantée au moment de la stimulation (Kao, Doupe, & Brainard, Contributions of an avian basal ganglia–forebrain circuit to real-time modulation of song, 2005), (Giret, Kornfeld, Ganguli, & Hahnloser, 2014).

La variabilité spectrale due à LMAN semble jouer un rôle important dans la plasticité du chant à l'âge adulte présentée dans la section 3.1.3. En effet, la lésion de LMAN empêche complètement les oiseaux de modifier leur fréquence fondamentale sous l'effet de la perturbation du retour auditif mais n'empêche que partiellement la capacité de modifier la durée des éléments du chant (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013). De plus, la lésion de LMAN empêche la dégradation du chant des oiseaux rendus sourds par extraction de la cochlée (Kojima & Kao, 2013).

Chez les oiseaux adultes anesthésiés, les neurones de LMAN répondent aux stimulations auditives par le propre chant de l'oiseau mais pas par le propre chant à l'envers ni par le chant d'un congénère. Chez les juvéniles de 30 jours en revanche, tous les stimuli produisent une augmentation comparable de la décharge de LMAN. La sélectivité au chant propre dans LMAN apparaît au cours de la phase juvénile (Doupe A. , 1997).

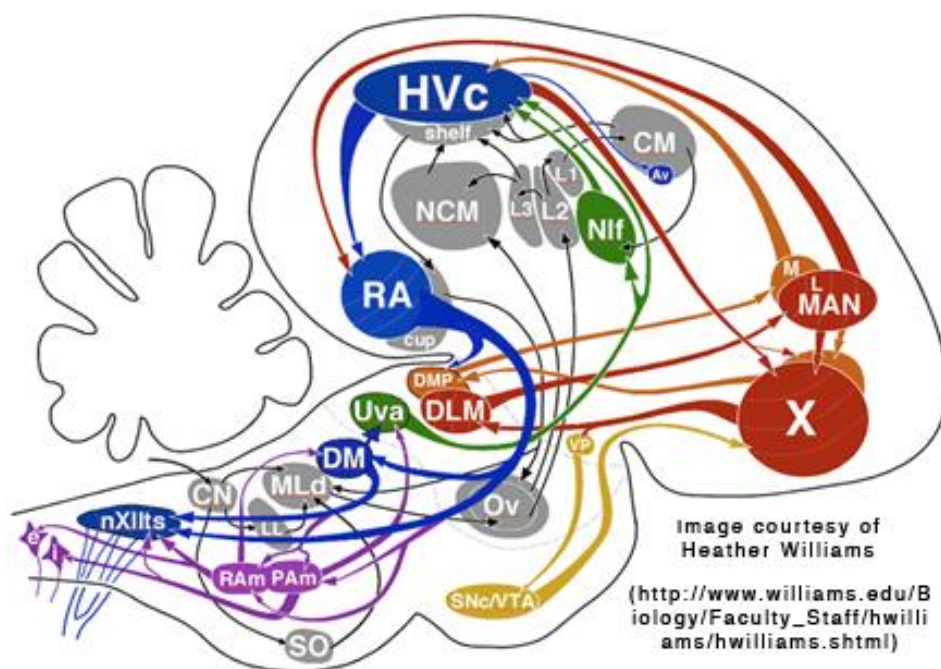


Figure 25: Un schéma plus complet du circuit classique du chant

#### 3.2.2.4 Aire X

L'aire X est une structure importante pour la plasticité spectrale chez l'adulte. En effet, les lésions de l'aire X empêchent complètement les oiseaux de modifier leur fréquence fondamentale et la durée des éléments du chant sous l'effet de la perturbation du retour auditif (présenté dans la section 3.1.3) (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013). Un rôle crucial dans cette plasticité spectrale pourrait résulter des neurones dopaminergiques de VTA projetant vers l'aire X (neurones VTax). En effet, dans un contexte de perturbation probabiliste du retour auditif lors de la production d'une syllabe d'intérêt, les neurones VTax augmentent leur taux de décharge lorsque le retour auditif n'est pas perturbé pendant le chant de la syllabe mais diminuent leur taux de décharge si le retour auditif est perturbé (Gadagkar, Puzerey, Chen, Baird-Daniel, Farhang, & Goldberg, 2016). Ainsi les neurones VTax indiquent dans leur taux de décharge si le retour sensoriel est mieux ou pire qu'attendu. De plus, la destruction spécifique des axones des neurones VTax dans l'aire X empêche la plasticité spectrale sous l'effet de la perturbation du retour auditif (Hisey, Kearney, & Mooney, 2018). En revanche, la stimulation optogénétique des axones des neurones VTax conditionnelle à la valeur de la fréquence fondamentale induit une modification plastique de la fréquence fondamentale comme c'est le cas avec la perturbation du retour auditif (Hisey, Kearney, & Mooney, 2018).

Ces études confirment un modèle d'interaction entre la dopamine et le circuit de l'aire X dans le contexte de la perturbation conditionnelle du retour auditif (Fee & Goldberg, 2011). Dans ce modèle, à un instant donné du chant, les entrées dans l'aire X depuis HVC et LMAN produisent une trace d'éligibilité dans les MSN d'une région restreinte de l'aire X. Si l'activité de LMAN à cet instant du chant déforme la syllabe de manière à ne pas déclencher de perturbation du retour auditif alors l'augmentation de la concentration de dopamine résultante dans l'aire X vient potentialiser les synapses entre les axones provenant de HVC et les MSN contenant la trace d'éligibilité. La prochaine fois que le motif est chanté, l'activité depuis HVC au même instant particulier du chant viendra activer plus fortement les MSN et via les projections topographiques la portion de LMAN qui a permis d'éviter la perturbation du retour auditif. Par ce moyen, LMAN est amené à envoyer le même signal de biais à RA de sorte à éviter plus systématiquement la condition déclenchant la perturbation du retour auditif. Les ganglions de la base relatifs au chant mémoriseront ainsi le signal de biais nécessaire pour éviter la perturbation du retour auditif et augmenter l'entrée de dopamine. Cette mémoire resterait dans l'aire X pendant environ une journée et serait transférée à plus long terme dans RA, au niveau des synapses entre les axones provenant depuis HVC et les neurones de RA (Fee & Goldberg, 2011). Dans ce modèle, LMAN permet d'induire de la variabilité dans le chant et l'aire X permet de sélectionner les variations qui permettent d'augmenter la récompense qui est véhiculée par la dopamine en provenance de la VTA (Andalman & Fee, 2009).

Contrairement à LMAN, chez les oiseaux adultes les neurones de l'aire X répondent aux stimulations auditives par le propre chant de l'oiseau, par le propre chant renversé et par le chant d'un congénère mais la réponse au propre chant est plus forte. Chez les juvéniles de 30 jours en revanche, tous les stimuli produisent une augmentation comparable de la décharge de l'aire X. La sélectivité au chant propre dans l'aire X apparaît au cours de la phase juvénile tout comme pour LMAN (Doupe A. , 1997).

#### 3.2.2.5 Cervelet

Le rôle du cervelet dans le comportement du chant est encore peu connu. Cependant chez plusieurs espèces d'oiseaux (pigeon, hibou et canard), on observe des deflections des potentiels électriques locaux (local field potentials) dans l'hémisphère gauche des lobules VII et VIII du cervelet lors de la



presentation de stimulations acoustiques elementaires (se presentat sous la forme de clicks). Ces reponses aux stimulis auditifs dans les lobules VII et VIII semblent avoir lieu aussi bien dans les regions mediales que laterales. Les lobules III, IV, V et VI cependant reagissent aux stimulations du corps (queue, pattes, ailes, face) (Whitlock, 1952).

Chez le diamant mandarin, il est rapporté que la connectivité fonctionnelle entre la région du chant (NCM) du télencéphale et le cortex du lobule VI du cervelet diminue au cours du développement si l'oiseau est isolé du tuteur. Chez les oiseaux non isolés, la connectivité fonctionnelle entre NCM et le lobule VI augmente légèrement au cours du développement (Layden, Huibo, Schertz, Berman, & London, 2020). Ceci suggère un rôle du cervelet dans l'apprentissage du chant chez le diamant mandarin. Cependant, le cortex cérébelleux n'est pas directement connecté au télencéphale. Une éventuelle connexion passerait par des noyaux intermédiaires dans le tronc cérébral et/ou les DCN. Ainsi l'existence d'une connexion neuronale entre le cortex cérébelleux et NCM devrait se traduire par l'observation d'une connexion fonctionnelle entre NCM et une région du tronc cérébral ou les DCN ce qui n'est pas observé (Layden, Huibo, Schertz, Berman, & London, 2020). Une possibilité serait donc que NCM et le lobule VI ne soient pas connectés mais reçoivent des entrées en provenance d'une source commune qui se situe en dehors de la partie du cerveau utilisée pour mesurer la connectivité fonctionnelle.

Il a été montré dans plusieurs études que les DCN latéraux chez les diamants mandarins projettent de manière disynaptique vers l'Aire X via la région thalamique dorsale DTZ (ou Dorsal Thalamic Zone) (Pidoux, Le Blanc, Levenes, & Leblois, 2018). Il a aussi été observé par imagerie magnétique que la lésion chimique de l'Aire X induit une modification transitoire de la diffusivité du tissu au niveau des DCN et pres des lobules VIb et VII. La variation de la diffusivité est observée deux semaines après la lésion et revient à son niveau d'avant lésion deux mois après la lésion (Hamaide, Lukacova, Van Audekerke, Verhoye, Kubikova, & Van der Linden, 2018). Ceci suggère que la lésion de l'aire X induit un remodelage de la connectivité dans les DCN représentant possiblement un mécanisme de compensation en cours après la lésion. Ceci suggère à son tour que les DCN pourraient jouer un rôle dans le comportement du chant chez l'oiseau adulte. L'étude précédente est complétée par l'observation d'une augmentation de l'expression du réseau perineuronal PNN (ou Perineuronal Nets) et du nombre de cellules exprimant FoxP2 dans les DCN après lésion de l'aire X (Lukacova, Hamaide, Baciak, Van der Linden, & Kubikova, 2022). La protéine FoxP2 intervient dans la plasticité synaptique et le PNN dans la stabilisation des connexions synaptiques. Ceci suggère que la lésion de l'aire X engendrerait un remodelage synaptique dans les DCN et confirmerait l'implication des DCN dans le comportement du chant.

Chez les sturnidés (une espèce d'oiseau chanteur) on observe chez les mâles (chanteur) une plus grande anisotropie fractionnelle dans le lobule VII et une plus grande densité de fibres dans le lobule VIII que chez les femelles (non chanteur) (Orije, Cardon, Hamaide, & Jonckers, 2021). Ceci pourrait être dû au fait que contrairement aux femelles, les mâles produisent des chants et que, comme nous l'avons vu plus haut, les lobules VII et VIII semblent impliqués dans le traitement des entrées auditives (Whitlock, 1952).

Enfin, il a été récemment montré que la lésion des DCN latéraux chez le juvénile au début de la période sensorimotrice entraîne une moins bonne imitation du chant du tuteur dans le chant cristallisé (voir figure 26).

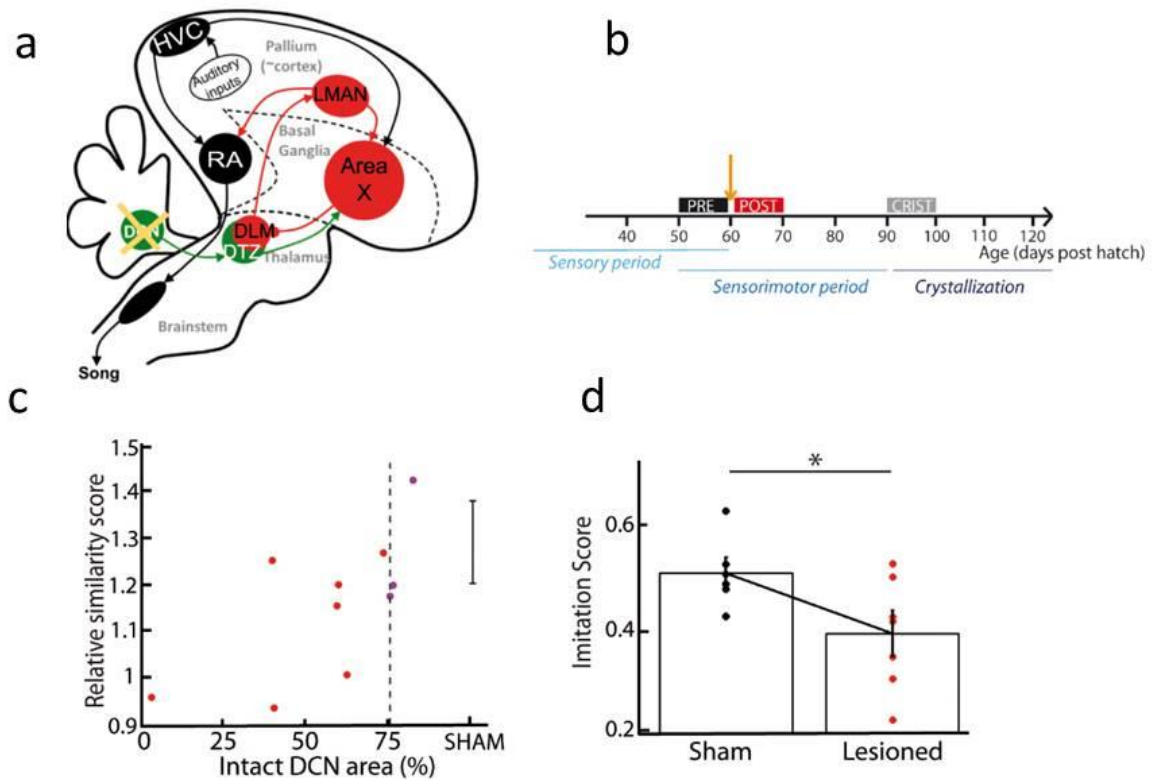


Figure 26: a : lésion bilatérale des DCN latéraux. b : la lésion a été effectuée eu début de la période sensorimotrice. c,d : plus la lésion a été efficace (nombre de neurones détruits), moins le chant cristallisé ressemble au chant du tuteur mesuré par 'Relative similarity score' en c ou par 'Imitation score' en d. Repris de (Pidoux, Le Blanc, Levenes, & Leblois, 2018).

Plus précisément, comme on le voit sur la figure 27a et 27b, la distribution des durées des syllabes est plus fortement modifiée tout de suite après une lésion des DCN qu'après une chirurgie de contrôle. Sur le long terme, la distribution des durées des syllabes évolue très peu depuis la distribution avant lésion. En comparaison, la distribution des durées des syllabes évolue beaucoup plus depuis la distribution avant la chirurgie de contrôle (voir figure 27,c).

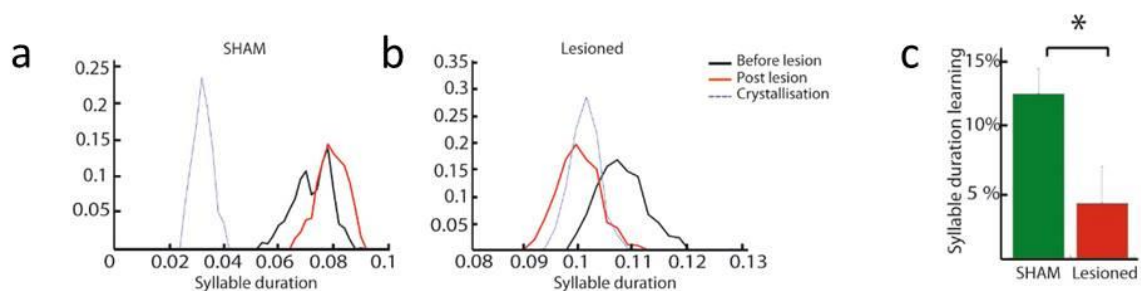


Figure 27: Effet des lésions sur la durée des syllabes du chant appris. a et b : exemples individuels. a : un oiseau contrôlé. La courbe noire représente la distribution des durées des syllabes avant la chirurgie. La courbe rouge représente la distribution tout de suite après la chirurgie. La courbe bleue représente la distribution du chant cristallisé. b : un oiseau lésé. c : données de population. 'Syllable duration learning' quantifie l'apprentissage de la durée des syllabes, c'est la différence entre le changement relatif de la durée des syllabes après cristallisation et le changement relatif de la durée une semaine après la lésion. Repris de (Pidoux, Le Blanc, Levenes, & Leblois, 2018).

## 4 Problématique

L'objectif de la thèse est de clarifier le rôle du cervelet dans la plasticité de la durée des syllabes chez le diamant mandarin, et de déterminer les représentations du chant présentes dans le cervelet.

Pour cela nous avons effectué des enregistrements électrophysiologiques dans le cervelet pendant le chant spontané avec et sans perturbation du retour auditif. L'objectif de la perturbation du retour auditif est de vérifier si le cervelet contient une représentation de la comparaison entre le retour auditif attendu et le retour auditif réel. Les enregistrements électrophysiologiques ont également été effectués lors de la stimulation auditive de l'oiseau pour discriminer entre les éventuelles représentations motrices ou sensorielles.

Nous avons aussi vérifié si le cervelet intervient dans la plasticité des paramètres temporels du chant. Pour cela nous avons testé l'effet des lésions du cervelet latéral sur la plasticité temporelle chez l'oiseau adulte.

Enfin, nous présenterons les réponses des neurones dans HVC et MMAN aux stimulations électriques dans les DCN pour tenter de mettre en évidence une connexion entre le cervelet et le circuit contrôlant le déroulement temporel du chant.

# Article 1

---

## **Representation of song in the lateral cerebellum of zebra finches**

Roman Ursu, Eduarda Centeno, Artur Leblois

To be submitted

## Résumé de l'article

Le cervelet intervient dans la coordination et l'ajustement en temps réel de l'activation musculaire. Pour réaliser ces fonctions, le cervelet réaliserait des prédictions du retour sensoriel à l'aide de modèles internes (Wolpert, Miall, & Kawato, 1998). Le cervelet serait aussi capable de discriminer entre le retour sensoriel attendu et réel pour mettre à jour ces modèles internes. La coordination motrice est d'une grande importance pour l'apprentissage et la production de la parole. Le cervelet semble intervenir dans la production et le traitement de la parole car les humains avec des lésions cérébelleuses ont des difficultés d'élocution (Urban & Marx, 2003) et de compréhension (Ackermann, Gräber, Hertrich, & Daum, 1997) de la parole. L'oiseau chanteur est un modèle animal pour l'apprentissage et la production de vocalisations. Cet animal produit son chant avec une grande précision temporelle et est capable de discriminer des stimuli acoustiques de durées très précises. Cet animal dispose aussi d'un circuit neuronal dédié à l'apprentissage et à la production du chant (Mooney R. , 2009). Les DCN des oiseaux chanteurs se connectent au circuit du chant et la lésion des DCN chez les juvéniles détériore l'apprentissage du chant (Pidoux, Le Blanc, Levenes, & Leblois, 2018). Afin de déterminer quels signaux relatifs au chant sont présent dans le cervelet et comment ils pourraient être utilisés par le cervelet pour participer à la plasticité du chant, nous avons recherché des représentations motrices et/ou sensorielles du chant dans le cervelet. Pour cela nous avons enregistré l'activité neuronale dans le cervelet pendant le chant mais aussi pendant la présentation de stimuli auditifs formés du chant propre de l'oiseau (Bird's Own Song, BOS), du chant propre renversé (rBOS), du chant d'un oiseau conspécifique (OCS) et du bruit blanc (White Noise, WN). Pour chercher une représentation de la différence entre le retour auditif attendu et inattendu nous avons aussi enregistré l'activité pendant des perturbations aléatoires du retour auditif (Distorted Audio Feedback, DAF). Enfin pour mettre en évidence un éventuel contrôle moteur du chant par le cervelet, nous avons recherché des corrélations entre l'activité neuronale et la durée, l'amplitude, la fréquence fondamentale et l'entropie spectrale des syllabes du chant (Sober, Wohlgenuth, & Brainard, 2008).

Nous avons enregistré principalement dans les lobules IV, V et VIb du cervelet (figure 1,a). En effet, chez l'humain le lobule VI s'active pendant la production de la parole et les régions avoisinantes s'activent pendant les stimuli auditifs (Bohlhanda & Guenther, 2006). Les unités enregistrées ont été classées en single unit (SU) et multiple unit (MU). Les SU ont été classées en cellules de Golgi (GoC) potentielles et en cellules de Purkinje (PC) potentielles (figure 1,c,d). En général l'activité neuronale dans le cervelet pendant le chant est plus élevée qu'au repos (figure 1,b).

Nous avons découvert dans le lobule IV du cervelet une représentation motrice du chant. Dans ce lobule des neurones modulent fortement leur activité pendant le chant mais beaucoup moins pendant l'écoute des stimuli auditifs (BOS,rBOS,OCS et WN). Pour un exemple de tel neurone voir la figure 3. L'activité pendant le chant de ce neurone ne semble pas être modulée par le mouvement de l'oiseau (figure supplémentaire 4,a).

Nous avons aussi découvert dans le lobule V une représentation sensorielle du chant. Les neurones y sont fortement modulés pendant la production du chant et pendant la présentation de tous les stimuli auditifs. Un exemple de tel neurone est présenté sur la figure 4. L'activité de ce neurone ne semble pas non plus modulée par le mouvement de l'oiseau (figure supplémentaire 4,b).

La prédominance d'une représentation motrice dans le lobule IV et VIb et d'une représentation sensorielle dans le lobule V est illustrée sur les données de population (figure 5). Contrairement aux noyaux du chant dans le télencéphale, les neurones dans le cervelet ne répondent pas plus aux playback du BOS qu'aux autres stimuli rBOS ou OCS (figure supplémentaire5).

Pour environ 1/7 des sites enregistrés dans le lobule V, les modulations de l'activité pendant le chant sont alignées sur les modulations pendant l'écoute du BOS (figure 6). Ainsi l'activité de certains neurones du lobule V pourrait représenter un traitement des entrées auditives indépendamment du contexte (chant actif ou écoute passive).

Nous avons découvert que les neurones du lobule IV ne sont pas modulés par la présence de DAF confirmant ainsi la nature motrice de la représentation du chant dans ce lobule. Les neurones répondant au DAF se trouvent principalement dans le lobule V. De plus le DAF ne modifie pas l'activité des neurones à son initiation (figure 7,a,c,e,f) alors que les mêmes neurones sont modulés par l'initiation du stimulus passif WN. Ceci montre que les entrées auditives dans le lobule V sont traitées différemment selon le contexte (chant actif ou écoute passive).

Enfin, si les neurones du lobe IV interviennent dans le contrôle moteur du chant, l'activité de ces neurones devrait être corrélée aux paramètres spectraux ou temporels du chant (Sober, Wohlgemuth, & Brainard, 2008). Nous avons effectivement observé une proportion significative de sites dont l'activité neuronale est corrélée à la durée des syllabes du chant et ceci dans les trois lobules (figure 8). Ceci suggère un rôle du cervelet dans le contrôle des propriétés temporelles du chant. Cependant l'activité dans le cervelet est aussi corrélée à la fréquence fondamentale, à l'amplitude et à l'entropie spectrale des syllabes.

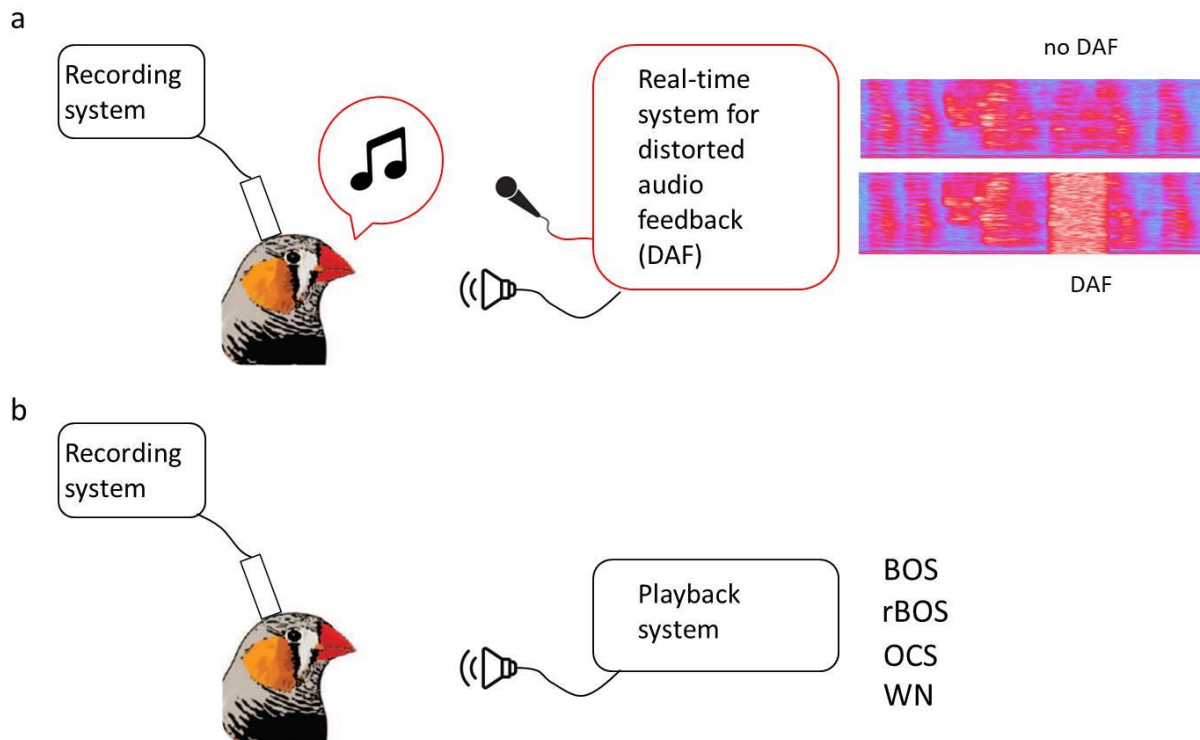
Ce travail en montrant l'existence d'une représentation motrice et sensorielle du chant dans le cervelet pose la question de la fonction de ces représentations.

## Introduction

The cerebellum is besides the basal ganglia and the cortex one of the main structures involved in sensorimotor learning. More precisely, the cerebellum is considered to play a role in real-time correction of movement errors (Becker & Person, 2019), coordination and temporal adjustment of motor actions (Medina & Mauk, 2000). For that the cerebellum is thought to build internal models of the body of the animal and of the environment and to use these models for performing predictions of the sensory consequences of the motor actions (Wolpert, Miall, & Kawato, 1998). In this framework, the cerebellum is also able to discriminate between expected and unexpected sensory feedback in order to update the internal models (Brooks & Cullen, *The Primate Cerebellum Selectively Encodes Unexpected Self-Motion*, 2013). A task in which the motor coordination is important is the speech production and learning. Lesions of the cerebellum degrade speech perception (Ackermann, Gräber, Hertrich, & Daum, 1997) and speech production (Ackermann & Brendel, *Neurobiology of Language*, 2016) and the cerebellum shows increased activity during speech production (Bohlenda & Guenther, 2006). An animal model for speech production and learning is the songbird. Songbirds feature a high temporal precision of the generated song elements of around 5% (Pehlevan, Ali, & Ölveczky, 2018) and are also able to perceptually discriminate such variations (Narula, Herbst, Rychen, & Hahnloser, 2018). The auditory feedback is also crucial for the maintenance of the song through life since deafened birds feature strong song degradation in time (Kojima & Kao, 2013). Moreover songbirds feature a dedicated neuronal circuit for song production and learning (Mooney, 2009). Recently it was shown that an output structure of the cerebellum, the lateral deep cerebellar (DCN) nucleus is functionally connected to the song related basal ganglia nucleus via the thalamus (Pidoux, Le Blanc, Levenes, & Leblois, 2018). Lesions of the lateral DCN in juvenile birds impede the proper learning of the song (Pidoux, Le Blanc, Levenes, & Leblois, 2018). Hence the cerebellum appears to play a role at the juvenile stage for the proper acquisition of the song. To help clarify the role of the cerebellum in songbirds, we investigate whether the cerebellum contains a motor and/or sensory representation of the song during singing and during song playback. We also investigate whether the cerebellum contains a representation of the difference between expected and unexpected auditory feedback. It is also known that the neuronal activity of the motor related song nucleus correlates with the variability of song features (Sober, Wohlgemuth, & Brainard, 2008). To investigate the involvement of the cerebellum in the control of singing behaviour, we correlated the activity in the cerebellum with the temporal and other features of the song.

## Results

To probe the neuronal activity in the cerebellum during singing, we implanted adult zebra finches with motorized micro drives (Fee & Leonardo, 2001). We recorded multiunit or single unit activity during spontaneous singing of the birds. During singing, in order to distinguish a potential representation of the difference between expected and unexpected audio feedback, the birds were subjected to probabilistic Distorted Audio Feedback (DAF) (see figure 28,a). In order to distinguish between a motor related and sensory related activity we also recorded the activity at the same sites during passive audio stimulations of the bird with the Bird's Own Song (BOS), with reversed Bird's Own Song (rBOS), with Other Conspecific Song (OCS) and with the White Noise (WN) (see Materials and Methods for a brief rationale) (see figure 28,b).



**Figure 28: General overview of the experimental procedure to probe the activity in the cerebellum during spontaneous singing.** a: during spontaneous singing a real-time system is triggering a white noise through loud speakers during a particular syllable and in a probabilistic manner thus producing probabilistic Distorted Audio Feedback (DAF). On the right, example spectrograms show a song produced without (upper spectrogram) and with (lower spectrogram) DAF. This should unveil possible modulations in activity due to expected vs unexpected audio feedback. b: when possible, the same neuronal site was recorded while the bird didn't vocalise but was subjected to audio stimulations consisting of Bird's Own Song (BOS), the reversed Bird's Own Song (rBOS), the Other Conspecific Song (OCS) and White Noise (WN)

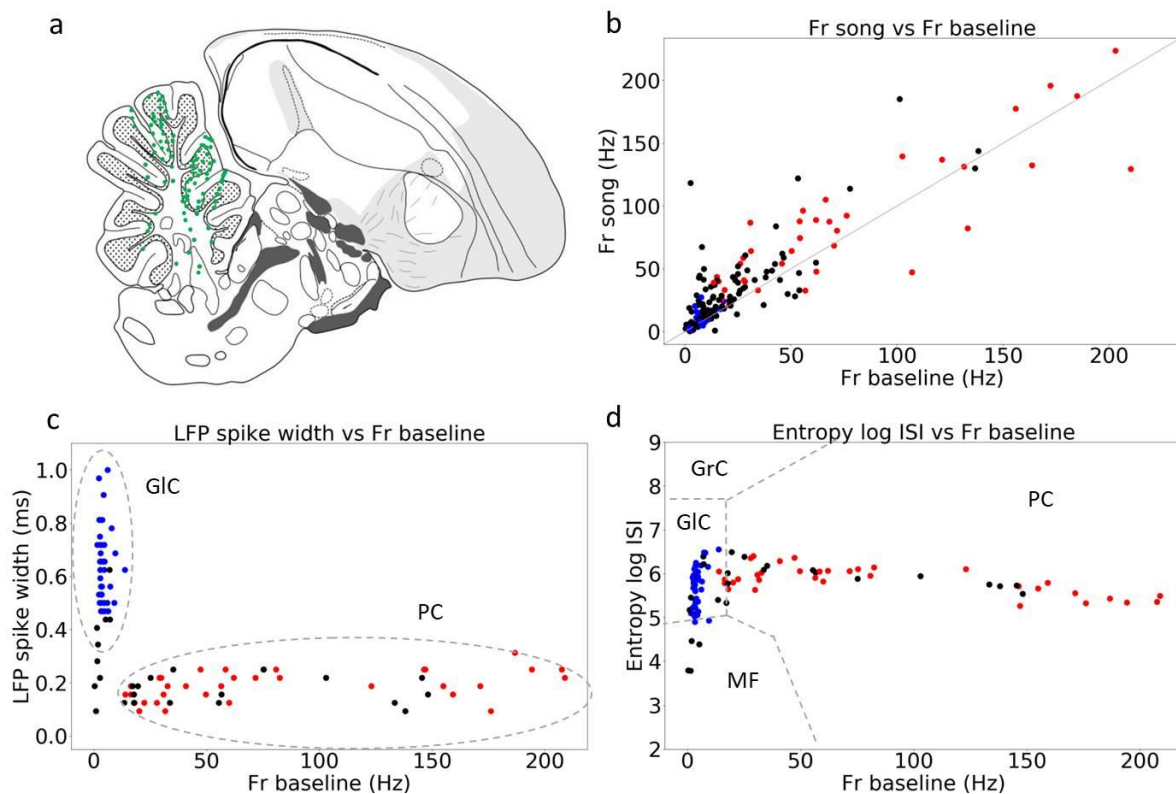
## Classification of cells and units

At first, we sought to classify the recorded units in single units (SU) or multi units (MU) and the SU into the different types of the cells found in the cerebellum. We mostly recorded in lobules IV (n=4birds), V(n=6birds) and VIb(n=3birds) of the cerebellum (see figure 29,a). The recording sites for which the percentage of the Inter Spike Intervals below 1ms is under 2.5% are classified as SU, the others as MU (supplementary figure 1,a). In the lobule IV we recorded 16 Single Unit (SU) and 21 Multi Unit (MU) sites. In the lobules V and VIb we recorded 34 SU/55 MU and 22 SU/55 MU sites respectively. The SNR of the recorded SU was above 5 (supplementary figure 1,b).

We used two measures to classify the SU. The first measure used the classification according to the firing rate at baseline and the spike width (figure 29,c). All SU that were tonically active at rest were classified as Purkinje Cells (PC) if the firing rate at baseline exceeded 12 Hz (Dugué, Tihy, Gourévitch, & Léna, 2017). Since the spike width of GIC is 15-20% larger than those of PC (Vos, Volny-Luraghi, & De Schutter, 1999), the SU with a baseline firing rate below 12 Hz and a spike width above 50% of that of the PC were often classified as GIC (figure 29,c). In some exceptions the cells satisfying the conditions for GIC were classified as unknown if their shape of the ISI distribution was not progressively going to 0 for low values of ISI. The second measure used the classification with respect to the partition of the parameter space made of the entropy of the log of the Interspike Interval and the firing rate during baseline (Van Dijck, et al., 2013). This second type of classification



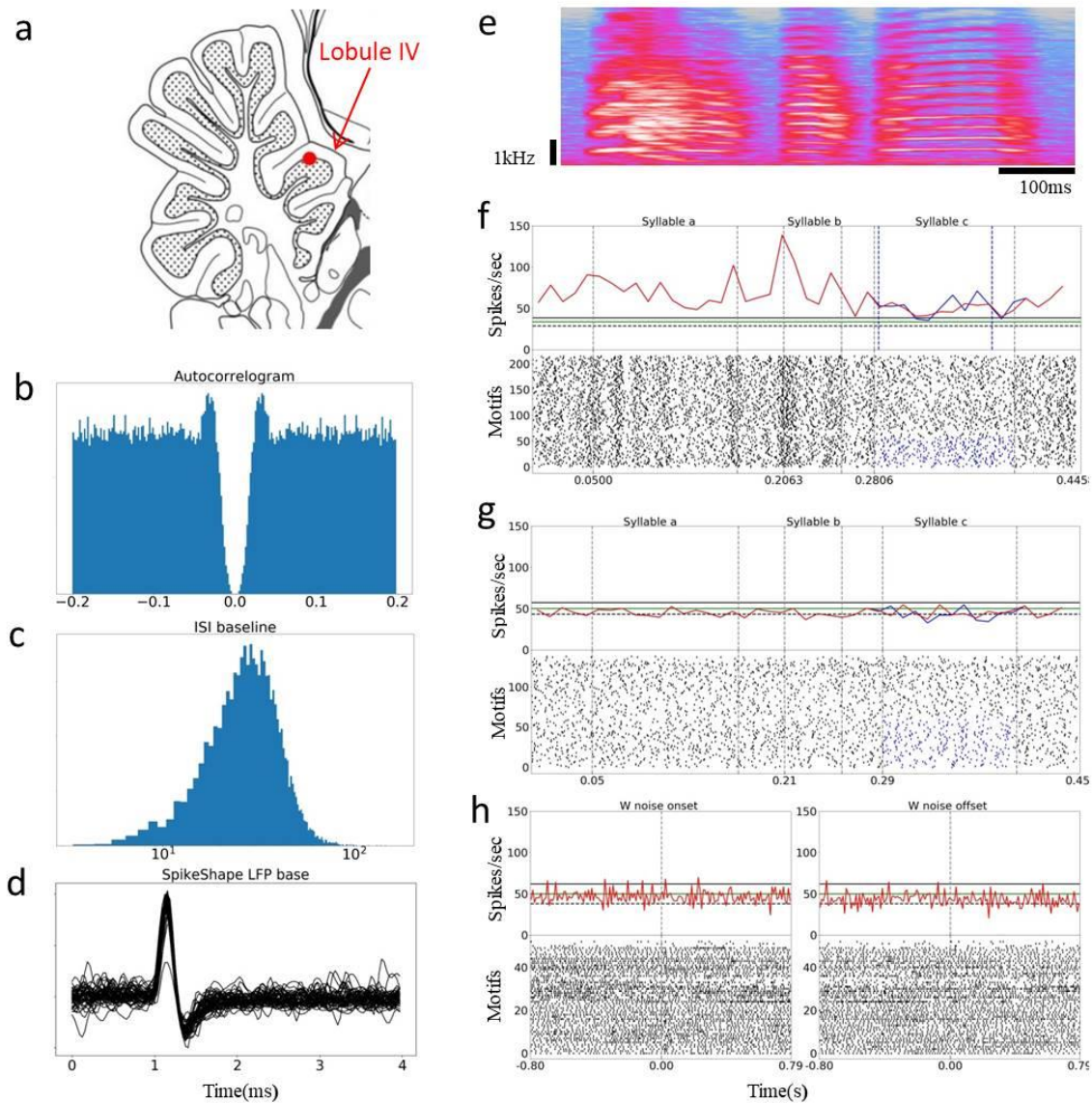
also identified only Golgi interneurons and Purkinje cells (figure 29,d). Thus, we putatively recorded only Golgi cells and Purkinje cells. Overall the neuronal activity during singing was higher than during the baseline period (figure 29,b).



**Figure 29:** In vivo electrophysiological recordings in the avian cerebellum. **a:** Recording sites in the cerebellum (n=12 birds). The recordings were mostly done in lobules IV (n=4birds), V (n=6 birds) and VIb (n=3 birds). **b:** The firing rate of the recordings sites (single unit and multi-unit) during singing is slightly higher than during a quiet baseline period. Blue dots: putative Golgi cells. Red dots: putative Purkinje cells. Black dots: unknown single units or multiunit. In c and d, blue and red dots as in b, black dots: unknown single units. **c:** Single unit classification according to the firing rate during baseline and the spike width of the LFP. **d:** Single unit classification according to the firing rate during baseline and the entropy of the log ISI (Inter Spike Interval) as proposed in (Van Dijk, et al., 2013).

## Motor related activity in the lobule IV and VIb

In order to determine if the cerebellum contains a motor representation of the song, we compared the neuronal activity during singing and during audio stimulations. We observed in lobule IV neuronal activities that were strongly modulated during spontaneous singing than during audio stimulation. An example of such neuronal activity is shown in figure 30 and results in this example from a single unit (figure 30,b,c,d). During singing, the firing rate is strongly modulated (z scored firing rate > 5). However during audio stimulation with BOS, the activity is much less modulated (z scored firing rate < 4) (figure 30,f,g). During stimulation with rBOS, OCS, and WN, the modulation of the neuronal activity is low and comparable to the modulation during BOS (supplementary figure 2,a,b and figure 30,h). Finally, the activity of the neurons is not significantly modulated (z<4) to head or body movements of the bird (see supplementary figure 4,a). This type of neuronal activity that is modulated during spontaneous singing and not during audio stimulation seems to contain a motor representation of the song and was found in lobule IV and more rarely in lobule VIb (figure 32).

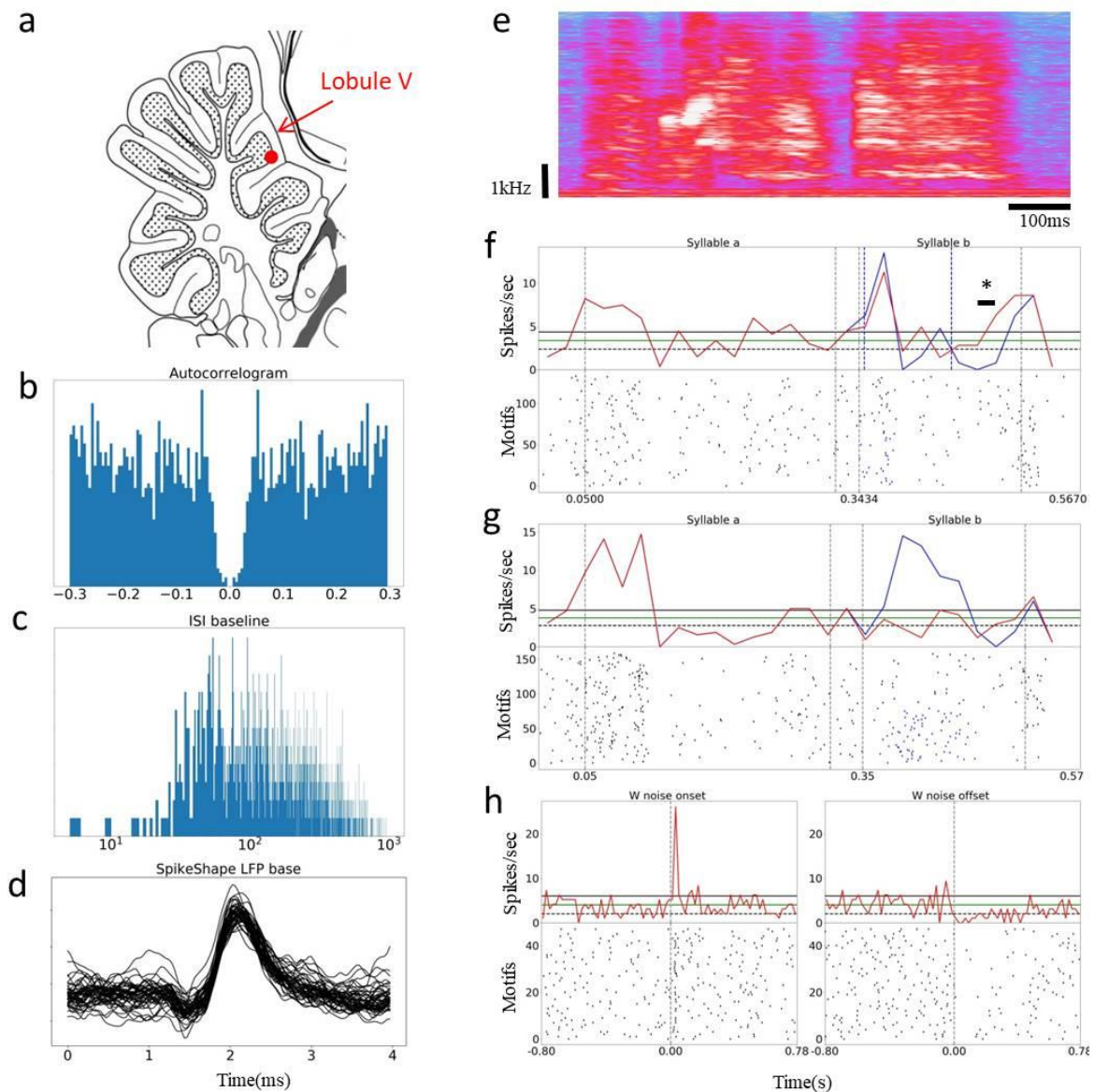


**Figure 30:** Example of motor related activity of a putative Purkinje cell in the lobule IV of the cerebellum. **a:** Location of the example recording. **b,c,d:** Autocorrelogram, Interspike interval and LFP spike shape of the recorded cell. **e:** Spectrogram of a song motif. **f:** Lower part of the plot: raster plot of the neuronal activity during different renditions of the motif. During the singing of syllable 'c', a Distorted Audio Feedback (DAF) is probabilistically produced in form of white noise. The spikes in blue were recorded during the syllable with DAF. Upper part of the plot: average firing rate of the cell during spontaneous singing with (red) and without (blue) DAF. Black horizontal line: mean firing rate of the neuron during baseline. Green horizontal lines: +/- 95% confidence interval. Grey vertical dashed lines: onsets/offsets of motif syllables. Blue vertical dashed lines: onset/offset of white noise during DAF. **g:** Same as **f** but during audio stimulation of the bird with the Bird's Own Song (BOS). The syllable c is played back with (blue) or without probabilistic white noise. The activity of the cell is much less modulated during passive listening to the BOS. **h:** Same as **f** but the audio stimulation is White Noise. On the left plot the noise onset is at time 0. On the right plot the noise offset is at time 0. The activity of the cell is neither modulated to the onset nor the offset of the noise. The activity is neither modulated during rBOS nor OCS (see figure supplement4).

## Sensory related activity in the lobule V

In the lobule V we found neurons featuring similarly strong modulations during singing and during audio stimulation. An example of such neuronal activity is shown in figure 31 and results in this example from a single unit (figure 31,b,c,d). During singing, the firing rate is strongly modulated (z scored firing rate >5). During audio stimulation, the activity was strongly modulated (z scored firing

rate >5) for all types of audio stimuli (figure 31,f for BOS, figure 31,g for WN, supplementary figure 3,a,b for OCS and rBOS). The modulation to WN happened only at the onset and offset of the noise. This suggests that the activity of this neuron could be sensitive to the variation of amplitude of the audio stimulus. This point of view seems supported by the increases in activity at syllable onsets (figure 31,e) during singing but is not supported by the absence of such increase during the onset of the second syllable during BOS stimulation (figure 31,f). Hence, the relationship between the activity and the amplitude of the stimulus could be more complex. For this neuron also, the activity is not significantly modulated to head or body movements (see supplementary figure 4,b). This type of neuronal activity seems to contain a sensory representation of the song and was found mostly in lobule V (see figure 32).



**Figure 31: Example of a neuron modulated during singing and during audio stimulation. The neuron is a putative Golgi cell in the lobule V of the cerebellum. Same legend as in figure 30. f: The DAF produces a statistically significant difference in firing rate during singing (t-test:  $t=-2.83$ ; p value=0.0058). f,g: The neuronal response is also strongly modulated during audio stimulation with BOS, and WN and also rBOS and OCS (figure supplement3).**

To quantify the relative importance of the two types of activities (motor and sensory) in the recorded lobules of the cerebellum, we divided each motif in syllables. We then considered all the pairs made of a recording site and a syllable. Overall we recorded 184 pairs (recording site, syllable) in lobule V, 71 pairs in lobule IV and 356 pairs in lobule VIb (figure 32). In lobule V, 34% of pairs featured a significant modulation ( $z$  score  $>5$ ) during singing of the corresponding syllable and 18% of pairs were significantly modulated during audio stimulation with BOS. In lobule IV, 51% of pairs were significantly modulated during singing and only 1% during audio stimulation with BOS. The lobule VIb shows a similar pattern to lobule IV although less pronounced with 31% of pairs significantly modulated during singing and 2% during audio stimulation with BOS. Finally, the song related nuclei in the avian brain are known to respond selectively to the audio stimuli (Solis & Doupe, 1997). The response to the BOS is usually stronger than to the rBOS or OCS. In our recordings in the cerebellum we didn't find any significant selectivity to the different song stimuli (see supplementary figure 5).

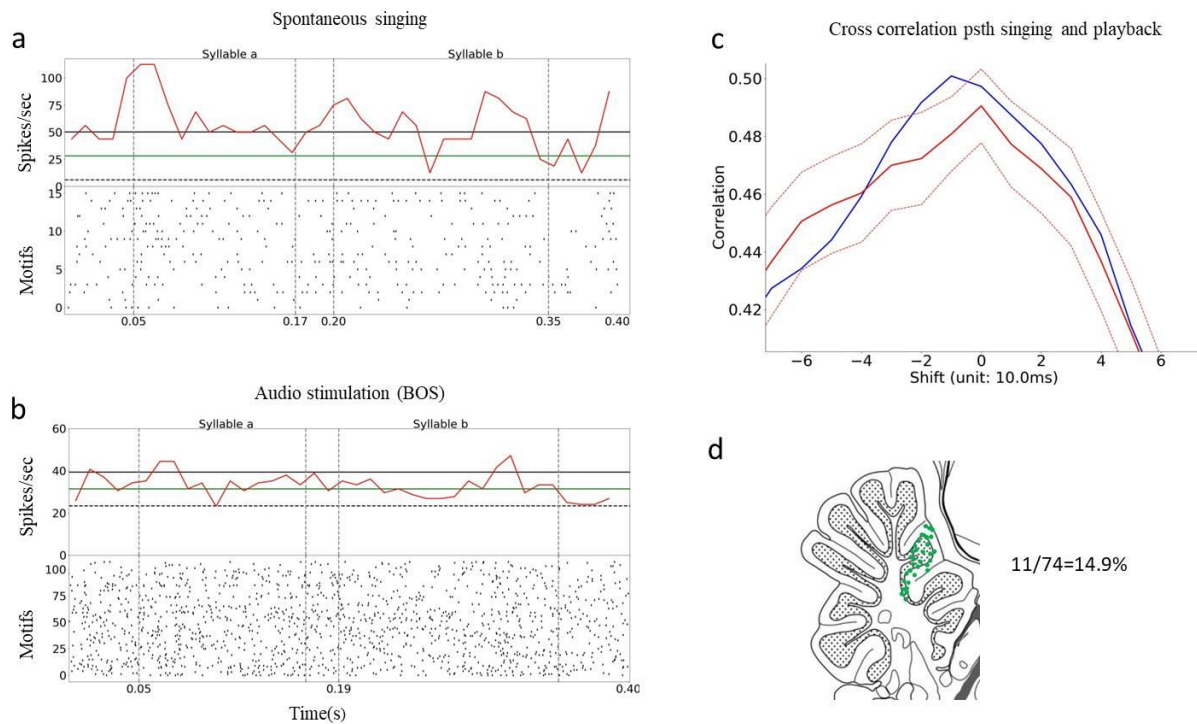
Lobule	V	IV	VIb
Nb pairs(rec_site,syll)	184	71	356
% of pairs with significant modulations (Singing)	34%	51%	31%
% of pairs with significant modulations (BOS)	18%	1%	2%
% of rec_sites with significant modulations (WN)	62%	16%	38%
Nb of PC	3	3	0
% of PC with significant modulation (Singing)	2 (67%)	2 (67%)	0

**Figure 32: Population data for recordings in lobules IV,V,VIb. Neuronal activity in lobule IV and VIb is modulated during singing but almost not modulated during audio stimulation. Neuronal activity in lobule V is modulated during singing and during audio stimulation with BOS. However in contrast to the lobule IV the predominance of the motor activity in lobule VIb compared to the sensory activity is less obvious when inspected visually.**

## Sensory-motor alignment in the lobule V

To investigate whether the activity in the lobule V during singing and during audio stimulation with BOS are similar, we evaluated the alignment between the activities in the two conditions. To quantify the alignment, we computed the cross-correlation between the average activity during singing and the average activity during audio stimulation with BOS. The figure 33 shows an example neuron that is modulated during singing (figure 33,a) and during audio stimulation (figure 33,b) in a similar manner (figure 33,c). We found that the alignment between the psth during singing and during

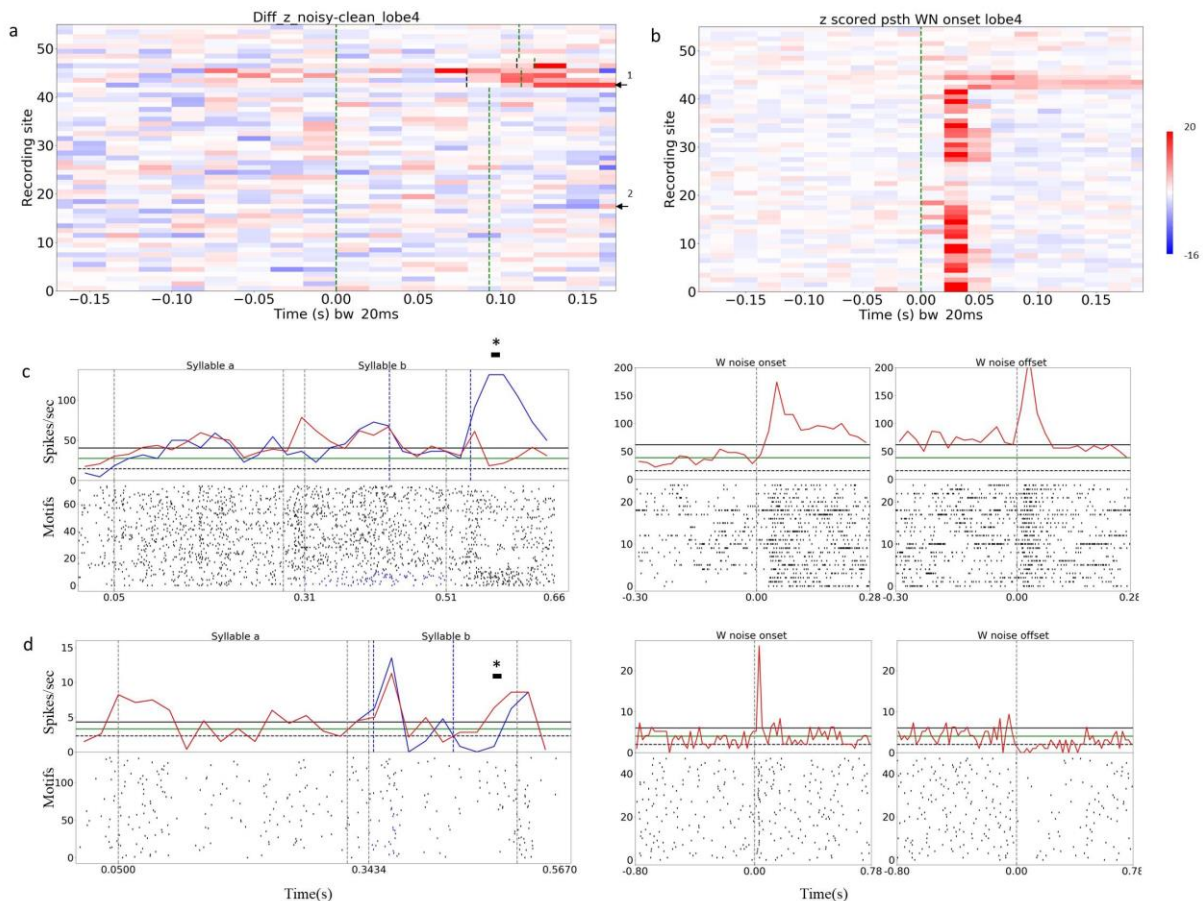
stimulation with BOS was statistically significant in 11 out of 74 recording sites in lobule V and had a temporal shift below 10ms (figure 33,c,d). This alignment means that the modulation of the activity during singing resembles the modulation during passive listening to the BOS. This in turn could mean that the recorded activity in part of the sites in lobule V is purely due to the auditory input independently of the context (active singing or passive listening).



**Figure 33: Alignment of motor and audio related activity in the lobule V of the cerebellum. a: Example psth during singing (top). b: Example psth during audio stimulation (bottom). The activity during singing and audio stimulation (BOS) seems aligned. c: In blue, cross correlation between singing psth and playback psth. In continuous red, mean cross correlation for shuffled data. In dotted red, +/- 2std confidence interval. d: Recording sites in lobule V. 14.9% of recording sites featured significant sensorimotor alignment.**

## Effect of DAF on the neuronal activity

Given that the cerebellum is considered to be involved in the computation of expected sensory feedback and maybe in the discrimination between expected vs unexpected sensory feedback, we compared the psth of the motifs with or without DAF. Since in our data, significant responses to WN onset occur more often in lobule V than in other lobules (see figure 32), we focused on that lobule to investigate the potential capability to discriminate between expected vs unexpected sensory feedback. Interestingly, the same recording sites featuring a significant response to the onset of passive stimulus WN don't respond to the onset of DAF during singing (see figure 34,a,c,d). This shows that the modulations of activity in the lobule V are not simply due to context independent processing of auditory signals. The same audio signal (here white noise) produced in different contexts (passive stimulus WN or DAF during singing) elicits different modulations at the same neuronal site. Figure 34,c shows a rare example of a neuron that is differently modulated by the onset of noise during singing vs passive listening but similarly modulated by the offset of the noise during the same two different contexts.

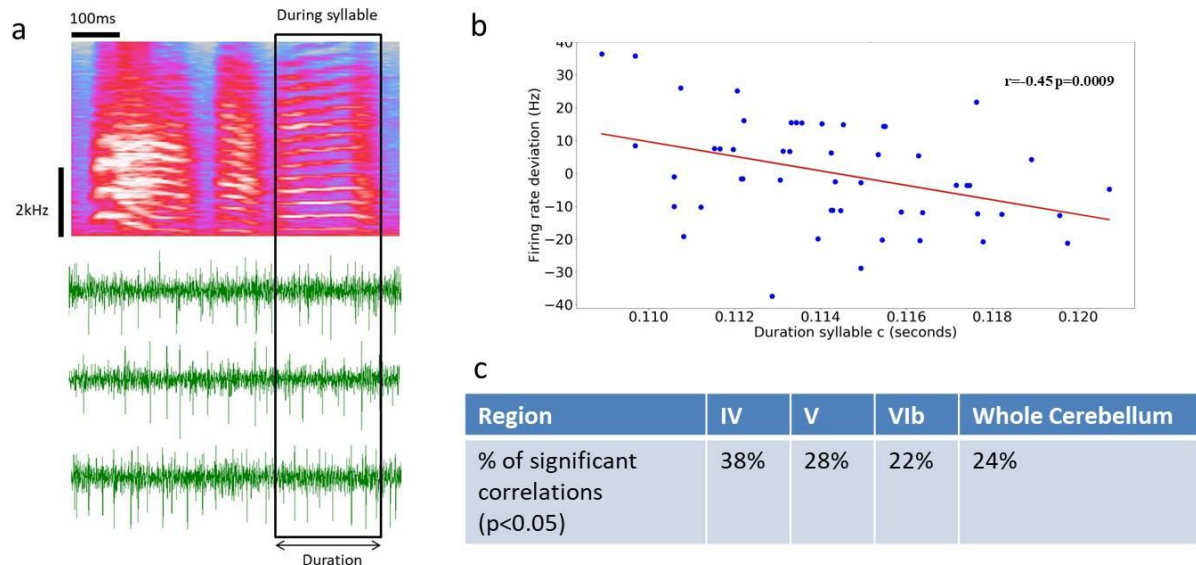


**Figure 34: Effect of DAF on neuronal activity.** a: Each line of the plot represents the z-scored difference between the psth of the motifs with DAF and the psth of the motifs without DAF for a given recording site. The duration of the noise was different for different birds and ranged between 50 ms and 110 ms. The vertical dashed green line represents the onset and offset of the noise during DAF. The vertical black dashed line represents the motif onset and offset. The alignment is done on DAF onset. b: Each line of the plot represents the z-scored psth of the response to the audio stimulation with WN for the same recording site as in a. The dashed green line corresponds to WN onset. The binwidth for the psth is 20ms. The colour code is on the right of c and is limited by +20/-16 z-score. c: Details of the recording represented by 1 in a. In this example neuron, the onset of DAF doesn't modulate the activity as does the onset of WN. The psth shows an increase in neuronal activity straight after the offset of the noise. This modulation of activity can be explained by the modulation to the noise offset. d: Details of the recording represented by 2 in a. In this example neuron, the onset of DAF doesn't modulate the activity as does the onset of WN. However, the offset of DAF produces the same modulation as the offset of WN. The psth shows a decrease in neuronal activity after the offset of the noise. Black bars and asterisk in c and d indicate the time interval during the motif that features a significant difference in activity with vs without DAF (ttest p value<0.05).

## Correlation between neuronal activity and duration of syllables

The sections above show modulations of the activity in the cerebellum during singing and that these modulations are simply due to the sensory processing. If the cerebellum is involved in the motor control of the singing behaviour, then we should observe a correlation between the neuronal activity and the features of the produced song. Given that the cerebellum is considered to play a role in the timing of motor actions, we decided to measure the correlation between the firing rate and the duration of the syllables. We found in our recordings neurons that correlated their firing rate with the duration of the syllables (figure 35,a). In the lobule IV, the proportion of significant correlations amounts to 38% (figure 35,c) and this proportion is unlikely to be found by chance (bootstrap analysis in supplementary figure 6,a). Similarly, we found a high proportion of significant correlations

in the lobules V and VIb (figure 35,c and supplementary figure 6,b,c). Overall we found that 24% of (recording site, syllable) pairs have a significant correlation throughout the cerebellum and that this proportion is unlikely to be found by chance (supplementary figure 7,a). Our analysis also shows a significant proportion of correlations between the firing rate and the pitch, amplitude and the spectral entropy of the syllables (supplementary figure 7,b,c).



**Figure 35: Correlations with duration.** a: Principle of measuring the correlation between the duration of a syllable and the firing rate during the syllable production. Example spectrogram (top) and neuronal firing for 3 renditions of the motif. b: Example of a significant correlation between a multiunit neuronal activity and the syllable duration. c: Proportion of pairs (recording site, syllable) featuring a significant correlation between the firing rate and the syllable duration in different lobules.

## Discussion

In this study, we found that the neuronal activity in the cerebellum of zebra finches is modulated during singing and during audio stimulation. Moreover, the modulation patterns are divided in two categories. The lobule IV features motor related neuronal activities that are modulated during singing but much less during audio stimulation. In contrast the lobule V presents sensory related neuronal activities that are modulated both during singing and audio stimulation. Both types of activity do not seem to be modulated by the movement of the bird. A proportion of recording sites in lobule V features an alignment of the activity during singing and during stimulation with BOS. However, the correlation of the both activities is low which seems to exclude a simple context independent sensory processing role for that lobule. In lobule V, the presence of the DAF during singing modulated less the activity of the neurons than the WN during passive listening. Typically, the onset of DAF didn't increase the firing of the neurons where the onset of WN did. This suggests a complex mechanism of sensory processing in the cerebellum. Finally, the neuronal activity in the cerebellum is significantly correlated with the syllable duration which is consistent with the widespread view for a role of the cerebellum in temporal processing. Interestingly however, the activity in the cerebellum in a premotor window also correlated significantly with the pitch, amplitude and spectral entropy of syllables.

What could be the meaning of the motor activity in the lobule IV of the cerebellum? If this activity reflects a prediction of the expected audio feedback then there must be an input to the cerebellum

from motor nucleus RA or premotor nucleus HVC informing the cerebellum about the ongoing singing. Such connections are not known to our knowledge. A possible experiment is to trace the origin in the pons of the mossy fibres that enter the lateral lobule IV and then to trace the origin of the inputs to that region of the pons. The output of the cerebellum could convey this putative prediction information via the Dorsal Thalamic Zone (DTZ) to palial nucleus MMAN or to the Area X (Nicholson, Roberts, & Samuel, Thalamostriatal and cerebellothalamic pathways in a songbird, the Bengalese finch, 2018), (Pidoux, Le Blanc, Levenes, & Leblois, 2018).

Alternatively, the cerebellum could provide the song nuclei of the telencephalon with signals needed to perform predictions of the sensory feedback. Indeed, some neurons in the telencephalon, namely in field L, are not modulated during singing unless a DAF occurs in which case the activity strongly increases during the DAF (Keller & Hahnloser, 2009). Such neurons could represent the output of a comparator between expected and real audio feedback. However there is no clue how the cerebellum could connect to field L.

Strikingly, we were almost unable to visually detect complex spikes in the recordings of putative PC. Our identification of PC is exclusively based on the presence of tonic firing rate during baseline. We plan to use machine learning tools (like Lussac) for identification of PC. We also didn't have any recording of DCN possibly due to the small dimension of that structure and the use of low impedance electrodes (10M $\Omega$ ). A possibility is to use 20M $\Omega$  electrodes in the future when targeting the DCN. Finally, the trajectory of several of our recording electrodes went through the telencephalic region NCM known to host song and audio responsive neurons. It is therefore not excluded that some of the neurons we think we recorded in the cerebellum could actually have been recorded in the NCM (see Supplementary figure 8). In the future, the recording electrodes should be systematically moved through the cerebellum only.



## Supplementary figures

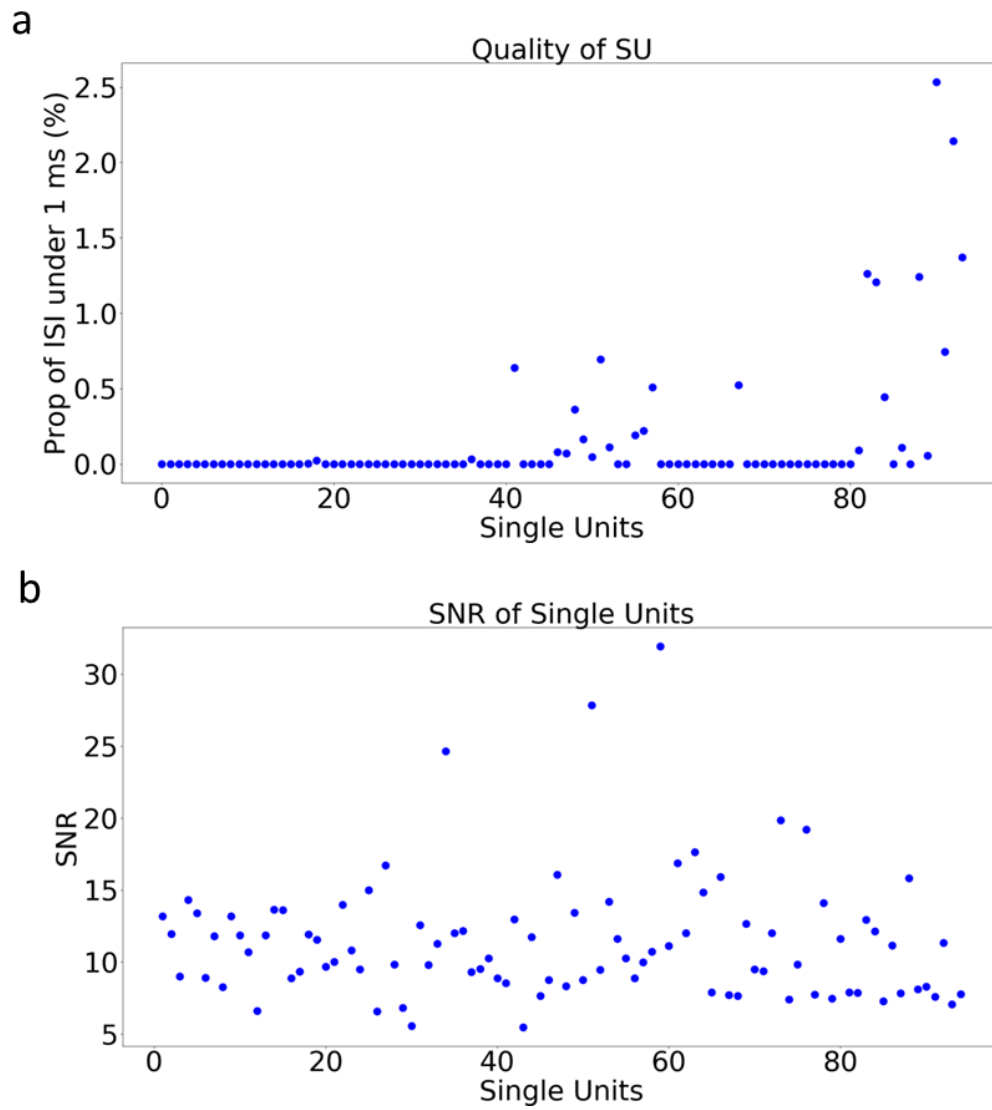


Figure 36: Supplementary figure 1: Single Unit (SU) parameters. a: Each dot represents the proportion of ISI (Inter-Spike Intervals) under 1 ms for a recorded unit classified as SU. b: Each dot represents the SNR of all the units classified as SU.

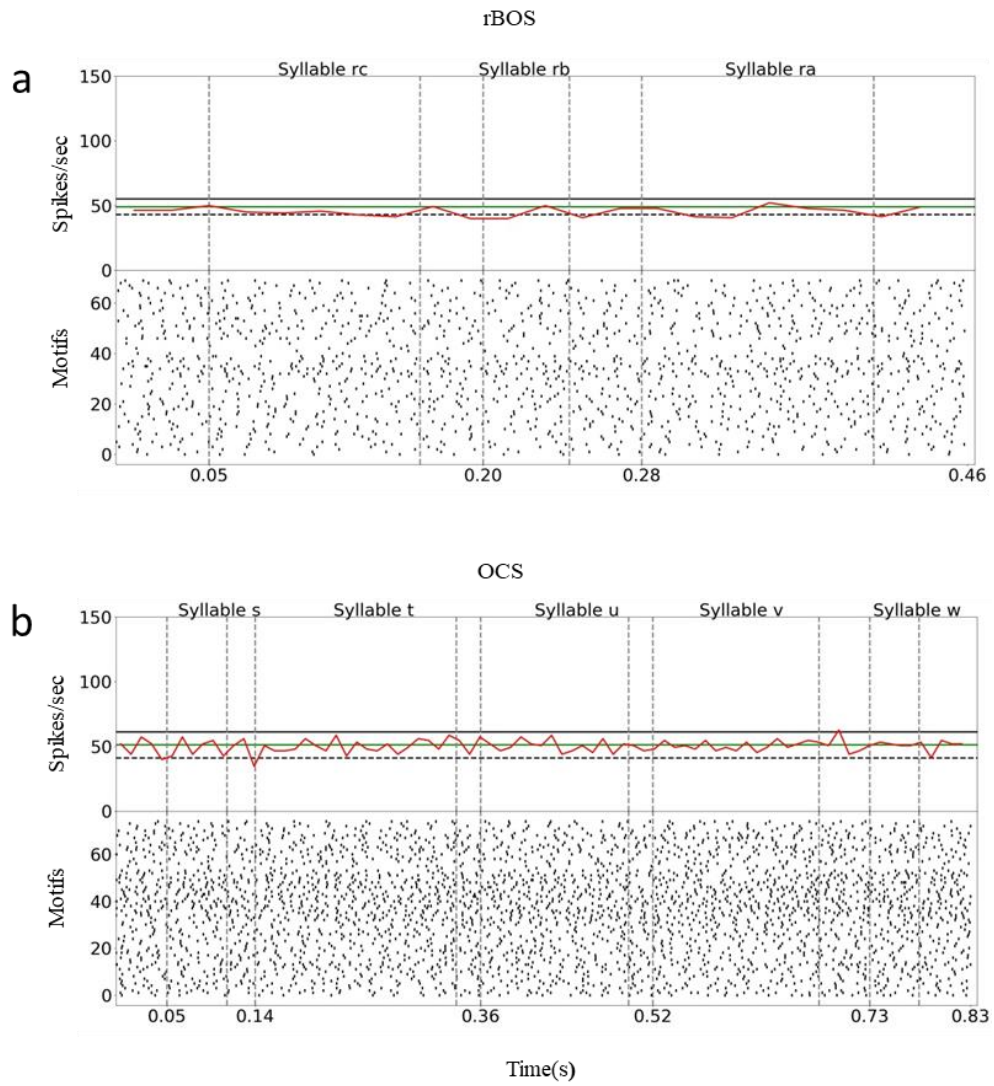


Figure 37: Supplementary figure 2. a: Same neuron and legend as figure 30,g but for rBOS (reversed Bird's Own Song). b: Same neuron and legend as figure 30,g but for OCS (Other Conspecific Song).

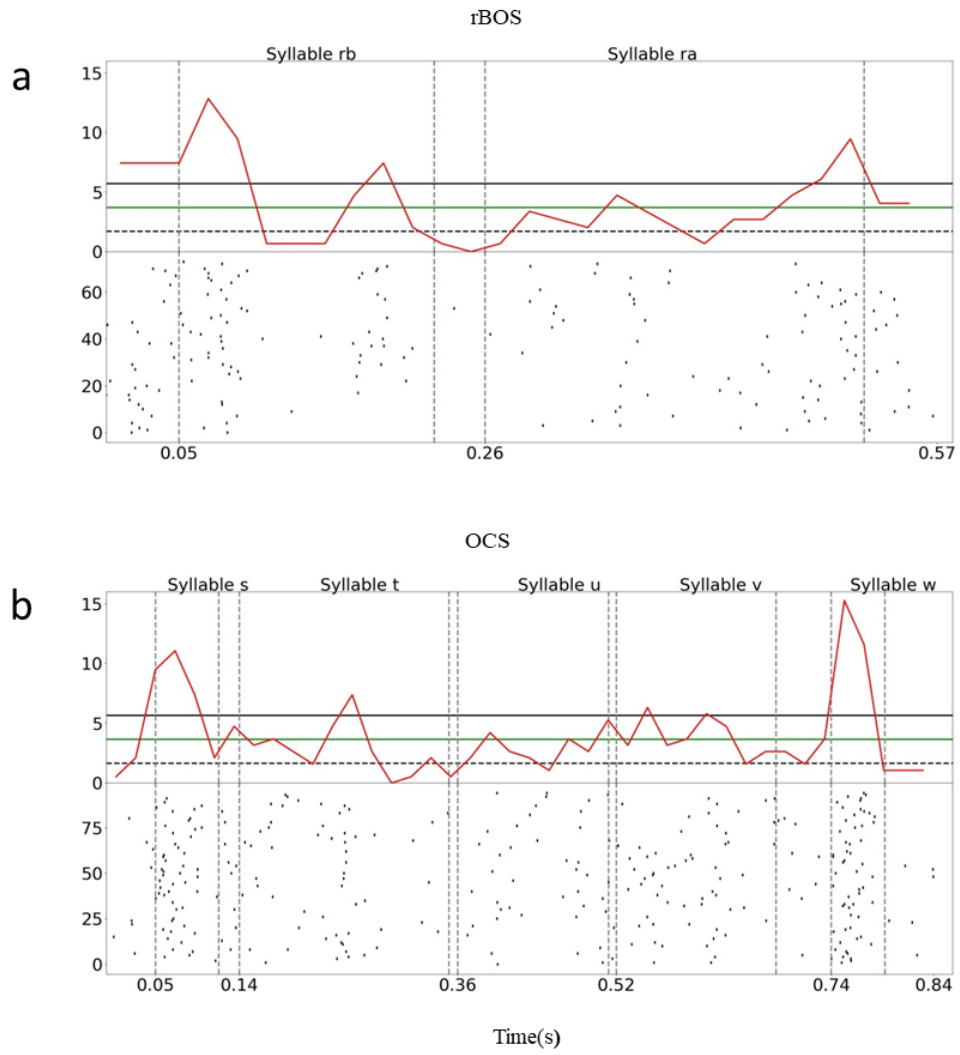


Figure 38: Supplementary figure3. a: Same neuron and legend as figure 31,g but for rBOS (reversed Bird's Own Song). b: Same neuron and legend as figure 31,g but for OCS (Other Conspecific Song).

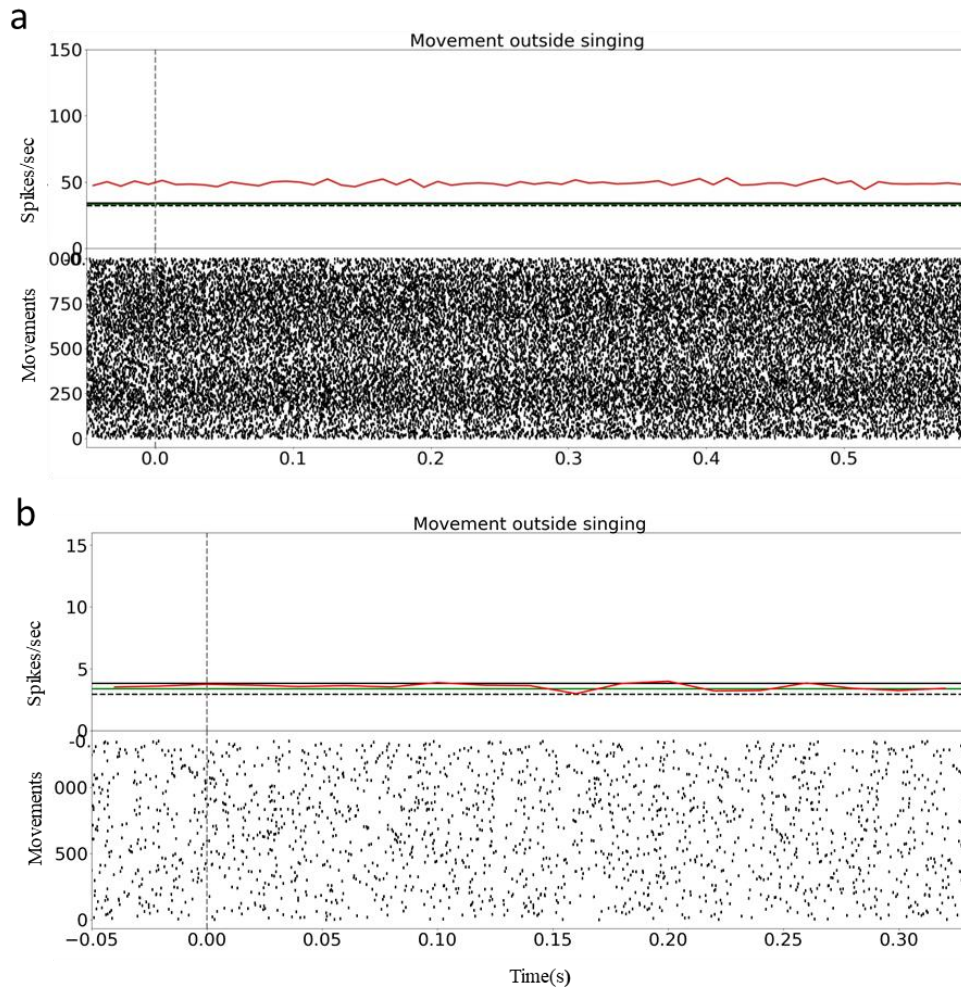


Figure 39: Supplementary figure 4: a: Activity of neuron from figure 30 aligned on movement onset of the bird. Each black dot on the lower part of the figure is a spike. Each line of the raster plot corresponds to a movement of the body or head of the bird. Time 0 corresponds to the onset of the movement. The red curve on the upper part of the plot is the average firing rate b: Activity of neuron from figure 31 aligned on movement onset of the bird.

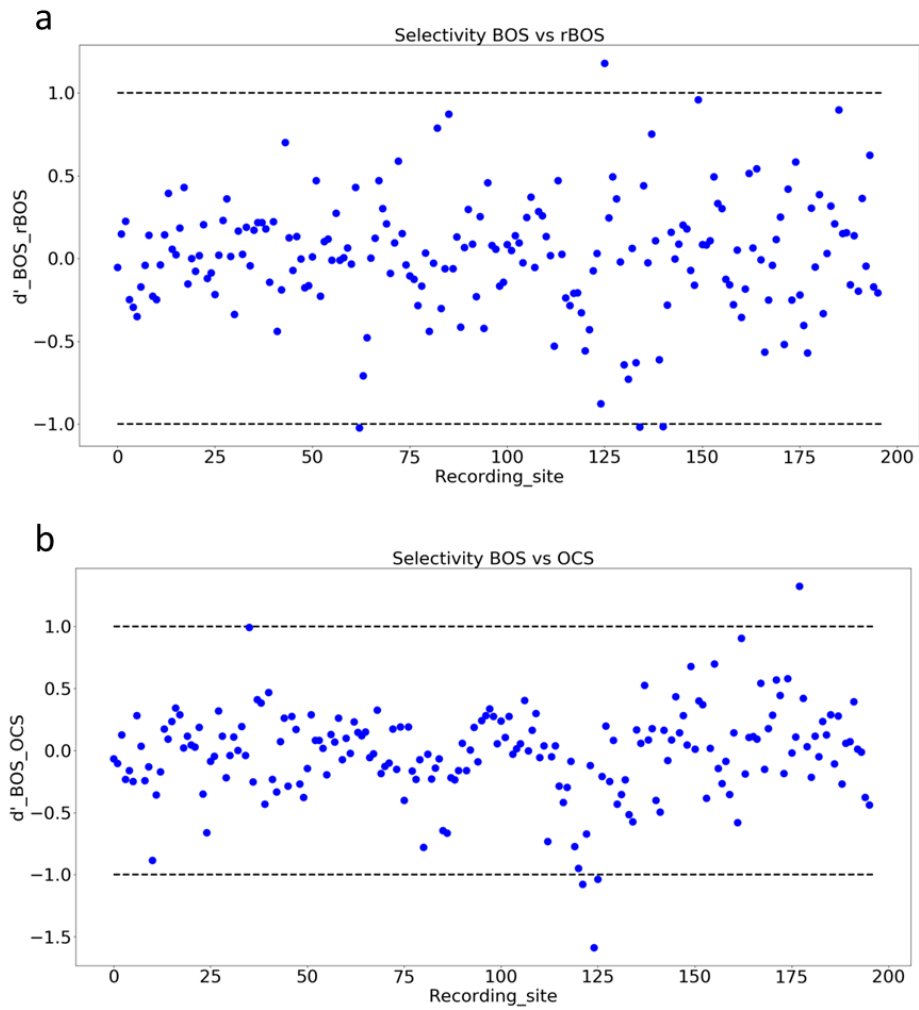


Figure 40: Supplementary figure 5: a: Each dot represents the selectivity of the neuronal activity of the recording sites to BOS vs rBOS stimuli measured by  $d'$ . b: Each dot represents the selectivity of the neuronal activity to BOS vs rBOS stimuli measured by  $d'$ . The measure of selectivity  $d'$  was proposed in (Solis & Doupe, 1997) and is a normalised difference of the mean firing rate during the two types of audio stimuli.

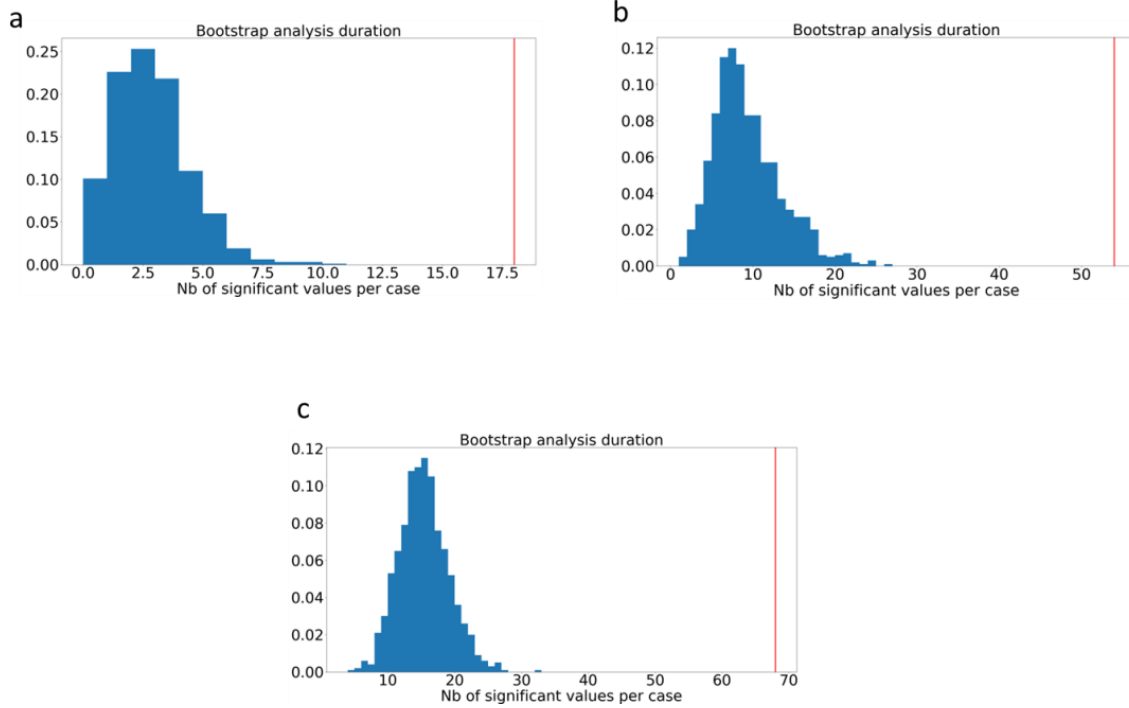


Figure 41: Supplementary figure 6: Correlations bootstrap per lobule. The bootstrap analysis consists in shuffling the correspondence between songs and neuronal activity within each recording site for all the recording sites and computing the correlations. Performing this procedure 1000 times gives a distribution of the number of significant correlations. This distribution is shown in blue in a,b,c. The number of significant correlations found in the real, non-shuffled data set is shown in red. a: Bootstrap analysis for lobule IV. b: Bootstrap analysis for lobule V. c: Bootstrap analysis for lobule VIb

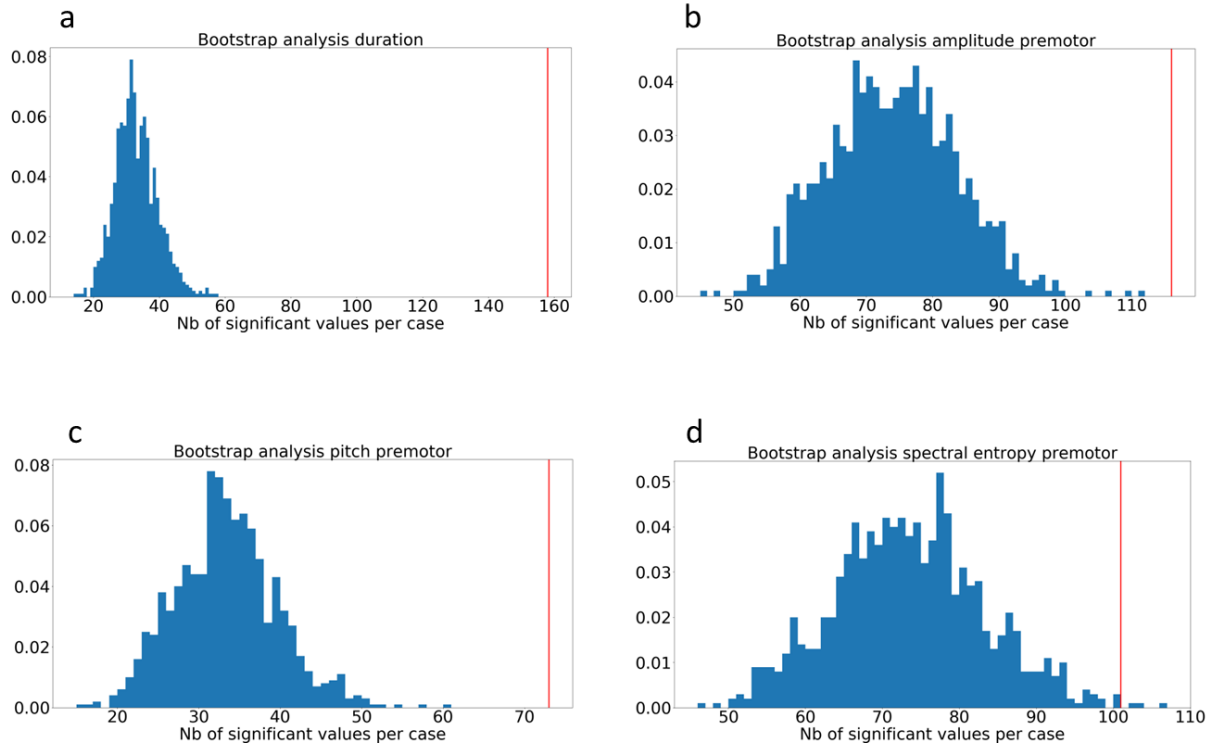


Figure 42: Supplementary figure 7: Correlations bootstrap for duration, pitch premotor, amplitude premotor and spectral entropy premotor. The bootstrap analysis is the same as in supplementary figure 33. a: Bootstrap analysis for the correlation between the duration of a syllable and activity during the syllable. b: Bootstrap analysis for the correlation between the amplitude of a syllable and the activity during a premotor window of the syllable. c: Bootstrap analysis for the correlation between the pitch of a syllable and the activity during a premotor window of the syllable. d: Bootstrap analysis for the correlation between the spectral entropy of a syllable and the activity during a premotor window of the syllable.

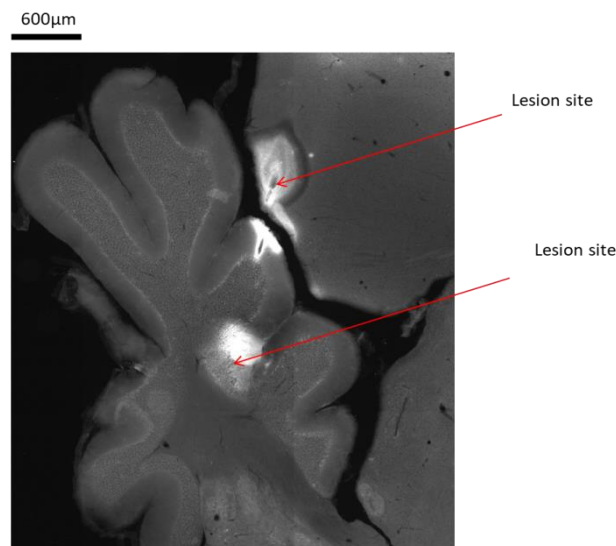


Figure 43: Supplementary figure 8: Lesion of a recorded bird at two different depths. Some recording sites considered to be in the cerebellum could actually be in the telencephalon.

## Materials and Methods

### Animals

All animals used in the experiments were adult zebra finches (*Taeniopygia guttata*) aged >90 days post-hatch. The birds came from our breeding facility or were bought from an external supplier (Oisellerie du Temple, L'Isle d'Abeau, France). The birds had continuous access to water and food (grains) and were housed under natural dark/light conditions.

### Real-time audio feedback perturbation

For the real-time audio feedback perturbation (both for electrophysiological recordings and for plasticity induction), we used the RTX: Real-Time Experimental Interface (Patel, George, Dorval, White, Christini, & Butera, 2018). Briefly, a Digital Acquisition Card PCI-6221 is connected to the motherboard of a desktop computer then the RTX is installed. The RTX installation is documented on ([www.rtxi.org](http://www.rtxi.org)) and consists in the installation of a Linux kernel that is then patched to receive real-time capabilities through the addition of the Xenomai framework. Once the desktop is booted into this new real-time kernel, the RTX software is installed. To perform our real-time task consisting in audio feedback perturbation, we modified the default Data\_Recorder part of the RTX code similarly to (Skocik & Kozhevnikov, 2013) by using and adapting the code provided by the authors of (Skocik & Kozhevnikov, 2013). The code for the real-time audio feedback perturbation consists in computing every ms, the correlation coefficient between a template spectrogram (the template is usually 30 to 50 ms long) and the spectrogram of the lastly recorded piece of audio signal (same duration as the template). If the correlation coefficient is above a threshold value, the target element in the motif is considered to be detected. We used RTX to deliver white noise at a specific time in the motif, usually at the onset of a given syllable. For plasticity induction, we used similar parameters as in the Materials and Methods section of (Ali, Pehlevan, & Burak, 2013).

### Surgery

Before surgery, birds were first food-deprived for 30-40 min, and an analgesic was administered just before starting the surgery (meloxicam, 5 mg/kg). The anaesthesia was then induced with a mixture of air and 4% isoflurane for 1 min then maintained for several minutes at 0.7-1.5% isoflurane to verify that the breathing rhythm is stable. For the implantation surgeries if the breathing rhythm was not stable, the bird was replaced. Birds were then moved to the stereotaxic apparatus and maintained under anaesthesia with 0.7-1.5% isoflurane. Lidocaine (16.22 mg/mL) was applied under the skin before opening the scalp. Small craniotomies were made above the midline reference point, the bifurcation of the midsagittal sinus, and above the structures of interest. Stereotaxic zero in antero-posterior and mediolateral axis was determined by the sinus junction. Usually the cerebellum was accessed using a head angle of 50°. The stereotaxic coordinates used for each brain structure are summed up in Table 1:

**Table 1: Coordinates for stereotaxic surgery**

Structure	Head Angle(°)	Arm Angle(°)	Antero-posterior(mm)	Medio-lateral(mm)	Depth(mm)
DCN	50	0	-1.7/-2/-2.3	1.2-1.3	3
	45	20	0-1	1.2-1.3	4-5



MMAN	50	0	3.8-4.1	0.35-0.5	2.2-2.4
HVC	45	0	0.3	2.2-2.5	0.15

## Electrophysiology

### *Freely moving*

The electrophysiological recordings were performed using either tungsten electrodes (mostly 10M $\Omega$  but sometimes also 20M $\Omega$ ) from FHC or quartz tetrodes (1-2M $\Omega$  type D or 4M $\Omega$  type A) from Thomas Recording. The electrodes were mounted on a motor (Faulhaber type: 0308A003B 125:1 S3) which allowed the insertion of the electrodes into the brain tissue remotely while the bird was singing (similar to (Fee & Leonardo, 2001)). The motor was remotely controlled with an RP Metrix MC2 controller ([www.rpmetrix.com](http://www.rpmetrix.com)). Typically the electrodes were lowered through flexible guidance tubes with a speed of 10 $\mu$ m/sec by steps of 5-10  $\mu$ m until a neuron was found. The neurons were recorded until the bird sung 100-200 songs. If the bird was not singing during long periods, we played the audio stimulation to the bird. Since part of the song system of the zebra finches is selectively responsive to the BOS but not to the Other Conspecific Song (OCS) (Solis & Doupe, 1997) we stimulated the birds with OCS to check if there is a similar selectivity in the cerebellum. To check that the possible responses to BOS are not due to the frequency content of the stimulus, we stimulated the birds with the reversed Bird's Own Song (rBOS). Finally, we also stimulated the birds with White Noise (WN). The different stimuli were organised in a random sequence of BOS, rBOS, OCS and WN with 1-2 seconds between stimuli. We stopped the audio stimulation when the bird resumed spontaneous singing. In many cases the neurons was lost due to movement of the bird (grooming, eating). The Recording was done using 4 channels (either 4 tungsten electrodes or the 4 channels from the tetrode). The electrodes were soldered via silver wires to a PCB attached to the motorised drive and routed via an omnetics connector to a Neuralynx designed head-stage. The head-stage pre-amplified and digitalised the signals. The head-stage was attached via a flex cable to a Neuralynx Saturn commutator or directly to an imetronic commutator ([www.imetronic.com](http://www.imetronic.com)). Finally the signals were processed by the Digital Lynx SX recording system and visualised on Neuralynx Cheetah software. The electrophysiology signals were sampled at 32000 Hz. The lfp (local field potential) signals were band-pass filtered with cut off frequencies at 0.1 and 9000 Hz. The spikes signal was obtained by band pass filtering the lfp signal with cut off frequencies at 200 and 3000 Hz. The audio signal was amplified via the Steinberg UR44 amplifier, digitalised and band pass filtered by the Digital Lynx SX with cut off frequencies at 0.1 and 9000 Hz. During recording, birds were video recorded with a web-cam (WideCam F100) and the videos compressed (MPEG2+MPGA) resulting in .ts files. The movement of the birds was quantified by visually/manually processing the sequence of the difference of consecutive video frames. Sometimes, the implanted drive features a small lateral screw capable of slightly displacing the flexible guidance tubes. This allowed us to change at the end of the day the anterior-posterior location of the insertion of the electrodes for the next day. To confirm the location of the electrodes, we either performed electrical lesions at different depth in case of tungsten electrodes or covered the electrode with a dye (Dil stain) before the implant in case of quartz tetrodes (in order not to damage the quartz electrode that we reused). In case of electrical lesions, after all the possible sites were recorded, we anaesthetised the bird on a surgery table and we passed a DC current of 25  $\mu$ A for 30-60 sec at different depth through one electrode. The location of the lesions or of the dye was then confirmed histologically.

## Histology

For the anatomical tracing protocol and the electrophysiology recordings: Birds were sacrificed with a lethal intraperitoneal injection of Exagon (pentobarbital sodique, 400 mg/mL), perfused intracardially with PBS 0.01M sometimes followed by 4% para-formaldehyde as fixative. The brain was removed, always post-fixed in 4% for 24 hr, and cryoprotected in 30% sucrose. We then cut 50 $\mu$ m thick sections in the parasagittal or horizontal (for cerebellum) plane with a freezing microtome. Slices were mounted with Mowiol (Sigma Aldrich) and observed under an epifluorescence. Images were analysed using ImageJ software (Rasband WS, NIH, Bethesda, Maryland, USA).

For the lesion protocol: birds were perfused and sliced (50 $\mu$ m thick) in a horizontal plane as described above. The slices were Nissl stained to measure the efficacy of the lesion by counting the number of neurons in the lateral DCN using the Mercator software (Explora Nova, La Rochelle, France).

## Data analysis

### *Spikes*

Analyses of recorded neurons were done using Spike2 and Python. Spike sorting was performed with the software Spike2 (CED, UK), using principal components analysis of spike waveforms. Spike train analysis was then performed using Python. We calculated peri-stimulus time histograms (PSTH) of recorded neurons with a bin of 10 or 20 ms. We calculated the mean and the 95% confidence interval of the firing rate over a baseline period. For song related PSTH the baseline period was taken to be a silent and if possibly quiet period (bird not singing and not moving). For audio stimulation related PSTH, the baseline period was made of several intervals in-between the audio stimuli.

### *Songs*

We performed song segmentation into syllables using the supervised machine learning tool hybrid-vocal-classifier or hvc (Nicholson, hybrid-vocal-classifier, 2018). Briefly, raw audio signals were band pass filtered with cut off frequencies at 500 and 8000 Hz. The resulting signal was squared and low-pass filtered with a box car window of 10ms. This gave the envelope of the song signal. The song envelope was segmented by selecting the segments of the envelope that are above a manually selected threshold. The segments of around 100 to 200 motifs were manually labelled and used to train the hvc software (that used the SVM algorithm). The subsequent songs of the same bird were then automatically segmented by the so trained software. The output of the segmentation is a list of onset and offset times of each segment as well as the label of the segment that can be a syllable or a noise. To build the psth during singing we first performed a piece-wise linear Dynamical Time Warping (DTW) on the neuronal recordings. The mean of each syllable and gap was computed and the neuronal activity during each rendition of the syllable or gap was time warped (stretched or squeezed) to the mean duration.

To correlate the neuronal activity with the spectral or temporal features of the song, we computed the deviation of the firing rate from the mean firing rate during a time window. We then computed the deviation from the mean of the spectral or temporal feature of the syllable during another time window. The time window for the song feature was defined by the onset and offset of a syllable sub-

tone or the whole syllable .The time window for the neuronal activity were defined by the onset and offset of a syllable in case of the syllable duration. The time window for the neuronal activity was defined by a 50ms wide premotor window before the syllable onset for the pitch, amplitude and spectral entropy.

The bootstrap analysis consists in shuffling the correspondence between songs and neuronal activity within each recording site for all the recording sites and computing the correlations. Performing this procedure 1000 times gives a distribution of the number of significant correlations. This distribution is shown in blue in Figure 43 a,b,c,d. The number of significant correlations found in the real, non-shuffled data set is shown by the red vertical line on the same figure.

## References

- Ackermann, H., & Brendel, B. (2016). *Neurobiology of Language*. (A. Press, Éd.)
- Ackermann, H., Gräber, S., Hertrich, I., & Daum, I. (1997). Categorical Speech Perception in Cerebellar Disorders.
- Ali, F., Pehlevan, C., & Burak, Y. (2013). The Basal Ganglia Is Necessary for Learning Spectral, but Not Temporal, Features of Birdsong. *Neuron*.
- Becker, M., & Person, A. (2019). Cerebellar Control of Reach Kinematics for Endpoint Precision. *Neuron*.
- Bohlhalla, J., & Guenther, F. (2006). An fMRI investigation of syllable sequence production. *NeuroImage*.
- Brooks, J., & Cullen, K. (2013). The Primate Cerebellum Selectively Encodes Unexpected Self-Motion. *Current Biology*.
- Dugué, G., Tihy, M., Gourévitch, B., & Léna, C. (2017). Cerebellar re-encoding of self-generated head movements. *eLife*.
- Fee, M., & Leonardo, A. (2001). Miniature motorized microdrive and commutator system for chronic neural recording in small animals. *Journal of Neuroscience Methods*.
- Keller, G., & Hahnloser, R. (2009). Neural processing of auditory feedback during vocal practice in a songbird. *Nature*.
- Kojima, S., & Kao, M. (2013). Task-related “cortical” bursting depends critically on basal ganglia input and is linked to vocal plasticity. *PNAS*.
- Medina, J., & Mauk, M. (2000). Computer simulation of cerebellar information processing. *Nature Neuroscience*.
- Mooney, R. (2009). Neural mechanisms for learned birdsong. *Learning & Memory*.
- Narula, G., Herbst, J., Rychen, J., & Hahnloser, R. (2018). Learning auditory discriminations from observation is efficient but less robust than learning from experience. *Nature Communications*.
- Nicholson, D. (2018). *hybrid-vocal-classifier*. Récupéré sur <https://hybrid-vocal-classifier.readthedocs.io/en/latest/>
- Nicholson, D., Roberts, T., & Samuel, S. (2018). Thalamostriatal and cerebellothalamic pathways in a songbird, the Bengalese finch. *Journal of Comparative Neurology*.
- Patel, Y., George, Y., Dorval, A., White, J., Christini, D., & Butera, R. (2018). Hard real-time closed-loop electrophysiology with the Real-Time eXperiment Interface (RTXI). *PLOS Computational Biology*.

- Pehlevan, C., Ali, F., & Ölveczky, B. (2018). Flexibility in motor timing constrains the topology and dynamics of pattern generator circuits. *Nature Communications*.
- Pidoux, L., Le Blanc, P., Levenes, C., & Leblois, A. (2018). A subcortical circuit linking the cerebellum to the basal ganglia engaged in vocal learning. *eLife*.
- Skocik, M., & Kozhevnikov, A. (2013). Real-time system for studies of the effects of acoustic feedback on animal vocalizations. *frontiers in NEURAL CIRCUITS*.
- Sober, S., Wohlgemuth, M., & Brainard, M. (2008). Central Contributions to Acoustic Variation in Birdsong. *The Journal of Neuroscience*.
- Solis, M., & Doupe, A. (1997). Anterior Forebrain Neurons Develop Selectivity by an Intermediate Stage of Birdsong Learning. *The Journal of Neuroscience*.
- Van Dijck, G., Van Hulle, M., Heiney, S., Blazquez, P., Angelaki, D., Arenz, A., et al. (2013). Probabilistic Identification of Cerebellar Cortical Neurones across Species.
- Vos, B., Volny-Luraghi, A., & De Schutter, E. (1999). Cerebellar Golgi cells in the rat: receptive fields and timing of responses to facial stimulation. *European Journal of Neuroscience*.
- Wolpert, D., Miall, C., & Kawato, M. (1998). Internal models in the cerebellum. *Trends in Cognitive Neurosciences*.
- [www.imetronic.com](http://www.imetronic.com). (s.d.). Récupéré sur <https://www.imetronic.com>
- [www.rpmetrix.com](http://www.rpmetrix.com). (s.d.). Récupéré sur <https://www.rpmetrix.com/products/neuraldrive/mc2.php>
- [www.rtxi.org](http://www.rtxi.org). (s.d.). Récupéré sur <http://rtxi.org/install/>

# Article 2

---

## **Different types of temporal plasticity in adult zebrafishes and the effect of lesions of the lateral DCN on that plasticity**

Roman Ursu, Arthur Leblois

To be submitted

## Résumé de l'article

Le cervelet intervient dans le contrôle temporel des actions motrices. Ainsi le cervelet est nécessaire à l'acquisition et l'expression du temps d'activation des muscles dans le conditionnement du clignement de l'œil (Medina & Mauk, 2000). Le cervelet intervient aussi pour un comportement dans lequel les durées jouent un rôle important : la compréhension (Ackermann, Gräber, Hertrich, & Daum, 1997) et la production (De Smet, Baillieux, De Deyn, & Mariën, 2007) de la parole. L'oiseau chanteur est un modèle animal pour l'apprentissage et la production de vocalisations. Ces animaux disposent d'un circuit neuronal dédié au chant (Mooney R., 2009). Une fois appris, le chant reste stable pour la vie mais peut être modifié plastiquement de manière réversible sous l'effet d'une perturbation conditionnelle du retour auditif (CAF). Si la plasticité des propriétés spectrales semble faire intervenir le circuit des ganglions de la base relatif au chant, le circuit responsable de la plasticité des propriétés temporelles reste inconnu (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013). Les DCN latéraux sont connectés au circuit du chant et leur lésion à l'âge juvénile empêche l'apprentissage des propriétés temporelles du chant. Dans ce travail nous avons recherché à confirmer si le cervelet intervient dans la plasticité des propriétés temporelles du chant. Pour cela nous avons lésé les DCN latéraux et comparé la dynamique de la plasticité de la durée des éléments du chant avant et après lésion.

Nous avons découvert que la plasticité de la durée des éléments du chant s'effectue comme combinaison de deux mécanismes. Dans le premier mécanisme, l'oiseau diminue l'amplitude de la partie initiale de la syllabe (figure 46,c). L'oiseau retarde l'initiation de la syllabe mais sans décaler la syllabe toute entière. Dans le deuxième mécanisme, l'oiseau décale dans le temps la syllabe entière (figure 46,a).

Nous avons aussi découvert que la lésion des DCN latéraux n'affecte pas la dynamique d'apprentissage lors de l'induction artificielle de la plasticité. Les lésions ne semblent pas non plus affecter significativement la dynamique de retour de la durée des éléments à leurs valeurs initiales.

## Introduction

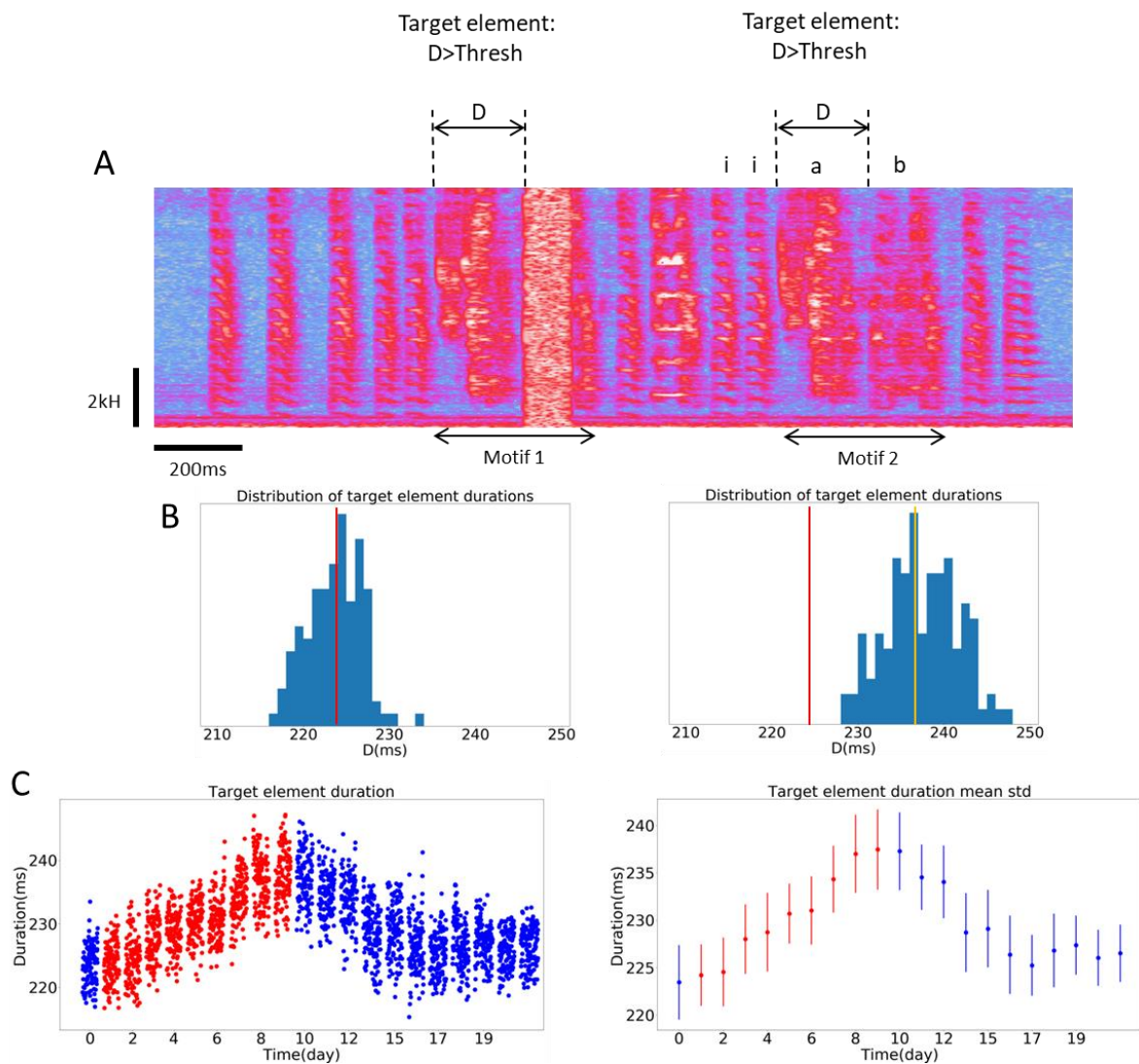
The cerebellum is considered to play a role in learning and controlling the timing of motor actions. For example, the cerebellum is important for acquiring and expressing the right timing of the anticipatory eyelid closure in the context of the eyelid conditioning task (Medina & Mauk, 2000). Inactivating the Deep Cerebellar Nuclei (DCN) of monkeys disrupts the learnt timing of the eye saccades (Kunimatsu, Suzuki, Ohmae, & Tanaka, 2018). The cerebellum seems also to be involved in a motor task in which timing is important, namely the speech perception and production (Ackermann & Brendel, *Neurobiology of Language*, 2016). Patients with cerebellar lesions can present a jerky speech production, difficulties in word generation (De Smet, Baillieux, De Deyn, & Mariën, 2007) and an impaired perception of temporal speech elements (Ackermann, Gräber, Hertrich, & Daum, 1997). fMRI studies also show an increase in activity in lobules VI and VIII of humans during syllable sequence productions (Bohlenda & Guenther, 2006). An interesting animal model for vocalisation production and learning is the songbird (Brainard & Doupe, 2002). Songbirds learn to sing by imitating a tutor in their juvenile stage and also feature a dedicated neuronal circuit for song production and learning (Mooney, 2009). Once learnt, songbirds maintain their song stable throughout life but can progressively change the spectral and temporal features of their song in responses to Conditioned Auditory Feedback (CAF) and return to the baseline after the suppression of CAF (Tumer & Brainard, 2007) (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013). Although it is widely considered that the change of spectral features at adult stage involves the basal ganglia thalamo cortical loop, the structures involved in the change of temporal features are unknown (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013). The lateral deep cerebellar (DCN) nucleus of songbirds is functionally connected to the song related basal ganglia nucleus via the thalamus (Pidoux, Le Blanc, Levenes, & Leblois, 2018). Moreover, lesions of the lateral DCN in juvenile birds at the beginning of their sensorimotor learning period impede the proper learning of the temporal structures of the song (Pidoux, Le Blanc, Levenes, & Leblois, 2018). In this study we investigate whether the DCN play a role in the ability of adult songbirds to change the temporal features of their song. First, we found that songbirds can change the durations of their song elements by a combination of temporal shift and amplitude shaping. Second, lesioning the lateral DCN doesn't seem to affect the ability of the birds to change the temporal features of the song in response to CAF but seems to slow the rate of return to baseline.

## Results

In order to induce a temporal plasticity in the song of adult zebra finches, we set up a real time conditioned audio feedback (CAF) protocol (see materials and methods). In this protocol, a target element in a song motif is defined as a portion of the motif made of a syllable and the subsequent gap. The duration of the target element is thus defined by the onset of a syllable and the onset of the next syllable. Fig. 44 A shows an example of a song with the target element defined by the onset of syllable 'a' and the onset of syllable 'b'. If the duration of the target element is below a threshold, the bird receives a distorted audio feedback (white noise) at the onset of the next syllable. Fig. 44 B left panel shows the initial distribution of the durations of the target element. The red vertical line indicates the threshold for the conditioned output of white noise. Fig. 44 B right panel shows the distribution after several days of CAF. Over time the bird delays the onset of the next syllable which results in a shift in time of the distribution of the durations of the target element. Fig. 44 C shows the



evolution of the duration of the mean and standard deviation of the target element. During CAF in red, the duration increases and after suppression of CAF the duration of the target element returns to baseline.



**Figure 44: Target element duration shift protocol.** A: spectrogram of a song bout made of two motifs. The target element is defined as the syllable 'a' and the gap between that syllable and syllable 'b'. If the duration of the target element  $D$  is below a threshold (Thresh), a Distorted Audio Feedback (DAF) is produced in real time at the onset of the syllable 'b'. B (left): initial distribution of the durations of the target element shown in A. Vertical red line is the mean of the distribution. B (right): final distribution of the durations of the target element. Vertical yellow line is the mean of the distribution and the red line the mean of the initial distribution. C: Evolution of the duration of the target element during and after CAF. The left panel shows the durations of target elements from ~100 consecutive motifs per day. Each dot represents the duration of a target element sung that day. The right panel shows the daily mean and +/- standard deviation of target duration. In blue are represented the days with CAF off, in red the days with CAF on.

In this study we induced a temporal plasticity in ten birds ( $n=10$ ). The evolution of the z-score normalised average of the target duration during CAF is shown in Fig. 45 A. In several cases, the increase in target duration featured a plateau as it is the case of the birds represented by green and grey curves. After the CAF offset, the duration of the target elements returned towards the baseline value as shown in Fig. 45 B. The return to the baseline is however not always complete as is shown by the bird represented by the orange curve.

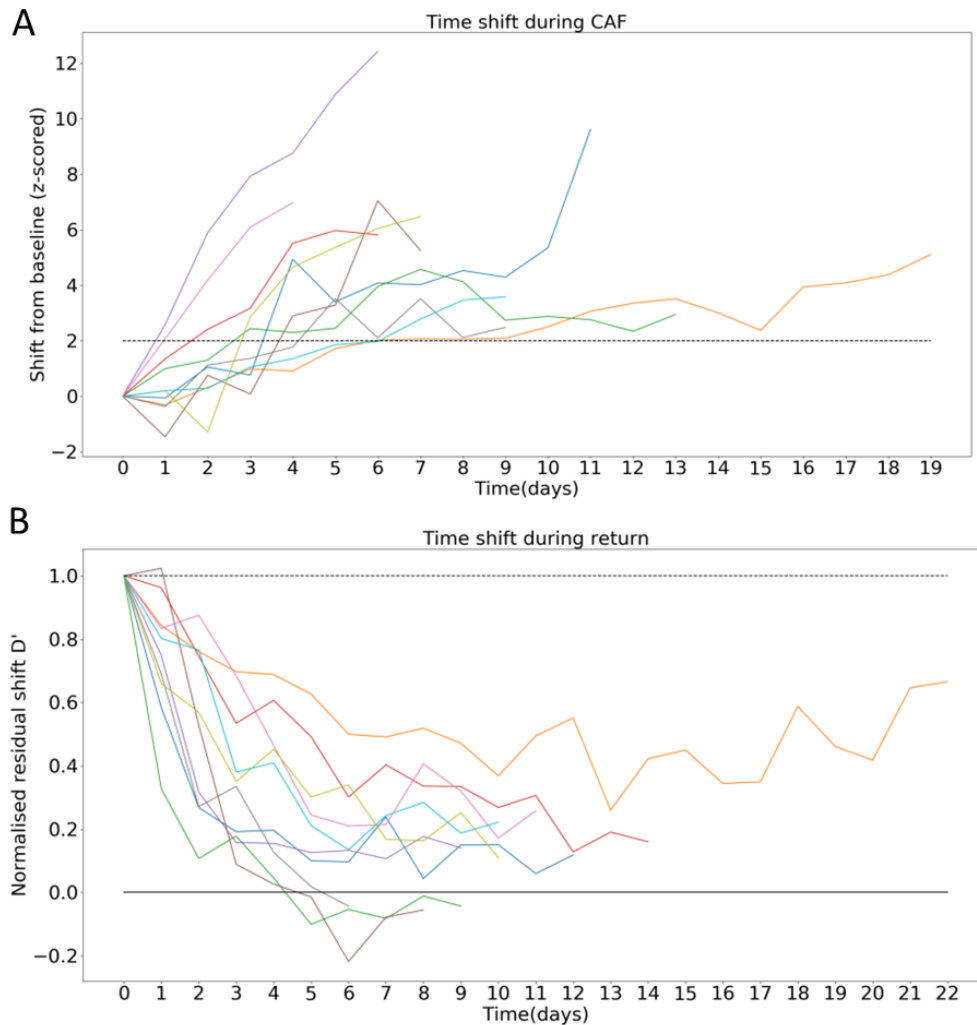
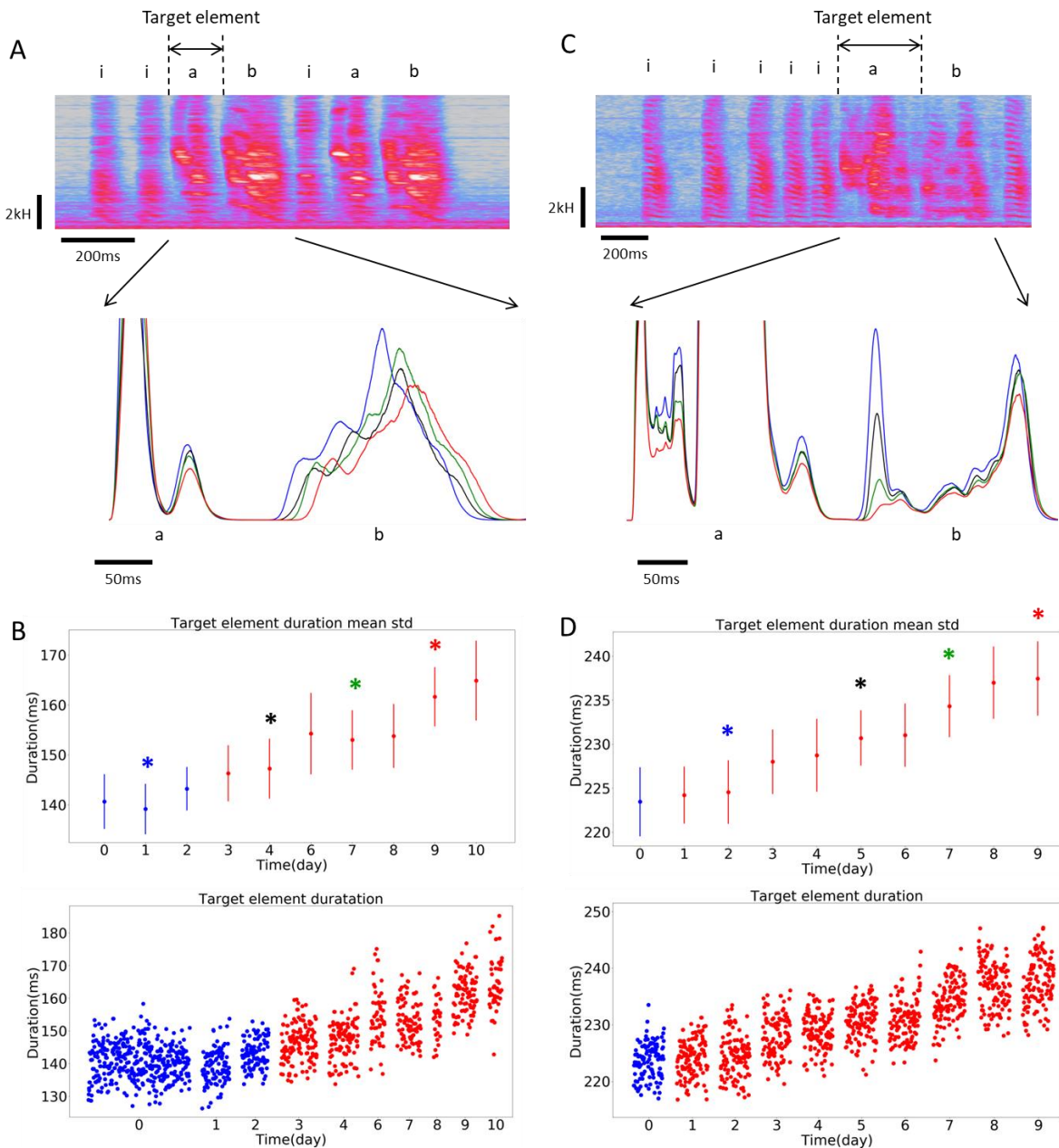


Figure 45: Expression of temporal plasticity in the adult stage. A: increase in the duration of target elements during CAF. The x-axis indicates the duration in days of CAF. The y-axis indicates the z-scored increase in duration of the target element compared to the baseline duration. The dashed horizontal line represents the significance level. B: decrease in the duration of target elements after CAF offset. The x-axis indicates the duration of recovery after CAF offset. Day 0 is the last day of CAF. The y-axis indicates the proportion (Normalised Residual  $D'$ ) of learnt increase in the duration of the target element left after the recovery time.  $D'$  computed as in (Canopoli, Herbst, & Hahnloser, 2014), see Materials and Methods.

## The duration plasticity can happen as a combination of two different strategies

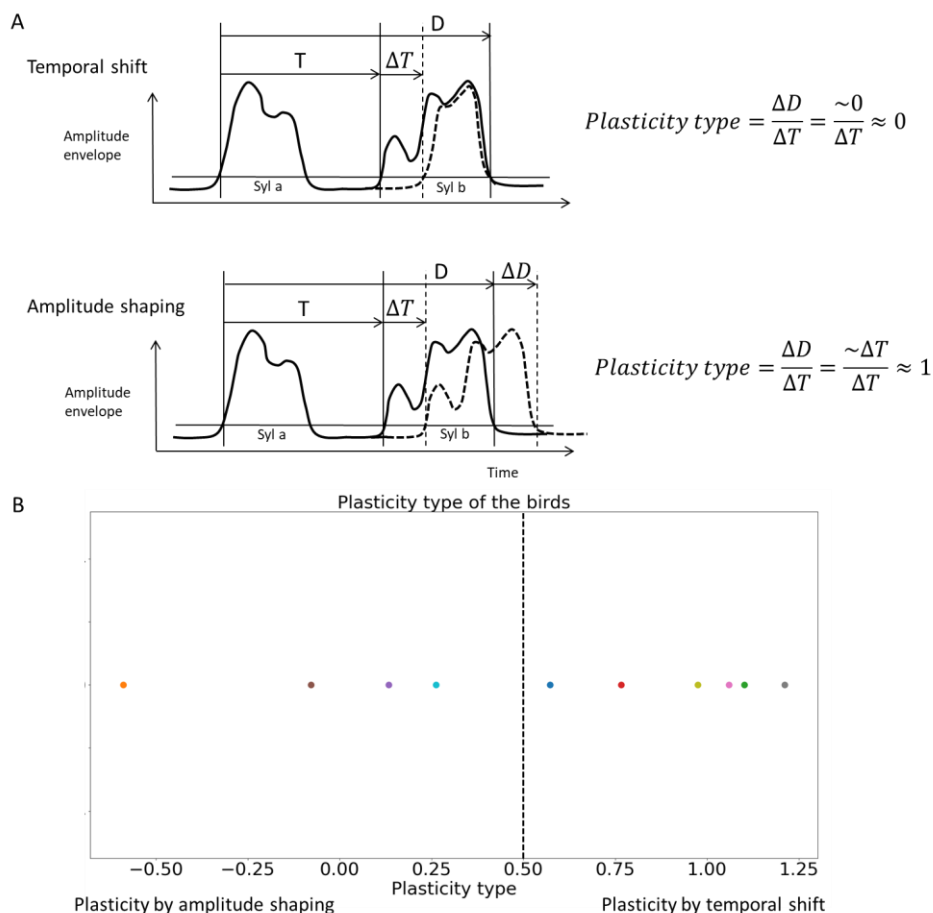
The birds increase the duration of the target element by two different approaches. The first approach termed the temporal shift is shown in Fig. 46 A. The upper panel of the figure shows the spectrogram of a motif with the target element defined by the onset of syllable 'a' and onset of the syllable 'b'. The lower panel shows a superposition of mean amplitude envelopes at different times during the CAF aligned at the onset of the target element. The colour code indicates position during the CAF protocol. The dark red corresponds to the initial days during the CAF. The light red corresponds to the late days of CAF. In the temporal shift approach the target duration increase is due to the shift in time of the next syllable as a whole. The Fig. 46 B has the same meaning as Fig. 44 C and shows the evolution of the duration of the target element during CAF. The black stars indicate

the days used for plotting the mean amplitude envelopes from Fig. 46 A. The second approach termed the amplitude shaping is shown in Fig. 46 C. In this approach, the target duration increase is due to the decrease of the amplitude of the next syllable.



**Figure 46:** Examples of two strategies for change in duration of the target element. **A:** change in duration by temporal plasticity. The spectrogram shows a song bout made of two motifs. The motif is made of two syllables, 'a' and 'b'. The motifs are preceded by one or two introductory notes 'i'. The target element consists of the syllable 'a' and the gap between the syllables 'a' and 'b'. Below the spectrogram, a superposition of 4 smoothed average envelopes of the motif 'ab' during baseline and CAF protocol. Each rendition of the envelope corresponds to the mean envelope of around 100 consecutive motifs recorded around mid-day with the CAF system off. The colour of the envelope corresponds to the position in time. **B upper panel:** Evolution of the duration of the target element during baseline (blue) and CAF (red) for the bird shown in A. Each blue dot represents the mean duration of the target element for ~100 consecutive motifs recorded around mid-day during baseline. Each red dot represents the mean duration of the target element during CAF. Vertical bars represent +/- standard deviation around the mean. The coloured asterisks indicate the days used to plot the coloured smoothed song envelopes in A. **lower panel:** same colour code as in the upper panel. Each dot represents the duration of the target element during a single rendition of the motif. **C:** same as A but for change in duration by amplitude plasticity. **D:** same as B but for change in duration by amplitude plasticity.

To quantify which approach a given bird uses to change its target element duration, we introduce the plasticity type measure. The plasticity type measure is defined as  $\frac{\Delta D}{\Delta T}$ , where  $\Delta T$  is the change in the target element duration and  $\Delta D$  is the change in the duration of the target element and the following syllable. If the duration of the target element increases due to the decrease in the amplitude of the following syllable (i.e. amplitude shaping) then  $\Delta D \approx 0$  and the plasticity type is close to zero. If the duration increases due to the shift in time of the next syllable as a whole then  $\Delta D \approx \Delta T$  and the plasticity type is close to 1. The Fig. 47 A illustrates schematically the plasticity type measure. In this study, the birds expressed the plasticity of the duration of the target elements by using a combination of the two approaches. We set up a criterion to determine which approach predominates. If the plasticity type is above 0.6, the bird is considered to express the plasticity of its target element mostly by temporal shift. If the plasticity type is below 0.4, the bird expresses the plasticity by amplitude shaping. If the plasticity type is between 0.4 and 0.6, the bird expresses the plasticity a comparable amount of both approaches. Fig. 47 B classifies the birds used in this study according to the plasticity type. Among the 10 birds, 5 birds expressed the plasticity using the temporal shift, 4 birds used the amplitude shaping and 1 bird used both approaches (see supplementary figure1 for details of this bird). Among the birds that used the amplitude shaping, one bird presented a strongly negative value ( $\sim -0.5$ ) of the plasticity type. This is due to the fact that in this bird, the whole amplitude of the next syllable decreased during CAF and not only its initial part as in other birds that used the amplitude shaping.

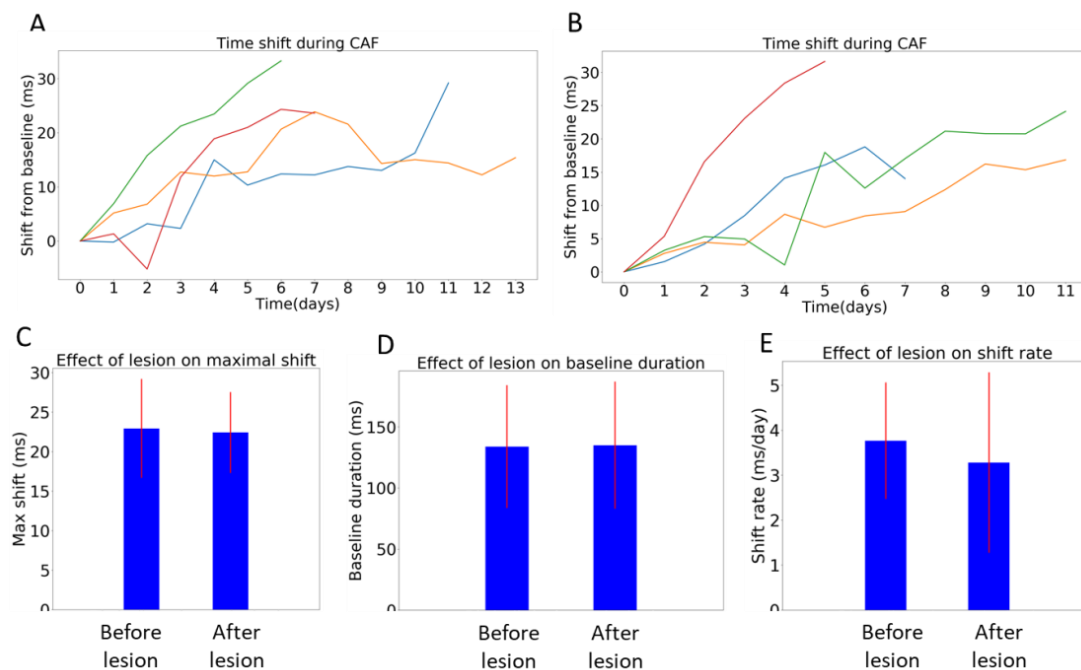


**Figure 47: Measure of plasticity type. A: schematic of the parameters used to determine the shift type. T is the duration of the target element.  $\Delta T$  is the increase in the duration of the target element at the end of CAF. D is the duration of the**

target element and the following syllable.  $\Delta D$  is the increase in the duration of D at the end of CAF. B: classification of the birds according to the shift type. If the shift type is above 0.5, the increase in target duration happens mostly via temporal shift of the next syllable as a whole. If the shift type is below 0.5, the increase in target duration happens mostly via the deformation of the shape of the next syllable.

## The effect of the lesions of the DCN

To investigate whether the lateral cerebellum is involved in the target element plasticity, we set the birds under CAF for several days, and then we turned the CAF off and waited for several days for the birds to return to baseline. We then bilaterally lesioned the lateral Deep Cerebellar Nuclei (DCN) and set the birds (n=4) again under the same CAF protocol. After the lesion, the duration of the target element measured during baseline was similar to the values before the lesion (Fig. 48 D). After the lesion the birds were able to express the plasticity of the target element duration (Fig. 48 A and B) and to increase the duration of the target elements to similar values as before the lesion (Fig. 48 C). The rate of the change of the target element duration during CAF didn't change for our population of four birds (Fig. 48 E). Hence the lesion of the lateral DCN doesn't seem to have an effect on the plasticity of the target element durations during CAF.



**Figure 48:** Effect of lesion on ability to change the duration of the target element during CAF. A: evolution of the duration of the target element before the lesion. B: same as A but after the lesion. C: Maximal increase in duration of the target element at CAF offset for our population of four birds before and after the lesion. The length of the blue bars represents the mean of the maximal shift for the four birds. The red lines indicate +/- std deviation. D: Mean values of the duration of the target elements during baseline before and after lesion for our population of four birds. E: The mean shift rate for our population of four birds. The level of the blue bar represents the mean rate of increase for our population of four birds. The red lines indicate the +/- std deviation.

In contrast, the lesion of the lateral DCN seems to slow the rate of return of the target element durations to baseline after CAF offset as shown in Fig. 49 A and B. To quantify the difference in return dynamics we fitted the return curves with Gaussian functions. We then compared the return rates and the recovered duration before and after the lesion for our population of four birds. The return rates were slower (although not significantly) after the lesion (Fig. 49 D). The birds also recovered to

longer (but not significantly) durations after the lesion than before. Hence, the lesion of the lateral DCN seems to slow the return of the target element durations to their baseline values. The lesion also seems to prevent a complete recovery. We quantified the efficacy of the lesion by estimating or counting the number of neurons in the lateral DCN left after the lesion. We found no relation between the lesion efficacy and the difference in shift rate or return rate before and after the lesion (see supplementary figure 2).

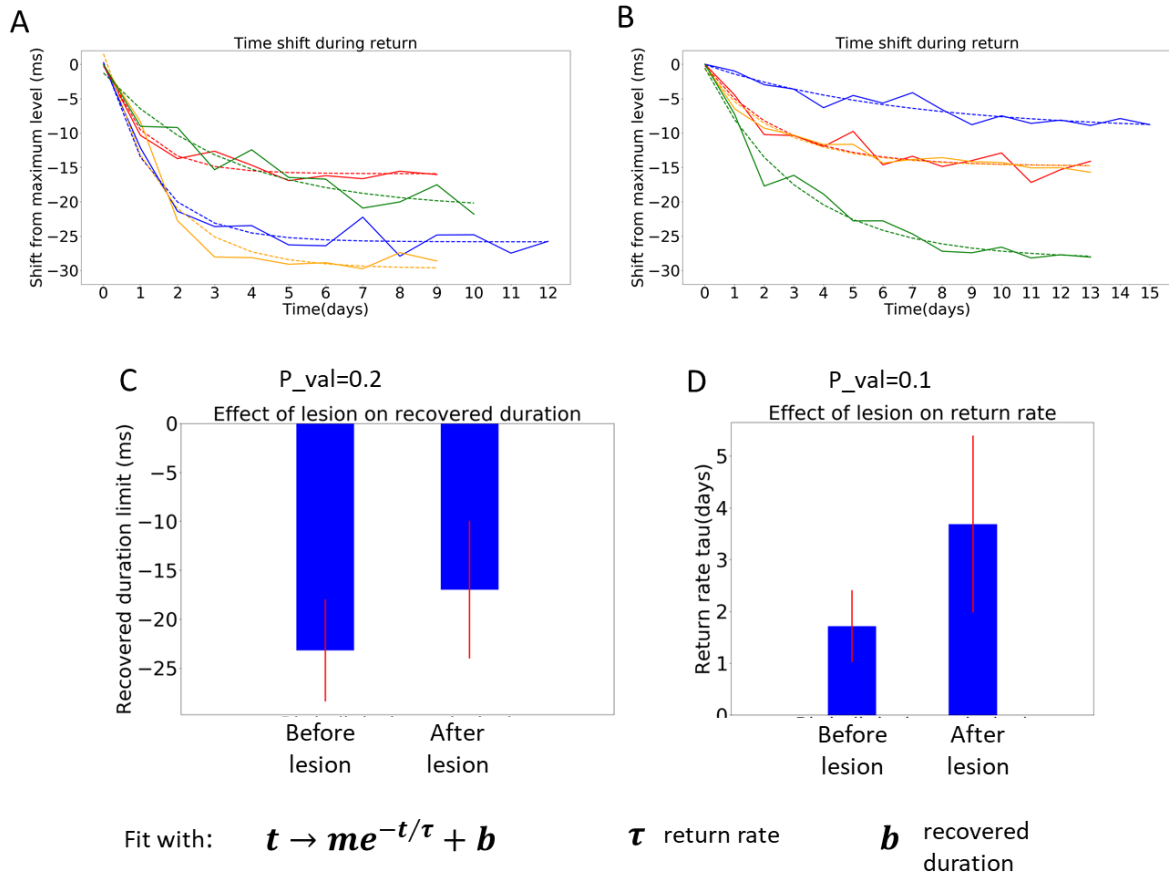


Figure 49: Effect of bilateral lesion of the lateral DCN. A: return to baseline after CAF offset before lesion. B: return to baseline after CAF offset after lesion. At CAF offset, the duration of the song element is taken equal to 0. The duration of the element then decreases. Dotted curves correspond to exponential fits. C: comparison of the recovered duration  $b$  before and after the lesion. The recovered duration  $b$  quantifies the maximal recovery fit. D: Effect of lesion on the return rate of the dynamics  $\tau$ . The return rate quantifies the speed of the recovery. The length of the blue bar represents the mean recovered duration or the mean return rate for our population of four birds. The red bars indicate the +/- std deviation.

## Discussion

In this study we showed that the adult song element duration plasticity happens as a combination of temporal shift and amplitude shaping. The lesions of the lateral DCN did neither affect the ability to change the song element durations nor the dynamics of the change. Given the fact that LMAN can directly shape the amplitude of the song (Kao, Doupe, & Brainard, 2005), the plasticity of song elements by amplitude shaping could be exclusively LMAN dependent. One future direction can consist in lesioning the LMAN in birds that change the duration of their song elements by amplitude shaping and compare with the pre-lesion dynamics. Lesioning LMAN strongly decreases the rate of

change of the durations of song elements during CAF but doesn't abolish the plasticity completely (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013). However it is not clear if all the birds in this last study were systematically tested to present their plasticity by temporal shift only. If not tested, it can be that the decrease in the learning rate on the population level after LMAN lesion is due to the birds that used putatively LMAN dependent amplitude shaping. This could leave the possibility open that lesioning LMAN has no effect on the learning rate for birds using mostly temporal shift. In turn this could enforce one of the conclusions of the cited study that the plasticity of song element durations is realised by a circuit that is different from the basal ganglia thalamo cortical loop. In the future, enforcing the song element duration plasticity to happen via temporal shift could be realised by producing the conditioned noise for too long song element instead of too short elements (i.e. induce a shortening of the song elements). Even though the lesion of the lateral DCN seems to slow the return to baseline, this effect is not significant and not as strong as in case of the lesion of the neurons HVCav from HVC that project to the nucleus avalanche (Roberts, et al., 2017). Since the HVCav neurons receive collaterals from HVCra neurons, they can represent the starting point of an efference copy that is used to compute the expected auditory feedback by downstream structures. The cerebellum could be such a structure even though there is no evidence yet for any pathway between avalanche and the cerebellum. The absence of complete block of the return to baseline after lesions of lateral DCN could mean that not only the most lateral cerebellum is involved but also more medial cerebellar parts that output their signals through the interposed DCN. Hence another future direction is to lesion both the lateral DCN and the interposed DCN. Another possibility is that the expected audio feedback is computed in a broader region not only involving the cerebellum but also the wide and not clearly defined field L (Roberts, et al., 2017) (Keller & Hahnloser, 2009). Finally, we didn't perform the control consisting in subjecting the birds to a second round of CAF after they returned from the first and without lesioning the DCN. Hence it is not clear if the return dynamics can be affected by repeated CAF. Clarifying the last point is another future direction.

## Supplementary figures

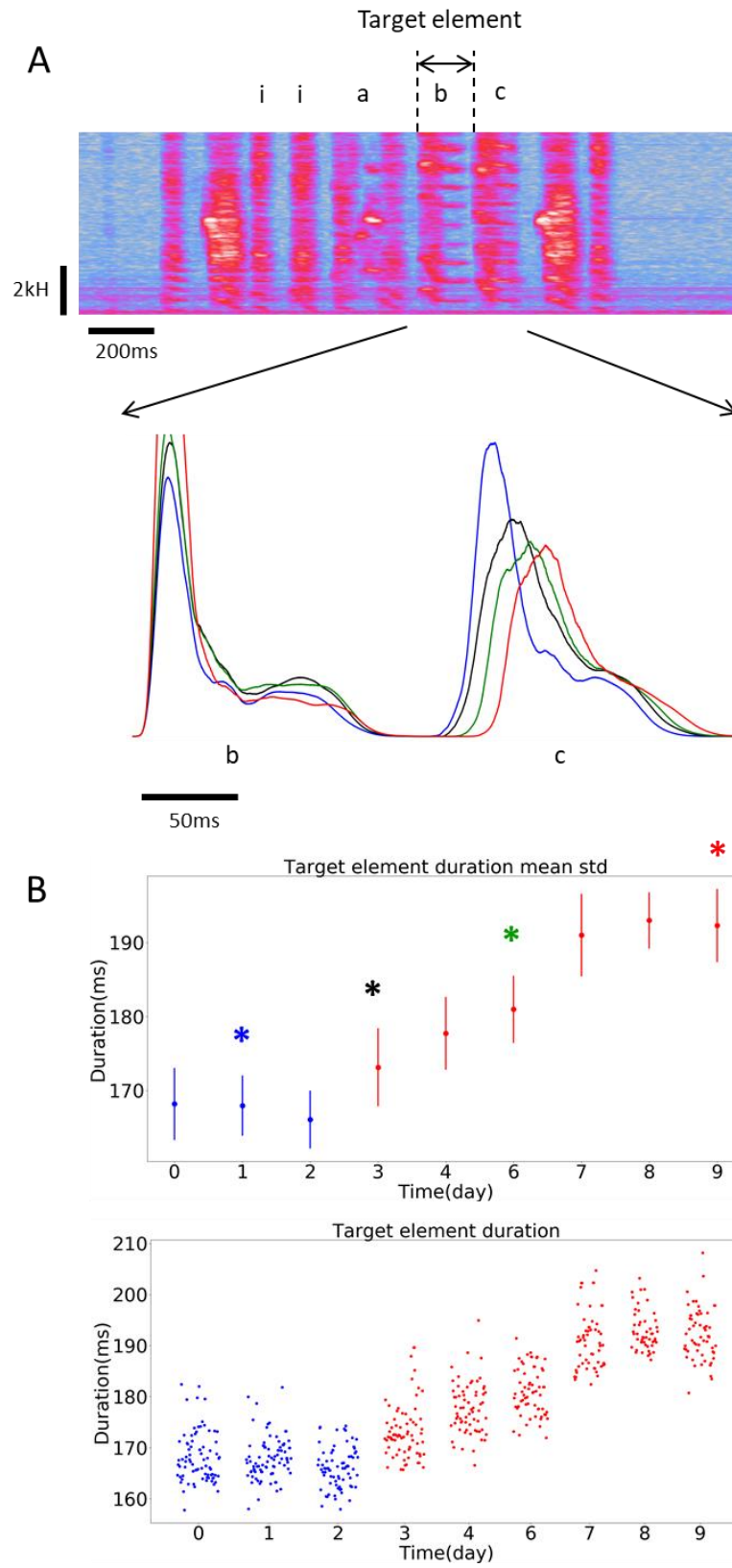


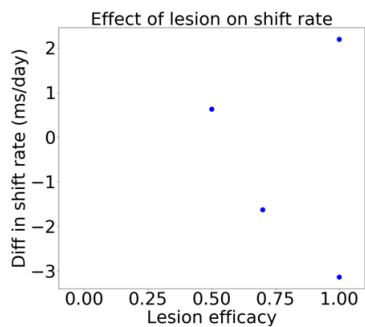
Figure 50: Supplementary figure 1: Shift by a combined mechanism: temporal shift and amplitude shaping. Same legend as figure 46.



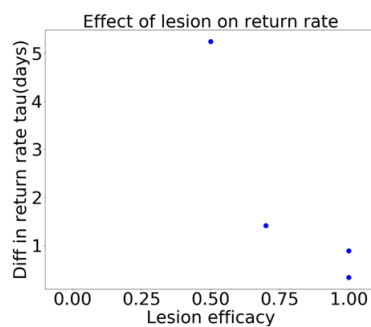
A

Bird id	SB11	SB13	SB15	SB19
Proportion of neurons left after lesion %	~50%	~30%(all in one hemisphere)	0	0
Lesion type (e/a)	e	e	a	a

B



C



D

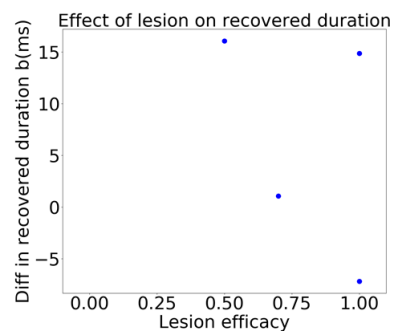


Figure 51: Supplementary figure 2: Histogramy. A: proportion of neurons left in the DCN after the lesion. The lesion type (electric (e) or acid (a)) is specified on the second line. B: plot of the difference in shift rate vs the lesion efficacy. C: plot of the difference in return rate vs the lesion efficacy. D: plot of the difference in the recovered duration vs lesion efficacy

## Materials and Methods

### Animals

All animals used in the experiments were adult zebra finches (*Taeniopygia guttata*) aged >90 days post-hatch. The birds came from our breeding facility or were bought from an external supplier (Oisellerie du Temple, L'Isle d'Abeau, France). The birds had continuous access to water and food (grains) and were housed under natural dark/light conditions.

### Real-time audio feedback perturbation

For the real-time audio feedback perturbation (both for electrophysiological recordings and for plasticity induction), we used the RTX: Real-Time Experimental Interface (Patel, George, Dorval, White, Christini, & Butera, 2018). Briefly, a Digital Acquisition Card PCI-6221 is connected to the motherboard of a desktop computer then the RTX is installed. The RTX installation is documented on ([www.rtxi.org](http://www.rtxi.org)) and consists in the installation of a Linux kernel that is then patched to receive real-time capabilities through the addition of the Xenomai framework. Once the desktop is booted into this new real-time kernel, the RTX software is installed. To perform our real-time task consisting in audio feedback perturbation, we modified the default Data\_Recorder part of the RTX code similarly to (Skocik & Kozhevnikov, 2013) by using and adapting the code provided by the authors of (Skocik & Kozhevnikov, 2013). The code for the real-time audio feedback perturbation consists in computing every ms, the correlation coefficient between a template spectrogram (the template is usually 30 to 50 ms long) and the spectrogram of the lastly recorded piece of audio signal (same duration as the template). If the correlation coefficient is above a threshold value, the target element in the motif is considered to be detected. We used RTX to deliver white noise at a specific time in the motif, usually at the onset of a given syllable. For plasticity induction, we used similar parameters as in the Materials and Methods section of (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013).

### Surgery

Before surgery, birds were first food-deprived for 30-40 min, and an analgesic was administered just before starting the surgery (meloxicam, 5 mg/kg). The anaesthesia was then induced with a mixture of air and 4% isoflurane for 1 min then maintained for several minutes at 0.7-1.5% isoflurane to verify that the breathing rhythm is stable. For the implantation surgeries if the breathing rhythm was not stable, the bird was replaced. Birds were then moved to the stereotaxic apparatus and maintained under anaesthesia with 0.7-1.5% isoflurane. Lidocaine (16.22 mg/mL) was applied under the skin before opening the scalp. Small craniotomies were made above the midline reference point, the bifurcation of the midsagittal sinus, and above the structures of interest. Stereotaxic zero in antero-posterior and mediolateral axis was determined by the sinus junction. Usually the cerebellum was accessed using a head angle of 50°. The stereotaxic coordinates used for each brain structure are summed up in table 1:

Structure	Head Angle(°)	Arm Angle(°)	Antero-posterior(mm)	Medio-lateral(mm)	Depth(mm)
DCN	50	0	-1.7/-2/-2.3	1.2-1.3	3

## Histology

For the anatomical tracing protocol and the electrophysiology recordings: Birds were sacrificed with a lethal intraperitoneal injection of Exagon (pentobarbital sodique, 400 mg/mL), perfused intracardially with PBS 0.01M sometimes followed by 4% para-formaldehyde as fixative. The brain was removed, always post-fixed in 4% for 24 hr, and cryoprotected in 30% sucrose. We then cut 50µm thick sections in the parasagittal or horizontal (for cerebellum) plane with a freezing microtome. Slices were mounted with Mowiol (Sigma Aldrich) and observed under an epifluorescence. Images were analysed using ImageJ software (Rasband WS, NIH, Bethesda, Maryland, USA).

For the lesion protocol: birds were perfused and sliced (50µm thick) in a horizontal plane as described above. The slices were Nissl stained to measure the efficacy of the lesion by counting the number of neurons in the lateral DCN using the Mercator software (Explora Nova, La Rochelle, France).

## Data analysis

### *Songs*

We performed song segmentation into syllables using the supervised machine learning tool hybrid-vocal-classifier or hvc (Nicholson, 2018). Briefly, raw audio signals were band pass filtered with cut off frequencies at 500 and 8000 Hz. The resulting signal was squared and low-pass filtered with a box car window of 10ms. This gave the envelope of the song signal. The song envelope was segmented by selecting the segments of the envelope that are above a manually selected threshold. The segments of around 100 to 200 motifs were manually labelled and used to train the hvc software (that used the SVM algorithm). The subsequent songs of the same bird were then automatically segmented by the so trained software. The output of the segmentation is a list of onset and offset times of each segment as well as the label of the segment that can be a syllable or a noise.

$D'$  in Fig. 45 was computed as in (Canopoli, Herbst, & Hahnloser, 2014). On the day  $i$ , the value of  $D'$  is:  $D' = \frac{\bar{d}_i - \bar{d}_b}{\bar{d}_0 - \bar{d}_b}$ , where  $\bar{d}_i$  is the mean duration of the target element on day  $i$ .  $\bar{d}_b$  is the mean duration of the target element during baseline.  $\bar{d}_0$  is the mean duration of the target element during last day of CAF.

## Lesions

Lesions were performed in the DCN of zebra finches. We targeted the most lateral DCN, analogous to the dentate nucleus in mammals. In a group of birds ( $n = 2$ ), a partial electrolytic lesion was performed in the lateral deep cerebellar nucleus by passing 25 µA during 60-90 s through a tungsten electrode. Lesions were made at three points (see the stereotaxic coordinates in Table 1, DCN coordinates, second row). In a second experimental group ( $n = 2$ ), chemical partial lesion was performed by pressure injecting ibotenic acid (10µg/µl) (Picospritzer III, www.parker.com/precisionfluidics), with a rate of 100 nL/min. We also performed injections at three locations (see Table 1, DCN coordinates) injecting 80-150nL per point. Following surgery, the behaviour of birds was closely monitored for a few days to ensure proper recovery. All birds underwent temporary motor deficits (postural and balance troubles). Many birds recovered quickly

and were perching and feeding normally 48-72 hr after surgery. Singing usually resumed after 72 hr. Some birds (5) died 24-72 hours after surgery. The reason for the death after the acid injection could be the spread of the acid to more medial portions of the DCN that are involved in vital functions. In an attempt to reduce the mortality we decreased the injected volume to 80 nL per injection site.

## References

- Ackermann, H., & Brendel, B. (2016). *Neurobiology of Language*. (A. Press, Éd.)
- Ackermann, H., Gräber, S., Hertrich, I., & Daum, I. (1997). Categorical Speech Perception in Cerebellar Disorders.
- Ali, F., Otchy, T., Pehlevan, C., Fantana, A., & Burak, Y. (2013). The Basal Ganglia Is Necessary for Learning Spectral, but Not Temporal, Features of Birdsong. *Neuron*.
- Bohlenda, J., & Guenther, F. (2006). An fMRI investigation of syllable sequence production. *NeuroImage*.
- Brainard, M., & Doupe, A. (2002). What songbirds teach us about learning. *Nature*.
- Canopoli, A., Herbst, J., & Hahnloser, R. (2014). A Higher Sensory Brain Region Is Involved in Reversing Reinforcement-Induced Vocal Changes in a Songbird. *The Journal of Neuroscience*.
- De Smet, H. J., Baillieux, H., De Deyn, P., & Mariën, P. (2007). *The Cerebellum and Language: The Story So Far*.
- Kao, M., Doupe, A., & Brainard, M. (2005). Contributions of an avian basal ganglia–forebrain circuit to real-time modulation of song. *Nature*.
- Keller, G., & Hahnloser, R. (2009). Neural processing of auditory feedback during vocal practice in a songbird. *Nature*.
- Kunimatsu, J., Suzuki, T. W., Ohmae, S., & Tanaka, M. (2018). Different contributions of preparatory activity in the basal ganglia and cerebellum for self-timing. *eLife*.
- Medina, J., & Mauk, M. (2000). Computer simulation of cerebellar information processing. *Nature Neuroscience*.
- Mooney, R. (2009). Neural mechanisms for learned birdsong. *Learning & Memory*.
- Nicholson, D. (2018). *hybrid-vocal-classifier*. Récupéré sur <https://hybrid-vocal-classifier.readthedocs.io/en/latest/>
- Patel, Y., George, Y., Dorval, A., White, J., Christini, D., & Butera, R. (2018). Hard real-time closed-loop electrophysiology with the Real-Time eXperiment Interface (RTXI). *PLOS Computational Biology*.
- Pidoux, L., Le Blanc, P., Levenes, C., & Leblois, A. (2018). A subcortical circuit linking the cerebellum to the basal ganglia engaged in vocal learning. *eLife*.
- Roberts, T., Hisey, E., Tanaka, M., Chattree, G., Yang, C., Shah, N., et al. (2017). Identification of a motor-to-auditory pathway important for vocal learning. *Nature Neuroscience*.
- Skocik, M., & Kozhevnikov, A. (2013). Real-time system for studies of the effects of acoustic feedback on animal vocalizations. *frontiers in NEURAL CIRCUITS*.

Tumer, E., & Brainard, M. (2007). Performance variability enables adaptive plasticity of 'crystallized' adult birdsong. *Nature*.

[www.rtxi.org](http://www.rtxi.org). (s.d.). Récupéré sur <http://rtxi.org/install/>

# Résultats complémentaires

Les données de l'article 1 montrent une modulation de l'activité neuronale dans le cervelet pendant le chant et pendant les stimulations auditives. Ceci suggère la présence de représentations motrices et sensorielles du chant dans le cervelet des diamants mandarins. Les données de l'article 2 suggèrent que le cervelet pourrait jouer un rôle dans la plasticité de la durée des éléments du chant chez l'oiseau adulte. Le déroulement temporel du chant est contrôlé par le noyau HVC. Par conséquent, l'influence du cervelet sur les propriétés temporelles du chant suppose l'existence d'une connexion entre le cervelet et HVC.

Il est connu que le noyau MMAN projette densément vers HVC (Foster, Mehta, & Bottjer, 1997) et que MMAN reçoit des projections du noyau thalamique DMP (Vates, Vicario, & Nottebohm, 1997). Le noyau DMP à son tour se trouve près de DTZ (voir figures 22 et 25), région du thalamus recevant des projections du DCN latéral (Pidoux, Le Blanc, Levenes, & Leblois, 2018)(figure 22). Ainsi, le cervelet pourrait agir sur HVC en passant par DTZ/DMP et MMAN.

Pour vérifier si, au niveau du thalamus, les projections des DCN se connectent aux neurones projetant vers MMAN, nous avons injecté des colorants fluorescents dans les DCN et MMAN (figure 52,a,c,d). L'observation au niveau du thalamus des traçages suggère un faible recouvrement (figure 52,b). Il pourrait y avoir une faible connexion monosynaptique ou une connexion multi-synaptique entre les axones des DCN et les neurones projetant vers MMAN.

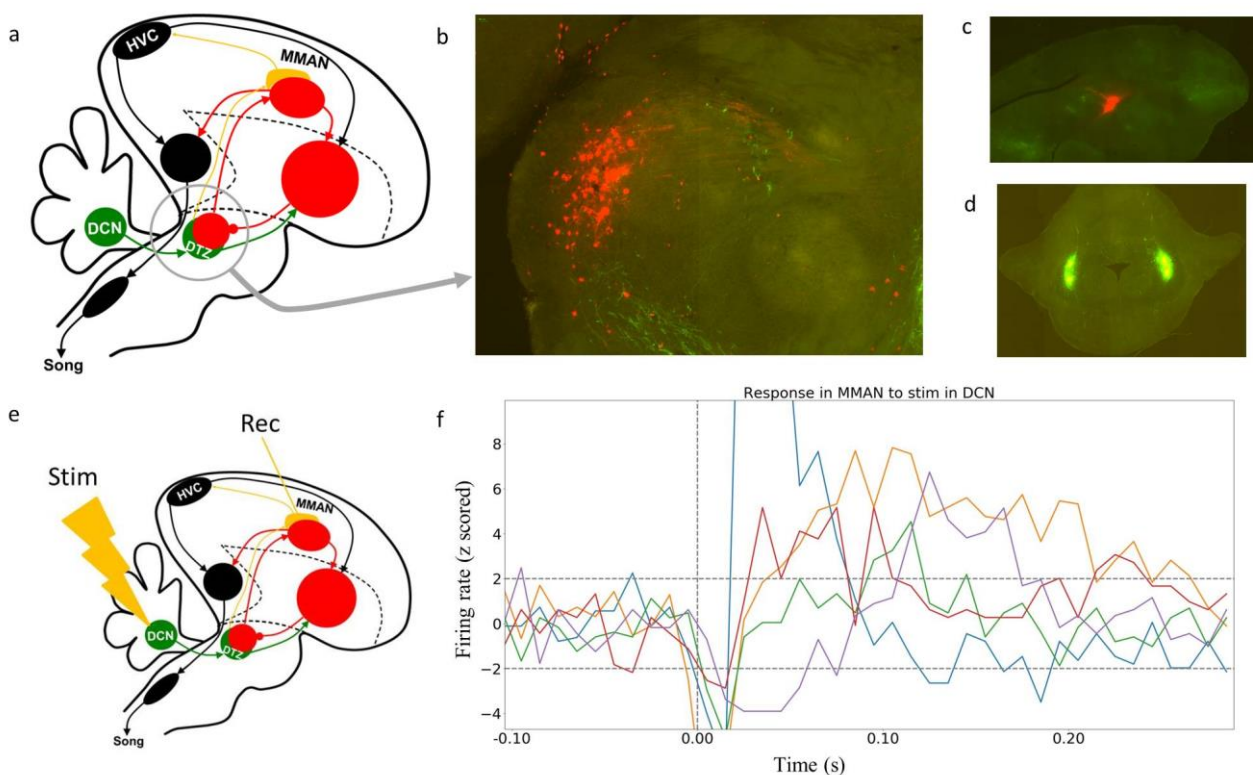


Figure 52: Connexion possible entre les DCN et HVC via DTZ/DMP. a : Schéma général du circuit du chant simplifié. Injection de dextran fluorescent dans les DCN (Alexa 488) et dans MMAN (Alexa 567). b : Visualisation de la région thalamique. Les axones en provenance des DCN sont en vert. Les neurones colorés rétrogradement depuis MMAN dans DMP sont en rouge. Il pourrait y avoir une connexion bi-synaptique entre les axones depuis DCN et les neurones

projetant vers MMAN. c,d : sites d'injection dans MMAN et DCN respectivement. e : Schéma illustrant la stimulation dans DCN et l'enregistrement dans MMAN. f : Evolution du taux de décharge normalisé (z score) de 5 neurones de MMAN en réponse aux stimulations dans DCN (2mA). La ligne verticale pointillée représente l'instant du début de la stimulation. Les neurones répondent de manière significative à la stimulation.

Pour vérifier l'existence d'une connexion fonctionnelle entre les DCN et MMAN, nous avons stimulé électriquement les DCN et enregistré dans MMAN (figure 52,e). Les neurones de MMAN répondent de manière significative aux stimulations des DCN (figure 52,f).

## *Méthodes*

### Enregistrements en anesthésié

Les enregistrements ont été réalisés à l'aide d'électrodes en tungstène (généralement 10M $\Omega$  mais parfois 20M $\Omega$ ). Les signaux ont été acquis avec le système Alpha Omega à 22320 Hz et filtrés passe-bande avec des fréquences de coupure à 268 et 8036 Hz. La stimulation a été effectuée à l'aide d'une électrode bipolaire personnalisée utilisant soit des fils de tungstène d'un diamètre de 125  $\mu$ m, soit des fils de cuivre torsadés d'un diamètre de 150  $\mu$ m. Le noyau cérébelleux profond latéral (DCN) a été stimulé pendant l'enregistrement de l'activité de différentes parties du cerveau. La stimulation consistait en une séquence d'impulsions électriques. La durée d'une impulsion était de 1 ms, avec des intervalles inter-stimulation de 1,6 s et une intensité de 2 mA. La position des électrodes a été confirmée histologiquement.

### Traçage anatomique

Nous avons effectué des injections iontophorétiques de colorant fluorescent à base de dextran Alexa 594 et Alexa 488 (ThermoFisher, 5 % dans du PBS 0,1 M ou 0,9 % de solution saline) dans les structures cérébrales cibles (DCN lateral, HVC, MMAN). Les injections ont été faites à l'aide d'une pipette en verre avec une pointe de 10 à 25  $\mu$ m de diamètre et un injecteur de courant. Un courant de 10  $\mu$ A était injecté pendant 7 s suivi d'une pause de 7 s. Le cycle était répété pendant 2 à 5 min. Des injections dans HVC ont été faites pour le marquage rétrograde du noyau MMAN et s'assurer ainsi que l'injection directement dans MMAN avec une autre couleur a été faite au bon endroit. Les oiseaux ont ensuite été hébergés individuellement pendant trois jours après l'injection pour permettre la diffusion du colorant. Au bout de trois à quatre jours les oiseaux ont été perfusés, les cerveaux extraits, post fixés dans une solution de paraformaldéhyde (PFA) à 4%, congelés et coupés à l'aide d'un cryostat en tranches de 50 $\mu$ m d'épaisseur. Les tranches ont été placées entre lames et lamelles et visualisées à l'aide d'un microscope.



# Discussion

---

## Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons mis en évidence l'existence de plusieurs représentations du chant dans le cervelet (Article 1). Le chant semble disposer d'une représentation motrice principalement dans le lobule IV et dans une certaine mesure dans le lobule VIb du cervelet. En effet les neurones du lobule IV sont modulés pendant la production du chant mais pas pendant l'écoute passive du chant ni pendant le mouvement de l'oiseau en dehors du chant. Le cervelet semble aussi contenir une représentation sensorielle du chant dans le lobule V puisque les neurones de cette région du cervelet sont aussi bien modulés pendant la production active du chant que pendant l'écoute passive du chant ou d'autres stimuli auditifs. En général, les neurones modulés par les stimuli auditifs ne sont pas sélectifs aux types du chant présenté contrairement aux neurones des noyaux du circuit du chant du télencéphale qui répondent en général plus fortement au chant propre qu'au chant renversé ou conspécifique. Pour une proportion de neurones du lobule V, les modulations pendant la production du chant et pendant l'écoute passive du chant propre sont significativement alignées.

Nous avons également constaté que les neurones du lobule IV ne sont pas modulés par le DAF ce qui confirme la représentation motrice du chant dans ce lobule. De manière intéressante, le DAF n'induit pas de modulations dans le lobule V pendant le chant alors que le stimulus WN en général induit des réponses fortes à son initiation.

L'implication du lobule IV dans le contrôle moteur du chant est aussi étayée par l'existence d'une proportion significative de corrélations entre la durée des syllabes et l'activité neuronale. Ces corrélations sont cependant présentes dans tous les lobes enregistrés. Egalement, la variabilité de l'activité neuronale est corrélée à la variabilité de la fréquence fondamentale, de l'amplitude et de l'entropie spectrale des syllabes.

Une possibilité pour le rôle du cervelet chez l'oiseau adulte est l'implication dans la plasticité de la durée des éléments du chant.

Nous avons aussi découvert au cours de ce travail que la plasticité de la durée des éléments du chant chez l'oiseau adulte résulte d'une combinaison de deux mécanismes. Le premier mécanisme consiste à décaler l'initiation des syllabes en diminuant l'amplitude de la partie initiale des syllabes. C'est le mécanisme par la plasticité d'amplitude. L'autre mécanisme consiste à décaler entièrement dans le temps les syllabes. C'est le mécanisme du décalage dans le temps.

La lésion des DCN latéraux, n'empêche pas l'induction de la plasticité de la durée des éléments du chant et ne semble pas affecter sa dynamique. Les lésions n'affectent pas non plus de manière significative la dynamique de retour des durées aux valeurs initiales.

## Traitement des entrées auditives dépendamment du contexte

Certains neurones du module V présentent un alignement entre la modulation de leur activité pendant le chant et la modulation de leur activité pendant la stimulation auditive (fig33, Article1). Cependant les valeurs de corrélation quantifiant cet alignement sont faibles. Ceci montre que l'alignement n'est pas parfait et que donc les modulations pendant le chant ne seraient pas simplement dues au retour auditif pendant le chant. Un autre argument contre une origine commune des modulations pendant le chant et pendant la stimulation auditive vient de la différence de modulation au retour auditif non attendu DAF. En effet, le DAF pendant le chant ne produit pas de modulation lors de son initiation. En revanche, lors de la stimulation auditive, le DAF et le WN produisent une variation dans l'activité dès l'initiation (voir figure31,f,g, Article1, figure 34,b,e,f, Article 1). Les modulations induites par le DAF pendant le chant ont principalement lieu à sa terminaison (voir figure34, Article1) et souvent il s'agit de cas lorsque le bruit du DAF dure plus longtemps que la syllabe et la terminaison du DAF a ainsi lieu en dehors du motif (voir figure 34,e, Article 1). De telles modulations de l'activité à la terminaison du DAF seraient en réalité des réponses à des stimuli passifs de type WN.

Quelle serait alors l'origine de la modulation de l'activité pendant le chant ? Cette activité pourrait provenir des décharges collatérales des noyaux moteurs pendant le chant. Ce type d'activité semble exister dans le noyau HVC (Prather, Peters, Nowicki, & Mooney, 2008). Dans ce cas l'activité issue des décharges collatérales ne serait pas perturbée par le DAF. Quelle serait alors la fonction de ces décharges collatérales ? Il pourrait s'agir de signaux utilisés par le cervelet pour estimer le retour auditif attendu. Cependant, le fait que les mêmes neurones soient actifs pendant le chant et les stimuli auditifs montre qu'ils participent aussi au traitement d'informations purement auditives. Les neurones du cervelet comme ceux de HVC pourraient ainsi fonctionner dans différents modes selon le contexte : chant actif, ou écoute passive (Prather, Peters, Nowicki, & Mooney, 2008).

Alternativement, lors du chant l'oiseau entend plus fortement le retour auditif de son propre chant que les perturbations du DAF. En effet l'amplitude du DAF a été calibrée par rapport à l'amplitude du chant mesurée par un microphone situé à quelques dizaines de cm de l'oiseau. Le retour auditif de son propre chant est certainement beaucoup plus fortement perçu par l'oiseau que le bruit du DAF produit par des enceintes. Ceci doit être d'autant plus vrai lorsque le bruit du DAF est initié au début de la syllabe quand l'amplitude de la syllabe est la plus forte.

## Localisation du traitement du chant

Nous avons principalement enregistré l'activité des lobules IV, V et VIb. C'est dans les lobules IV et V que les modulations de l'activité pendant le chant ou les stimulations auditives étaient les plus claires. Dans le lobule VIb, bien que les données de population montrent une similarité avec le lobule IV (figure 32, Article 1), l'inspection visuelle de l'activité des neurones ne permet pas de classer ce lobule dans une catégorie plus motrice qu'auditive.

Les études chez les autres espèces suggèrent préférentiellement le lobule VI et éventuellement VII et VIII comme la partie du cervelet la plus probablement impliquée dans le traitement des vocalisations

ou des stimuli auditifs. En effet, les parties latérales des lobules VI-VII sont réceptives aux stimulations des lèvres et vibrisses des rongeurs (Apps & Hawkes, 2009) (Brown & Raman, 2018). Ces régions du cervelet semblent donc être connectées aux récepteur ou muscles de la bouche et on pourrait penser que ces régions sont chez l'oiseau impliquées dans le chant. Chez l'homme aussi le lobule VI et éventuellement VIII s'activent lors de la production de la parole (Bohlenda & Guenther, 2006). De plus les lobules VII et VIII semblent s'activer en réponse aux stimuli auditifs chez certains oiseaux anesthésiés (Whitlock, 1952). Ainsi les lobules VI, VII et VIII semblent être de bons candidats pour notre étude. Cependant l'anatomie des diamants mandarins et les contraintes techniques de notre système d'enregistrement compliquaient l'accès à ces lobules. Nous n'avons pu enregistrer que la partie VIb du lobule VI. Les lobules IV et V étant plus faciles d'accès.

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature des indices suggérant l'implication des lobules IV et V dans la production des vocalisations ou le traitement de stimuli auditifs. Nous avons aussi remarqué que pour certains oiseaux dans le lobule V nous ne trouvions pas d'activité modulée pendant le chant ou les stimuli auditifs. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les microzones qui découpent le cervelet dans le plan sagittal ont une épaisseur de 100 à 300  $\mu\text{m}$  (Kostadinov, Beau, Blanco, & Häusser, 2019). L'activité relative au chant dans le cervelet pourrait être distribuée sur plusieurs microzones non nécessairement adjacentes. Il serait donc difficile de systématiquement cibler les éventuelles zones du chant.

Enfin, tous nos enregistrements ont été effectués dans l'hémisphère gauche du cervelet. Il est cependant connu que chez l'humain, c'est l'hémisphère gauche du telencéphale qui contrôle le langage. Il n'est donc pas exclu que l'éventuel rôle du cervelet dans le comportement du chant chez le diamant mandarin soit également latéralisé. Il est donc pertinent d'enregistrer l'activité dans les deux hémisphères du cervelet, ce qui pourra faire l'objet d'un travail futur.

## **Modèles internes dans le comportement du chant**

Le cervelet est considéré jouer un rôle dans l'estimation du retour sensoriel associé aux actions motrices exécutées par le corps. Cette estimation se faisant au moyen de modèles internes (Wolpert, Miall, & Kawato, 1998). La participation aux calculs des modèles internes peut se comprendre de différentes manières. Le cervelet peut être le siège de ces modèles internes ou d'une partie de ces modèles. Dans ce cas le cervelet recevrait en entrée des copies des signaux moteurs et produirait en sortie, des estimations du retour sensoriel ou des signaux nécessaires à ces estimations. Pour cela le cervelet devrait recevoir des entrées de la région motrice RA ou premotrice HVC. Ceci n'est pas connu et la recherche de telles connexions est compliquée par le fait que le cervelet en général ne se connecte pas directement au télencéphale mais fait intervenir des intermédiaires dans le tronc cérébral comme la formation réticulée dont la structure n'est pas clairement établie. De plus, comment peut-on savoir si les signaux en sortie du cervelet représentent des estimations du retour auditif ? Pour vérifier que le cervelet produit de telles estimations, il faudrait trouver quelque part dans le cerveau de l'oiseau des neurones recevant directement ou indirectement des connexions depuis les DCN et dont l'activité serait modulée de la même manière que d'autres neurones du cerveau recevant des connexions depuis la voie auditive ascendante. Si la voie auditive ascendante est bien connue (Mooney R. , 2009), la détermination des voies de connexion entre le cervelet et le circuit de chant n'est qu'à ses débuts (Pidoux, Le Blanc, Levenes, & Leblois, 2018). Dans tous les cas, si le cervelet effectue des calculs de prédiction, il devrait y avoir dans le cervelet des signaux

modulés par le chant mais insensibles aux perturbations du DAF et aux stimuli auditifs passifs. C'est bien ce que nous observons dans le lobule IV (voir figure 30, f, g, Article 1). Ainsi les modulations que nous avons enregistrées dans le lobule IV ne sont pas incompatibles avec un rôle du cervelet dans le calcul des prédictions sensorielles mais ne peuvent pas être considérées comme des preuves que le cervelet effectue de tels calculs.

Le cervelet pourrait alternativement participer à la mise à jour de tels modèles internes. Dans ce cas le cervelet devrait être le siège de calculs de comparaison entre le retour sensoriel attendu et le retour réel. Si le retour prédit est différent du retour réel comme c'est le cas lors du DAF, le cervelet produirait un signal contenant l'information sur cette différence et l'envoyerait à la partie du cerveau qui contient le modèle interne pour modifier le modèle. Des études chez le singe suggèrent effectivement que de tels calculs de comparaison ont lieu dans le cervelet et le résultat de la comparaison serait contenu dans le taux de décharge des DCN (Brooks & Cullen, 2013). Malheureusement nous n'avons pas pu dans ce travail enregistrer l'activité des DCN pendant la perturbation du chant spontané. Les neurones du cortex cérébelleux que nous avons enregistrés ne montrent pas de modulation à l'initiation du DAF.

La comparaison entre l'estimation du retour sensoriel et le retour réel pourrait avoir lieu dans le télencéphale des oiseaux, plus précisément dans la région diffuse champ L (voir fig 53). En effet, certains neurones de champ L ne sont pas modulés lors du chant sauf lorsque le DAF se produit dans quel cas les neurones augmentent fortement leur décharge (Keller & Hahnloser, 2009). Ces neurones pourraient ainsi représenter le résultat de comparaison entre les retours prédit et réel. Il n'est cependant pas connu si le cervelet influencerait les calculs dans champ L.

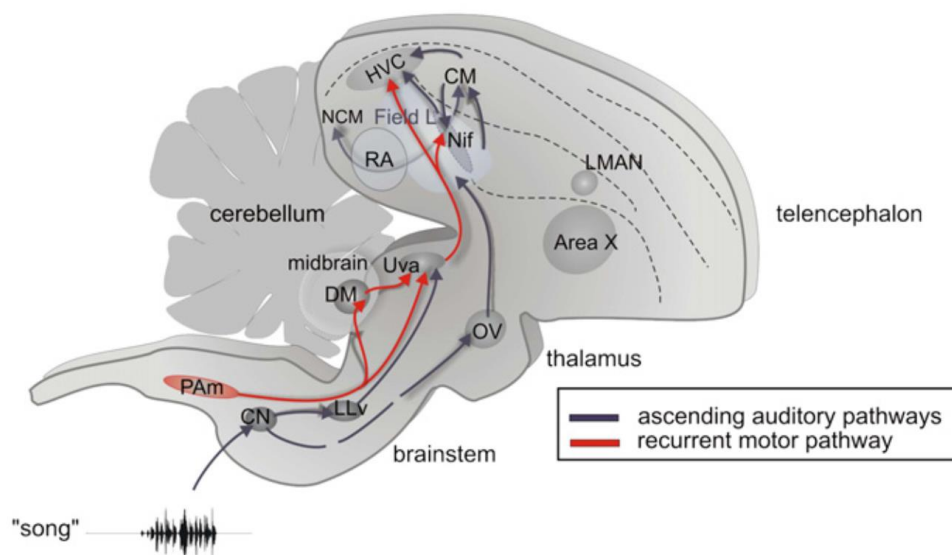


Figure 53: Circuit du chant. Voie motrice de retour en rouge. Voie auditive ascendante en noir. Région auditive diffuse champ L près de HVC. Image prise de (Mooney R. , 2009).

Quel serait aussi le rôle d'un modèle interne relatif au chant ? Le modèle interne servirait à détecter les écarts entre le retour prédit et le retour réel et à corriger la production du chant au motif suivant pour faire mieux correspondre le chant produit au chant attendu et mémorisé à l'âge juvénile. Le modèle interne servirait à maintenir la stabilité du chant et ne serait plus modifiable tout au long de la vie de l'oiseau. L'existence d'un mécanisme pour le maintien de la stabilité du chant se manifeste

par le fait qu'en rendant sourd un oiseau adulte, son chant se détériore fortement au bout de 8 semaines (Kojima & Kao, 2013). Ceci peut s'expliquer par le fait qu'en supprimant le retour auditif réel, la comparaison entre le retour prédit et réel ne s'annule plus et le système de production du chant se retrouve constamment sous l'effet du signal de correction non nul ce qui résulte en une dérive du chant. Si le cervelet participe aux calculs du modèle interne relatif au chant, la lésion du cervelet devrait perturber les calculs de prédiction et placer le circuit de production du chant dans un contexte semblable à celui de la surdité. Le chant devrait se détériorer après 8 semaines ou plus. Ceci pourrait constituer une expérience future. De plus en soumettant un oiseau à un DAF conditionnel sur la durée des éléments du chant (fig44, Article 2) ou sur la valeur de la fréquence fondamentale (Tumer & Brainard, 2007), le chant se déforme mais après la suppression du DAF, les déformations du chant s'effacent et le chant retrouve sa forme initiale (fig45, Article2). Si le cervelet participe aux calculs du modèle interne, la lésion du cervelet devrait perturber ces calculs et empêcher ou ralentir le retour. Cela semble être le cas (figure48, Article2) mais le nombre d'oiseaux lésés est trop réduit pour conclure.

Comme évoqué plus haut, pour pouvoir prédire le retour sensoriel, un modèle interne doit recevoir des entrées motrices depuis RA ou premotrices depuis HVC. Il a été montré que si on détruit spécifiquement les neurones de HVC qui projettent vers le noyau avalanche (voir fig53) alors les oiseaux sont toujours capables d'augmenter la durée de leurs éléments de chant sous l'effet du DAF mais le retour aux valeurs initiales ne se fait plus (Roberts, et al., 2017). Si le mécanisme de retour à la forme initiale du chant fait intervenir un modèle interne, ce résultat pourrait signifier que HVC envoie des entrées premotrices au modèle interne en passant par le noyau avalanche. Vérifier l'implication du cervelet dans les calculs de prédiction pourrait passer par la recherche d'une connexion entre le noyau avalanche et le cervelet.

Les lésions du cervelet de l'Article 2 n'ont concerné que le DCN le plus latéral. Cependant le DCN interposé pourrait aussi intervenir dans les calculs de prédiction du modèle interne. En effet le DCN interposé intervient dans les décélérations anticipatives des membres antérieurs évoquées dans l'introduction. De plus, le DCN interposé intervient dans le conditionnement du clignement (Takehara-Nishiuchi, 2016). Ceci montre que le DCN interposé intervient dans le contrôle des muscles crâniens et pourrait aussi être associé au comportement du chant. La lésion du DCN interposé en plus du DCN le plus latéral permettrait de compléter l'étude de l'article 2.

Enfin, lors du conditionnement du clignement de l'œil, le signal du stimulus conditionnel (CS, voir section 2.2) ne doit pas nécessairement être exogène mais peut provenir du système nerveux de l'animal lui-même (Khilkevich, Zambrano, & Richards, 2018). Ainsi, la fermeture anticipative de la paupière engendre un signal produit par les DCN qui peut être utilisé comme CS pour prévenir l'animal de l'arrivée d'un US. Dans le cas du chant, l'initiation de chaque syllabe dans le motif pourrait engendrer un signal qui jouerait le rôle du CS et instruirait l'oiseau sur l'arrivée du DAF à la syllabe suivante. L'oiseau apprendrait à anticiper l'arrivée du US et pousserait à produire la syllabe suivante un peu plus tôt ou plus tard afin d'éviter le DAF. Cependant si la plasticité de la durée des éléments du chant s'effectuait de manière analogue au conditionnement du clignement, les lésions des DCN empêcheraient l'acquisition de la plasticité. Ceci n'est pas le cas si on lèse uniquement les DCN les plus latéraux.

## Apprentissage par renforcement

Il a été proposé que la modification de la fréquence fondamentale des syllabes sous l'effet du DAF s'effectue par un mécanisme d'apprentissage par renforcement au niveau des ganglions de la base relatifs au chant (l'aire X, voir la partie 3.2.2.4) (Fee & Goldberg, 2011) utilisant un cadre théorique générique (Fiete & Seung, 2006). Dans ce cadre, il existe une source de variabilité et un signal de renforcement. Dans le cas de la plasticité spectrale, la source de variabilité serait LMAN et le signal de renforcement serait véhiculé par les projections dopaminergiques depuis la VTA vers l'aire X. Les ganglions de la base sont dans ce modèle le siège de l'apprentissage à court terme. Certains aspects de cette hypothèse semblent confirmés expérimentalement (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013) (Hisey, Kearney, & Mooney, 2018). Les ganglions de la base ne semblent cependant pas impliqués dans la plasticité de la durée des éléments du chant (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013). Si la modification de la durée des éléments du chant se fait par un mécanisme d'apprentissage par renforcement, le lieu du renforcement doit certainement être HVC car c'est ce noyau qui encode le déroulement temporel du chant.

Il a été récemment mis en évidence que les neurones dopaminergiques de la région A11 ou PAG du tronc cérébral des diamants mandarins projettent vers HVC et s'activent lors du chant (Ben-Tov, Duarte, & Mooney, 2021). De plus, les DCN latéraux et peut-être interposés projettent vers le PAG. Enfin le noyau MMAN dont le motif de décharge est semblable à celui de LMAN innerve massivement HVC. En adoptant le cadre de l'apprentissage par renforcement, MMAN pourrait jouer le rôle de source de variabilité et les projections dopaminergiques vers HVC depuis le PAG de signal de renforcement. Le cervelet effectuerait la comparaison entre le retour auditif attendu et le retour réel et modulerait les neurones dopaminergiques du PAG. Ni les lésions de MMAN (Ali, Otchy, Pehlevan, Fantana, & Burak, 2013) ni les lésions des DCN latéraux (Article2) n'empêchent la capacité de modifier la durée des éléments du chant. Cependant l'effet de la lésion de MMAN sur la dynamique de retour n'a pas été publié et nos données sur les lésions des DCN suggèrent un ralentissement de la dynamique de retour. Le mécanisme permettant la plasticité sur la durée des éléments du chant est donc pour l'heure inconnu. Pour exclure complètement la possibilité d'un rôle de MMAN, il faudrait mesurer la dynamique de retour pour les oiseaux dont le MMAN a été lésé. Le rôle potentiel des projections dopaminergiques dans HVC peut être clarifié en détruisant les fibres dopaminergiques dans HVC et en mesurant la dynamique de la plasticité.

# Références

- Ackermann, H., & Brendel, B. (2016). *Neurobiology of Language*. (A. Press, Éd.)
- Ackermann, H., Gräber, S., Hertrich, I., & Daum, I. (1997). Categorical Speech Perception in Cerebellar Disorders.
- Ali, F., Otchy, T., Pehlevan, C., Fantana, A., & Burak, Y. (2013). The Basal Ganglia Is Necessary for Learning Spectral, but Not Temporal, Features of Birdsong. *Neuron*.
- Ali, F., Pehlevan, C., & Burak, Y. (2013). The Basal Ganglia Is Necessary for Learning Spectral, but Not Temporal, Features of Birdsong. *Neuron*.
- Andalman, A., & Fee, M. (2009). A basal ganglia-forebrain circuit in the songbird biases motor output to avoid vocal errors. *PNAS*.
- Ankri, L., Husson, Z., Pietrajtis, K., Proville, R., Léna, C., Yarom, Y., et al. (2015). A novel inhibitory nucleo-cortical circuit controls cerebellar Golgi cell activity. *eLife*.
- Apps, R., & Hawkes, R. (2009). Cerebellar cortical organization: A one-map hypothesis. *Nature Reviews Neuroscience*.
- Apps, R., Hawkes, R., Aoki, S., & al., e. (2018). Cerebellar Modules and Their Role as Operational Cerebellar Processing Units. *Cerebellum*.
- Barri, A., Wiechert, M., & DiGregorio, D. (2022). *Synaptic basis of a sub-second representation of time*. Récupéré sur biorxiv: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.02.16.480693v1>
- Barton, R., & Venditti, C. (2014). Rapid Evolution of the Cerebellum in Humans and Other Great Apes. *Current Biology*.
- Becker, M., & Person, A. (2019). Cerebellar Control of Reach Kinematics for Endpoint Precision. *Neuron*.
- Bell, C., & Han, V. (2008). Cerebellum-Like Structures and Their Implications for Cerebellar Function. *Annual Review of Neuroscience*.
- Bengtsson, F., & Jörntell, H. (2009). Sensory transmission in cerebellar granule cells relies on similarly coded mossy fiber inputs. *PNAS*.
- Ben-Tov, M., Duarte, F., & Mooney, R. (2021). *A neural hub that coordinates learned and innate courtship behaviors*. Récupéré sur biorxiv: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.09.09.459618v1>
- Bohlhanda, J., & Guenther, F. (2006). An fMRI investigation of syllable sequence production. *NeuroImage*.
- Bostan, A., Dum, R., & Strick, P. (2012). Cerebellar networks with the cerebral cortex and basal ganglia. *Trends in Cognitive Sciences*.

- Boyden, E., Katoh, A., & Raymond, J. (2004). Cerebellum-dependent learning: the role of multiple plasticity mechanisms. *Annual review of neuroscience*.
- Brainard, M., & Doupe, A. (2002). What songbirds teach us about learning. *Nature*.
- Brooks, J., & Cullen, K. (2013). The Primate Cerebellum Selectively Encodes Unexpected Self-Motion. *Current Biology*.
- Brooks, J., & Cullen, K. (2013). The Primate Cerebellum Selectively Encodes Unexpected Self-Motion. *Current Biology*.
- Brooks, J., Carriot, J., & Cullen, K. (2015). Learning to expect the unexpected: rapid updating in primate cerebellum during voluntary self-motion. *Nature Neuroscience*.
- Brown, S., & Raman, I. (2018). Sensorimotor Integration and Amplification of Reflexive Whisking by Well-Timed Spiking in the Cerebellar Corticonuclear Circuit. *Neuron*.
- Canopoli, A., Herbst, J., & Hahnloser, R. (2014). A Higher Sensory Brain Region Is Involved in Reversing Reinforcement-Induced Vocal Changes in a Songbird. *The Journal of Neuroscience*.
- Chabrol, F. P., Blot, A., & Mrcic-Flogel, T. D. (2019). Cerebellar Contribution to Preparatory Activity in Motor Neocortex. *Neuron*.
- Chabrol, F., Arenz, A., Wiechert, M., Margrie, T., & DiGregorio, D. (2015). Synaptic diversity enables temporal coding of coincident multisensory inputs in single neurons. *Nature Neuroscience*.
- Chen, L., Bao, S., Lockard, J., Kim, J., & Thompson, R. (1996). Impaired classical eyeblink conditioning in cerebellar-lesioned and Purkinje cell degeneration (pcd) mutant mice. *Journal of Neuroscience*.
- D'Angelo, E., Solinas, S., Mapelli, J., Gandolfi, D., Mapelli, L., & Prestori, F. (2013). The cerebellar Golgi cell and spatiotemporal organization of granular layer activity. *Frontiers Neural Circuits*.
- De Smet, H. J., Baillieux, H., De Deyn, P., & Mariën, P. (2007). *The Cerebellum and Language: The Story So Far*.
- De Zeeuw, C., Hoebeek, F., & Bosman, L. (2011). Spatiotemporal firing patterns in the cerebellum. *NATURE REVIEWS NEUROSCIENCE*.
- De Zeeuw, C., Lisberger, S., & Raymond, J. (2021). Diversity and dynamism in the cerebellum. *Nature Neuroscience*.
- Devor, A. (2000). Is the cerebellum like cerebellar-like structures? *Brain Research Reviews*.
- Diener, H., & Dichgans, J. (1992). Pathophysiology of cerebellar ataxia. *Movement Disorders*.
- Doupe, A. (1991). Song-selective auditory circuits in the vocal control system of the zebra finch. *PNAS*.
- Doupe, A. (1997). Song- and Order-Selective Neurons in the Songbird Anterior Forebrain and their Emergence during Vocal Development. *The Journal of Neuroscience*.



- Dugué, G., Tihy, M., Gourévitch, B., & Léna, C. (2017). Cerebellar re-encoding of self-generated head movements. *eLife*.
- Eccles, J. C., Ito, M., & Szentágothai, J. (1967). *The Cerebellum as a Neuronal Machine*. Springer.
- Fee, M., & Goldberg, J. (2011). A hypothesis for basal ganglia-dependent reinforcement learning in the songbird. *Neuroscience*, 152-170.
- Fee, M., & Leonardo, A. (2001). Miniature motorized microdrive and commutator system for chronic neural recording in small animals. *Journal of Neuroscience Methods*.
- Fiete, I., & Seung, S. (2006). Gradient Learning in Spiking Neural Networks by Dynamic Perturbation of Conductances. *Physical Review Letters*.
- Foster, E., Mehta, R., & Bottjer, S. (1997). Axonal Connections of the Medial Magnocellular Nucleus of the Anterior Neostriatum in Zebra Finches. *THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY*.
- Gadagkar, V., Puzerey, P., Chen, R., Baird-Daniel, E., Farhang, A., & Goldberg, J. (2016). Dopamine neurons encode performance error in singing birds. *Science*.
- Gao, Z., Davis, C., Thomas, A., & al., e. (2018). A cortico-cerebellar loop for motor planning. *Nature*.
- Gao, Z., Proietti-Onori, M., Lin, Z., ten Brinke, M. M., Boele, H.-J., Potters, J.-W., et al. (2016). Excitatory Cerebellar Nucleocortical Circuit Provides Internal Amplification during Associative Conditioning. *Neuron*.
- Gao, Z., van Beugen, B., & De Zeeuw, C. (2012). Distributed synergistic plasticity and cerebellar learning. *Nature Reviews Neuroscience*.
- Giret, N., Kornfeld, J., Ganguli, S., & Hahnloser, R. (2014). Evidence for a causal inverse model in an avian cortico-basal ganglia circuit. *PNAS*.
- Gurnani, H., & Silver, R. (2021). Multidimensional population activity in an electrically coupled inhibitory circuit in the cerebellar cortex. *Neuron*.
- Hahnloser, R., Kozhevnikov, A., & Fee, M. (2002). An ultra-sparse code underlies the generation of neural sequences in a songbird. *Nature*.
- Halverson, H., Khilkevich, A., & Mauk, M. (2015). Relating Cerebellar Purkinje Cell Activity to the Timing and Amplitude of Conditioned Eyelid Responses. *Journal of Neuroscience*.
- Hamaide, J., Lukacova, K., Van Audekerke, J., Verhoye, M., Kubikova, L., & Van der Linden, A. (2018). Neuroplasticity in the cerebello-thalamo-basal ganglia pathway: A longitudinal in vivo MRI study in male songbirds. *Neuroimage*.
- Hertrich, I., Mathiak, K., & Ackermann, H. (2016). *The Linguistic Cerebellum* (Vol. The Role of the Cerebellum in Speech Perception and Language Comprehension). (A. Press, Éd.)
- Hirano, T., & Kawaguchi, S.-Y. (2014). Regulation and functional roles of rebound potentiation at cerebellar stellate cell – Purkinje cell synapse. *Frontiers in cellular neuroscience*.

- Hirono, M. (2016). Lugaro Cells. Dans D. Gruol, N. Koibuchi, M. Manto, M. Molinari, J. Schmammann, & Y. Shen, *Essentials of Cerebellum and Cerebellar Disorders-A Primer For Graduate Students* (pp. 207-211). Springer.
- Hirono, M., Saitow, F., Kudo, M., Suzuki, H., Yanagawa, Y., Yamada, M., et al. (2012). Cerebellar globular cells receive monoaminergic excitation and monosynaptic inhibition from Purkinje cells. *PLoS One*.
- Hisey, E., Kearney, M., & Mooney, R. (2018). A common neural circuit mechanism for internally guided and externally reinforced forms of motor learning. *Nature Neuroscience*.
- Hoxha, E., Tempia, F., Lippiello, P., & Miniaci, M. (2016). Modulation, Plasticity and Pathophysiology of the Parallel Fiber-Purkinje Cell Synapse. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*.
- Hull, C., & Regehr, W. (2012). Identification of an inhibitory circuit that regulates cerebellar Golgi cell activity. *Neuron*.
- Imamizu, H., Miyauchi, S., Tamada, T., Sasaki, Y., Takino, R., Pütz, B., et al. (2000). Human cerebellar activity reflecting an acquired internal model of a new tool. *Science*.
- Ito, M. (1998). Cerebellar learning in the vestibulo-ocular reflex. *Trends in cognitive sciences*.
- Ito, M., & Kano, M. (1982). Long-lasting depression of parallel fiber-Purkinje cell transmission induced by conjunctive stimulation of parallel fibers and climbing fibers in the cerebellar cortex. *Neuroscience Letters*.
- Jessell, T., Kandel, E., & Schwartz, J. (2000). *Principles of Neural Science, Fourth Edition*. McGraw-Hill Medical Publishing Division.
- Johnson, F., Sablan, M., & Bottjer, S. (1995). Topographic Organization of a Forebrain Pathway Involved With Vocal Learning in Zebra Finches. *THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY*.
- Kao, M., Doupe, A., & Brainard, M. (2005). Contributions of an avian basal ganglia–forebrain circuit to real-time modulation of song. *Nature*.
- Kao, M., Doupe, A., & Brainard, M. (2005). Contributions of an avian basal ganglia–forebrain circuit to real-time modulation of song. *Nature*.
- Kase, M., Miller, D., & Noda, H. (1980). Discharges of Purkinje cells and mossy fibres in the cerebellar vermis of the monkey during saccadic eye movements and fixation. *The Journal of Physiology*.
- Keller, G., & Hahnloser, R. (2009). Neural processing of auditory feedback during vocal practice in a songbird. *Nature*.
- Khilkevich, A., Zambrano, J., & Richards, M.-M. (2018). Cerebellar implementation of movement sequences through feedback. *eLife*.

- Kojima, S., & Kao, M. (2013). Task-related “cortical” bursting depends critically on basal ganglia input and is linked to vocal plasticity. *PNAS*.
- Kostadinov, D., Beau, M., Blanco, M., & Häusser, M. (2019). Predictive and reactive reward signals conveyed by climbing fiber inputs to cerebellar Purkinje cells. *Nature Neuroscience*.
- Kozhevnikov, A., & Fee, M. (2006). Singing-Related Activity of Identified HVC Neurons in the Zebra Finch. *J Neurophysiol*.
- Kunimatsu, J., Suzuki, T. W., Ohmae, S., & Tanaka, M. (2018). Different contributions of preparatory activity in the basal ganglia and cerebellum for self-timing. *eLife*.
- Lainé, J., & Axelrad, H. (1994). The candelabrum cell: a new interneuron in the cerebellar cortex. *Journal of Comparative Neurology*.
- Layden, E., Huibo, L., Schertz, K., Berman, M., & London, S. (2020). Experience selectively alters functional connectivity within a neural network to predict learned behavior in juvenile songbirds. *NeuroImage*.
- Lisberger, S. (2021). The Rules of Cerebellar Learning: Around the Ito Hypothesis. *Neuroscience*.
- Lukacova, K., Hamaide, J., Baciak, L., Van der Linden, A., & Kubikova, L. (2022). Striatal Injury Induces Overall Brain Alteration at the Pallial, Thalamic, and Cerebellar Levels. *Biology (Basel)*.
- Luo, M., Ding, L., & Perkel, D. (2001). An Avian Basal Ganglia Pathway Essential for Vocal Learning Forms a Closed Topographic Loop. *The Journal of Neuroscience*.
- Mackrous, I., Carriot, J., Jamali, M., & Cullen, K. E. (2019). Cerebellar Prediction of the Dynamic Sensory Consequences of Gravity. *Current Biology*.
- Martin, T., Keating, J., Goodkin, H., Bastian, A., & Thach, W. (1996). Throwing while looking through prisms. I. Focal olivocerebellar lesions impair adaptation. *Brain*.
- McCormick, D. A., & Thompson, R. F. (1984). Cerebellum: Essential Involvement in the Classically Conditioned Eyelid Response. *Science*.
- Medina, J., & Mauk, M. (2000). Computer simulation of cerebellar information processing. *Nature Neuroscience*.
- Mooney, R. (2000). Different Subthreshold Mechanisms Underlie Song Selectivity in Identified HVC Neurons of the Zebra Finch. *The Journal of Neuroscience*.
- Mooney, R. (2009). Neural mechanisms for learned birdsong. *Learning & Memory*.
- Moorman, S., Ahn, J.-R., & Kao, M. (2021). Plasticity of stereotyped birdsong driven by chronic manipulation of cortical-basal ganglia activity. *Current Biology*.
- Mugnaini, E. (1983). The length of cerebellar parallel fibers in chicken and rhesus monkey. *The Journal of Comparative Neurology*.

- Mugnaini, E., Sekerkova, G., & Martina, M. (2011). The unipolar brush cell: a remarkable neuron finally receiving deserved attention. *Brain Research Reviews*.
- Narula, G., Herbst, J., Rychen, J., & Hahnloser, R. (2018). Learning auditory discriminations from observation is efficient but less robust than learning from experience. *Nature Communications*.
- Nicholson, D. (2018). *hybrid-vocal-classifier*. Récupéré sur <https://hybrid-vocal-classifier.readthedocs.io/en/latest/>
- Nicholson, D., Roberts, T., & Samuel, S. (2018). Thalamostriatal and cerebellothalamic pathways in a songbird, the Bengalese finch. *Journal of Comparative Neurology*.
- Nicholson, D., Roberts, T., & Sober, S. (2018). Thalamostriatal and cerebellothalamic pathways in a songbird, the Bengalese finch. *Journal of Comparative Neurology*.
- Nieuwenhuys, R. (1967). *Comparative Anatomy of the Cerebellum* (éd. Progress in Brain Research, Vol. 25). (C. Fox, & R. Snider, Éds.) Elsevier.
- Nordeen, K., & Nordeen, E. (1992). Auditory Feedback Is Necessary for the Maintenance of Stereotyped Song in Adult Zebra Finches. *BEHAVIORAL AND NEURAL BIOLOGY*.
- Ölveczky, B., Andalman, A., & Fee, M. (2005). Vocal Experimentation in the Juvenile Songbird Requires a Basal Ganglia Circuit. *PLoS BIOLOGY*.
- Ölveczky, B., Otchy, T., Goldberg, J., Aronov, D., & Fee, M. (2009). Changes in the neural control of a complex motor sequence during learning. *Journal of Neurophysiology*.
- Ondracek, J., & Hahnloser, R. (2013). *Insights from Comparative Hearing Research*. Springer.
- Orije, J., Cardon, E., Hamaide, J., & Jonckers, E. (2021). Uncovering a 'sensitive window' of multisensory and motor neuroplasticity in the cerebrum and cerebellum of male and female starlings. *eLife*.
- Osorno, T., Rudolph, S., Nguyen, T., Kozareva, V., Nadaf, N., Norton, A., et al. (2022). Candelabrum cells are ubiquitous cerebellar cortex interneurons with specialized circuit properties. *Nature Neuroscience*.
- Patel, Y., George, Y., Dorval, A., White, J., Christini, D., & Butera, R. (2018). Hard real-time closed-loop electrophysiology with the Real-Time eXperiment Interface (RTXI). *PLoS Computational Biology*.
- Pehlevan, C., Ali, F., & Ölveczky, B. (2018). Flexibility in motor timing constrains the topology and dynamics of pattern generator circuits. *Nature Communications*.
- Person, A., & Raman, I. (2012). Purkinje neuron synchrony elicits time-locked spiking in the cerebellar nuclei. *Nature*.
- Pidoux, L., Le Blanc, P., Levenes, C., & Leblois, A. (2018). A subcortical circuit linking the cerebellum to the basal ganglia engaged in vocal learning. *eLife*.

- Prather, J., Peters, S., Nowicki, S., & Mooney, R. (2008). Precise auditory–vocal mirroring in neurons for learned vocal communication. *Nature*.
- Prestori, F., Mapelli, L., & D’Angelo, E. (2019). Diverse Neuron Properties and Complex Network Dynamics in the Cerebellar Cortical Inhibitory Circuit. *Frontiers in Molecular Neuroscience*.
- Rancz, E., Ishikawa, T., Duguid, I., Chadderton, P., Mahon, S., & Häusser, M. (2007). High-fidelity transmission of sensory information by single cerebellar mossy fibre boutons. *Nature*.
- Rizza, M. F., Locatelli, F., Masoli, S., Sánchez-Ponce, D., Muñoz, A., Prestori, F., et al. (2021). Stellate cell computational modeling predicts signal filtering in the molecular layer circuit of cerebellum. *Nature scientific reports*.
- Roberts, T., Hisey, E., Tanaka, M., Chattree, G., Yang, C., Shah, N., et al. (2017). Identification of a motor-to-auditory pathway important for vocal learning. *Nature Neuroscience*.
- Shutoh, F., Ohki, M., Kitazawa, H., Itohara, S., & Nagao, S. (2006). Memory trace of motor learning shifts transsynaptically from cerebellar cortex to nuclei for consolidation. *Neuroscience*.
- Skocik, M., & Kozhevnikov, A. (2013). Real-time system for studies of the effects of acoustic feedback on animal vocalizations. *frontiers in NEURAL CIRCUITS*.
- Sober, S., Wohlgemuth, M., & Brainard, M. (2008). Central Contributions to Acoustic Variation in Birdsong. *The Journal of Neuroscienc*.
- Sober, S., Wohlgemuth, M., & Brainard, M. (2008). Central Contributions to Acoustic Variation in Birdsong. *The Journal of Neuroscience*.
- Solis, M., & Doupe, A. (1997). Anterior Forebrain Neurons Develop Selectivity by an Intermediate Stage of Birdsong Learning. *The Journal of Neuroscience*.
- Sotelo, C. (2015). Molecular Layer Interneurons of the Cerebellum: Developmental and Morphological Aspects. *Cerebellum*.
- Spencer, R., Zelaznik, H., Diedrichsen, J., & Ivry, R. (2003). Disrupted timing of discontinuous but not continuous movements by cerebellar lesions. *Science*.
- Streng, M., Popa, L., & Ebner, T. (2018). Modulation of sensory prediction error in Purkinje cells during visual feedback manipulations. *Nature Communications*.
- Sultan, F., & Glickstein, M. (2007). The cerebellum: Comparative and animal studies. *The Cerebellum*.
- Suvrathan, A., Payne, H., & Raymond, J. (2016). Timing Rules for Synaptic Plasticity Matched to Behavioral Function. *Neuron*.
- Takehara-Nishiuchi, K. (2016). The Anatomy and Physiology of Eyeblink Classical Conditioning. Dans R. M. Clark, *Behavioral Neuroscience of Learning and Memory* (pp. 297–323). Springer.
- Tanaka, H., Ishikawa, T., & Kakei, S. (2019). Neural Evidence of the Cerebellum as a State Predictor. *The Cerebellum*.

- Tanaka, H., Ishikawa, T., Lee, J., & Kakei, S. (2020). The Cerebro-Cerebellum as a Locus of Forward Model: A Review. *Frontiers in Systems Neuroscience*.
- Timmann, D., Watts, S., & Hore, J. (1999). Failure of cerebellar patients to time finger opening precisely causes ball high-low inaccuracy in overarm throws. *Journal of Neurophysiology*.
- Tumer, E., & Brainard, M. (2007). Performance variability enables adaptive plasticity of 'crystallized' adult birdsong. *Nature*.
- Urban, P., & Marx, J. (2003). Cerebellar Speech Representation. *Archives of Neurology*.
- Uusisaari, M., & Knöpfel, T. (2013). Neurons of the Deep Cerebellar Nuclei. Dans M. Manto, J. Schmähmann, F. Rossi, D. Gruol, & N. Koibuchi, *Handbook of the Cerebellum and Cerebellar Disorders* (pp. 1101–1110). Dordrecht: Springer.
- Van Dijk, G., Van Hulle, M., Heiney, S., Blazquez, P., Angelaki, D., Arenz, A., et al. (2013). Probabilistic Identification of Cerebellar Cortical Neurones across Species.
- Vates, E., Vicario, D., & Nottebohm, F. (1997). Reafferent Thalamo-“Cortical” Loops in the Song System of Oscine Songbirds. *THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY*.
- Vilis, T., & Hore, J. (1980). Central Neural Mechanisms Contributing to Cerebellar Tremor Produced by Limb Perturbations. *Journal of Neurophysiology*.
- Volman, S. (1996). Quantitative assessment of song selectivity in the zebra finch "high vocal center". *Journal of Comparative Physiology*.
- Voogd, J., & Glickstein, M. (1998). The anatomy of the cerebellum. *Cerebellum*.
- Vos, B., Volny-Luraghi, A., & De Schutter, E. (1999). Cerebellar Golgi cells in the rat: receptive fields and timing of responses to facial stimulation. *European Journal of Neuroscience*.
- Wagner, M., Kim, T., Kadmon, J., Nguyen, N., Ganguli, S., Schnitzer, M., et al. (2019). Shared Cortex-Cerebellum Dynamics in the Execution and Learning of a Motor Task. *Cell*.
- Wagner, M., Kim, T., Savall, J., Schnitzer, M., & Luo, L. (2017). Cerebellar granule cells encode the expectation of reward. *Nature*.
- Whitlock, D. (1952). A neurohistological and neurophysiological study of afferent fiber tracts and receptive areas of the avian cerebellum. *Journal of Comparative Neurology*.
- Wolpert, D., Miall, C., & Kawato, M. (1998). Internal models in the cerebellum. *Trends in Cognitive Neurosciences*.
- [www.imetronic.com](http://www.imetronic.com). (s.d.). Récupéré sur <https://www.imetronic.com>
- [www.rpmetrix.com](http://www.rpmetrix.com). (s.d.). Récupéré sur <https://www.rpmetrix.com/products/neuraldrive/mc2.php>
- [www.rtxi.org](http://rtxi.org). (s.d.). Récupéré sur <http://rtxi.org/install/>

- Xiang, H., Lin, C., Ma, X., Zhang, Z., Bower, J., Weng, X., et al. (2003). Involvement of the Cerebellum in Semantic Discrimination: An fMRI Study. *Human Brain Mapping*.
- Yopak, K., Pakan, J., & Wylie, D. (2017). *Evolution of Nervous Systems// 1.20 - The Cerebellum of Nonmammalian Vertebrates* (Vol. I). (J. H. Kaas, Éd.) Academic Press.
- Yu, A., & Margoliash, D. (1996). Temporal Hierarchical Control of Singing in Birds. *Science*.
- Ziegler, W., & Ackermann, H. (2017). Subcortical Contributions to Motor Speech: Phylogenetic, Developmental, Clinical. *Cell Press*.